



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

PRESENCIA DE LEVADURAS POTENCIALMENTE

PATÓGENAS EN AMBIENTES EXTREMOS

DOMÉSTICOS DEL ORIENTE ECUATORIANO

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL

TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES: ANDRÉS NICOLÁS GARCÍA MARÍN

JULIO HUMBERTO LAZO ALVARADO

DIRECTOR: LIC. LUIS ANDRÉS YARZÁBAL RODRÍGUEZ, PHD.

CUENCA - ECUADOR

2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

PRESENCIA DE LEVADURAS POTENCIALMENTE PATÓGENAS EN
AMBIENTES EXTREMOS DOMÉSTICOS DEL ORIENTE
ECUATORIANO

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES: ANDRÉS NICOLÁS GARCÍA MARÍN

JULIO HUMBERTO LAZO ALVARADO

DIRECTOR: LIC. LUIS ANDRÉS YARZÁBAL RODRÍGUEZ, PHD.

CUENCA - ECUADOR

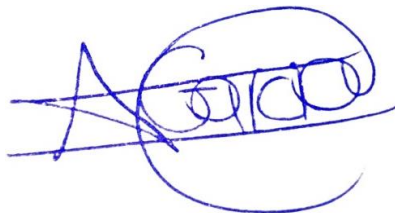
2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

Andrés Nicolás García Marín portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **0106434590** y **Julio Humberto Lazo Alvarado** portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **0106047491**. Declaramos ser los autores de la obra: **“Presencia de levaduras potencialmente patógenas en ambientes extremos domésticos del Oriente ecuatoriano”**, sobre la cual nos hacemos responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaramos que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **07 de octubre de 2024**



Andrés Nicolás García Marín

C.I. 0106434590



Julio Humberto Lazo Alvarado

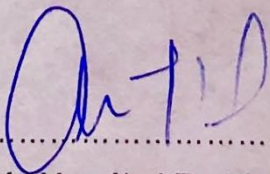
C.I. 0106047491

Certificación del Tutor

Lic. Luis Andrés Yarzábal Rodríguez, PhD.
DOCENTE DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR.
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA
De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado **“PRESENCIA DE LEVADURAS POTENCIALMENTE PATÓGENAS EN AMBIENTES EXTREMOS DOMÉSTICOS DEL ORIENTE ECUATORIANO”**, realizado por **GARCÍA MARÍN ANDRÉS NICOLÁS**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, Agosto 2024

Firma.....

Lic. Luis Andrés Yarzábal Rodríguez, PhD.

C.I.: 0151210431

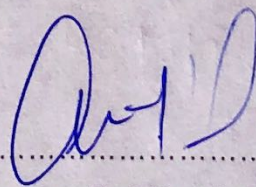
Certificación del Tutor

Lic. Luis Andrés Yarzabal Rodríguez, PhD.
DOCENTE DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR.
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA
De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado **“PRESENCIA DE LEVADURAS POTENCIALMENTE PATÓGENAS EN AMBIENTES EXTREMOS DOMÉSTICOS DEL ORIENTE ECUATORIANO”**, realizado por **LAZO ALVARADO JULIO HUMBERTO**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, Agosto 2024

Firma.....



Lic. Luis Andrés Yarzabal Rodríguez, PhD.

C.I.:0151710431.....

RESUMEN

Introducción: En esta investigación se abordó la identificación y caracterización de levaduras potencialmente patógenas en ambientes domésticos extremos, específicamente en lavaplatos de la región amazónica del oriente ecuatoriano.

Objetivo: Evaluar la capacidad de supervivencia de las levaduras en condiciones adversas y su potencial de causar infecciones en humanos.

Metodología: Se recolectaron muestras de lavaplatos en hogares y se cultivaron en Agar Sabouraud para aislar las levaduras. Posteriormente, se realizó una caracterización morfológica y microscópica de los aislados, además de pruebas de virulencia, como la hemólisis y la producción de fosfolipasas. La identificación molecular se llevó a cabo mediante la amplificación de la región ITS del ADN, seguida de secuenciación y análisis con el programa BLAST-N para determinar las especies presentes.

Resultados: Los resultados mostraron la presencia de diversas especies de levaduras, incluyendo *Candida* y *Rhodotorula*. Algunas cepas demostraron resistencia a altas temperaturas (hasta 40°C) y capacidad de producción de fosfolipasas y hemolisinas. Sin embargo, no se detectó actividad proteolítica en los aislados.

Conclusión: Los hallazgos sugieren que las levaduras presentes en ambientes domésticos extremos podrían representar un riesgo potencial para la salud humana, especialmente en individuos inmunocomprometidos.

PALABRAS CLAVE: Levaduras patógenas, ambientes extremos, virulencia, Ecuador, lavaplatos.

Abstract

Introduction: This research identified and characterized potentially pathogenic yeasts in extreme domestic environments, specifically in dishwashers in the Amazon region of eastern Ecuador.

Objective: To evaluate the survivability of yeasts under adverse conditions and their potential to cause infections in humans

Methodology: Dishwasher samples were collected from households and cultured on Sabouraud Agar to isolate yeasts. Subsequently, the isolates were morphologically and microscopically characterized, and virulence tests, such as hemolysis and phospholipase production, were performed. Molecular identification was conducted by amplification of the ITS region of the DNA, followed by sequencing and analysis with the BLASTN program to determine the species present.

Results: The results showed the presence of several yeast species, including *Candida* and *Rhodotorula*. Some strains showed resistance to high temperatures (up to 40°C) and the ability to produce phospholipases and hemolysins. However, no proteolytic activity was detected in the isolates.

Conclusion: The findings suggest that yeasts present in extreme domestic environments could potentially risk human health, especially in immunocompromised individuals.

KEY WORDS: Pathogenic yeast, extreme environments, virulence, Ecuador, dishwasher.

ABREVIATURAS

SD: Agar Sabouraud Dextrosa

ÍNDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
ABREVIATURAS	2
DEDICATORIA.	6
AGRADECIMIENTOS:	7
I. INTRODUCCIÓN	9
CAPÍTULO I	11
PLANTEAMIENTO TEÓRICO.	11
I.1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.	11
I.2.- JUSTIFICACIÓN	12
I.2.1.- PREGUNTA CIENTÍFICA:	13
I.2.2.- HIPÓTESIS:	13
I.3.- OBJETIVOS	14
I.3.1.-Objetivo General:	14
I.3.2.-Objetivos Específicos:	14
I.4.- MARCO TEÓRICO	15
I.4.1.- Antecedentes:	15
I.4.2.- Marco referencial:	17
4.2.2 Organismos extremófilos	17
Clasificación de Extremófilos	18
● Dominio Bacteria	19
● Dominio Arquea	19
● Dominio Eukarya	20
Importancia de los extremófilos	20
4.2.4 Ambientes extremos domésticos	21

4.2.5 Levaduras asociadas a ambientes extremos domésticos	22
CAPÍTULO II	8
METODOLOGÍA	8
II.5.- Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos.	28
Aislamiento primario.	28
Medios de cultivo.	29
Evaluación macroscópica y microscópica de los aislados de levaduras.	29
Estimación de la temperatura óptima de crecimiento.	29
Expresión de factores de virulencia.	29
Extracción de ADN.	30
Amplificación de la región ITS.	31
Electroforesis de ADN en geles de agarosa.	31
Secuenciación y análisis de secuencias con BLAST-N.	31
Ubicación filogenética.	32
Procesamiento, análisis, resumen y presentación de la información (Tablas, Gráficos, Técnicas de análisis estadístico).	32
Procedimientos éticos.	32
CAPÍTULO III	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
1. Aislamiento	35
2. Descripción de los Aislamientos Primarios de Microorganismos	36
3. Purificación de Aislados	37
4. Selección de Aislados para Caracterización	38
5. Crecimiento de levaduras a diferentes temperaturas	42
6. Expresión de factores de virulencia	44

6.1 Actividad de fosfolipasa.	44
6.2 Actividad hemolítica.	44
6.3 Actividad proteolítica.	45
6.4 Capacidad de penetración del sustrato.	46
7. Amplificación de la región ITS	48
8. Secuenciación y análisis de secuencias con BLAST	49
Discusión	51
CAPÍTULO IV	60
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	60
IV.1.- CONCLUSIONES	58
IV.2.- RECOMENDACIONES	59
BIBLIOGRAFÍA	60
ANEXOS	64

DEDICATORIA.

A quienes han sido faros de sabiduría en nuestro camino, iluminando el sendero del conocimiento y guiándonos con su experiencia y dedicación. A nuestra familia, que nos ha brindado amor y apoyo incondicional, y a nuestros profesores, que han compartido con nosotros su pasión por el aprendizaje. Agradecemos su confianza y compromiso con nuestra formación.

Y a nuestros lectores, esperamos que este trabajo sea una fuente de inspiración y motivación, un recordatorio de que el aprendizaje es un viaje sin fin, lleno de descubrimientos y oportunidades para crecer. Que nuestras palabras y hallazgos puedan tener un impacto duradero en el mundo y contribuir a hacer de él un lugar mejor para todos.

AGRADECIMIENTOS:

En el umbral de este logro, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a aquellos que han sido pilares de fortaleza y fuente de inspiración en mi camino. A mis padres, tíos y abuelos, cuyo amor incondicional y apoyo constante han sido el motor que me ha impulsado a seguir adelante. Su confianza en mí ha sido un regalo invaluable que atesoraré siempre. Han sido la luz en mis momentos de oscuridad y la voz de aliento cuando más lo necesitaba. Cada sacrificio que han hecho, cada palabra de aliento y cada gesto de cariño han construido el camino que me ha llevado hasta aquí.

A mis tutores, gracias por compartir su sabiduría y experiencia conmigo. Su orientación y guía han sido fundamentales en mi formación académica, y su dedicación y paciencia han sido un ejemplo a seguir. Han sido más que educadores; han sido mentores y modelos a seguir, brindándome no solo conocimientos, sino también valores y principios que llevaré conmigo para siempre. Agradezco de corazón el tiempo y esfuerzo que han invertido en mí, las horas dedicadas a resolver mis dudas, las enseñanzas impartidas con pasión y el compromiso con mi crecimiento personal y profesional. Su impacto en mi vida va más allá de lo académico; me han enseñado a perseverar, a ser crítico y a siempre buscar la excelencia.

Quiero también extender mi gratitud a mis amigos y compañeros, quienes han estado a mi lado en cada paso de este viaje. Sus palabras de aliento, su apoyo incondicional y las experiencias compartidas han sido una parte esencial de esta travesía. Me han demostrado el valor de la verdadera amistad y el poder de la colaboración y el trabajo en equipo.

Nicolás García Marín

AGRADECIMIENTOS:

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento a todas las personas que han sido fundamentales durante este arduo trabajo. En primer lugar, a mis padres, quienes con su amor y dedicación me han brindado el apoyo incondicional necesario para alcanzar esta meta. Su constante sacrificio y sus palabras de aliento han sido la base sobre la cual he construido mis logros académicos. Papá, mamá, gracias por enseñarme la importancia del esfuerzo y la perseverancia, y por estar siempre a mi lado en cada paso de este camino.

A mis hermanos, quienes con su compañía y comprensión han hecho de este viaje una experiencia más llevadera. Su fe en mis capacidades y su disposición para ayudarme en momentos de dificultad han sido esenciales. Gracias por ser mi fuente de inspiración y por creer en mí incluso cuando yo dudaba. El apoyo y el amor que compartimos han sido un pilar fundamental en mi vida, y su respaldo ha sido invaluable.

Finalmente, a mis amigos, quienes han sido mi refugio y mi soporte emocional durante estos años de estudio. Su amistad ha sido una constante fuente de alegría y motivación. Gracias por escucharme, por sus consejos y por hacer que los momentos de estrés fueran más llevaderos. Su presencia ha sido vital para mantener el equilibrio entre las responsabilidades académicas y la vida personal, y no habría logrado este éxito sin ustedes.

Julio Lazo Alvarado

I. INTRODUCCIÓN

Las levaduras, como potenciales patógenos, representan una amenaza significativa en ambientes domésticos extremos, donde condiciones como pH elevado, humedad constante y altas temperaturas crean nichos propicios para su crecimiento y supervivencia. En la región amazónica del Ecuador, los estudios sobre microorganismos extremófilos en entornos domésticos son prácticamente inexistentes, lo que subraya la necesidad de investigaciones específicas en esta área.

En particular, los lavaplatos, debido a sus características ambientales extremas, se convierten en reservorios de levaduras patógenas. Estas levaduras, capaces de sobrevivir a temperaturas fluctuantes y la presencia de detergentes, se adaptan mediante la formación de biopelículas y otras estructuras protectoras, incrementando su virulencia y resistencia a condiciones adversas

Estudios previos han identificado la presencia de géneros como *Exophiala* y *Candida* en lavaplatos, demostrando su capacidad para colonizar estos entornos y potencialmente causar infecciones en humanos, especialmente en individuos inmunocomprometidos. La investigación de Zalar et al. en Australia reveló que estas especies microbianas prosperan en ambientes alcalinos y húmedos, favoreciendo su proliferación y riesgo de infecciones sistémicas

El objetivo de este estudio es identificar y caracterizar las especies de levaduras presentes en ambientes domésticos extremos de la región amazónica del Ecuador, utilizando métodos moleculares para determinar sus características de virulencia y evaluar el riesgo potencial que representan para la salud humana. A través de esta investigación, se pretende generar datos inéditos y relevantes que contribuyan a la comprensión y manejo de estos patógenos en entornos domésticos, promoviendo así estrategias de prevención y control más eficaces en la región.

CAPÍTULO I
PLANTEAMIENTO TEÓRICO.

I.1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.

El estilo de vida moderno ha promovido una mayor permanencia en interiores, así como el uso extensivo de electrodomésticos que facilitan las tareas diarias y mejoran el confort. Sin embargo, estos hábitos también han creado hábitats alternativos propicios para el crecimiento y desarrollo de diversos microorganismos. Estos ambientes domésticos pueden albergar microorganismos que, al adaptarse a condiciones adversas, se convierten en patógenos potenciales, incluyendo levaduras extremófilas y extremo tolerantes

Los electrodomésticos, como lavadoras y lavaplatos, junto con áreas húmedas como cocinas y baños, representan entornos extremos debido a las variaciones de temperatura (60-80°C), fluctuaciones de pH (6.5-12), y la presencia de altas concentraciones de NaCl y detergentes. Además, estos ambientes están sujetos a estrés mecánico causado por el agua de aspersores. En estos entornos, las levaduras, especialmente, encuentran condiciones que les permiten prosperar, formar biofilms y, de este modo, asegurar su viabilidad y disponibilidad de nutrientes

La presencia de microorganismos en estos ambientes domésticos no solo contribuye a la contaminación ambiental, sino que también puede causar diversas patologías en humanos, especialmente en personas inmunodeprimidas, como enfermos crónicos y ancianos. Pese a la relevancia de este problema, existe una carencia de estudios enfocados en la contaminación microbiana en ambientes domésticos, especialmente en la región latinoamericana y, de manera particular, en el Ecuador

Esta investigación se propone llenar este vacío al identificar y caracterizar las especies microbianas presentes en ambientes domésticos extremos del oriente ecuatoriano. Se analizarán los factores de virulencia que estos microorganismos expresan, utilizando técnicas moleculares avanzadas. Este estudio no solo

contribuirá a una mejor comprensión de la ecología microbiana en ambientes domésticos, sino que también proporcionará datos cruciales para el desarrollo de estrategias efectivas de prevención y control, mejorando así la salud pública en la región.

I.2.- JUSTIFICACIÓN

La información recopilada de esta investigación es importante dentro del ámbito científico, sobre todo a nivel del continente Sudamericano, ya que existen pocos estudios relacionados con la presencia de levaduras (entre las cuales pueden presentarse especies patógenas y oportunistas) en ambientes extremos a nivel doméstico. Esto es aún más relevante en la zona del Oriente Ecuatoriano, en la que hasta la fecha no se ha realizado ningún estudio de este tipo. Debido a la poca información existente, se desconoce el riesgo que representa la presencia de estos patógenos oportunistas, en este tipo de ambientes; a consecuencia de esta falta de información, tampoco se han propuesto estrategias o protocolos a seguir para evitar la propagación de estos microbios en estos ambientes, con los que interactuamos diariamente de manera totalmente desprevenida.

Con esta investigación aspiramos a generar conocimiento nuevo acerca de levaduras patógenas oportunistas en ambientes extremos domésticos en el Oriente Ecuatoriano. La noción acerca de la variedad de especies de levaduras en un ambiente húmedo, como el que se presenta en las cocinas, determinará el grado de peligro al cual están expuestas las personas diariamente. Esto podría permitirnos plantear posibles medidas para evitar la propagación de estos microorganismos en el entorno.

Los principales beneficiarios de este proyecto de investigación seremos los estudiantes de Bioquímica y Farmacia, quienes podremos cumplir con uno de los requisitos exigidos para culminar nuestros estudios universitarios. De esta manera, contribuiremos a cumplir con una de las misiones de la Universidad Católica de Cuenca, es decir, generar conocimiento a través de la investigación científica. Esto, además, será útil para futuros investigadores, debido a que tendrán mayor

información acerca de las levaduras patógenas oportunistas en ambientes extremos domésticos de las zonas periféricas del Amazonas.

Otros beneficiarios del proyecto de investigación son los pobladores de la región en la que se llevará a cabo, puesto que con la información generada podrán tomarse medidas que eviten posibles infecciones.

I.2.1.- PREGUNTA CIENTÍFICA:

¿Se encuentran presentes levaduras potencialmente patógenas en ambientes domésticos extremos de la región amazónica del Ecuador? ¿Qué tipo de especies de levaduras están presentes en dichos ambientes? En caso de estar presentes, ¿cuáles son las características más relevantes de estas levaduras? ¿Cuáles son las características de virulencia particulares de este tipo de levaduras?

I.2.2.- HIPÓTESIS:

Los lavaplatos domésticos en el oriente ecuatoriano están colonizados por una comunidad diversa de levaduras cultivables, pertenecientes a varios géneros y especies, que incluyen hongos potencialmente patógenos como *Candida*, *Cryptococcus* y *Rhodotorula*. Estos microorganismos pueden adaptarse y proliferar en diversas partes del lavaplatos, representando un riesgo significativo para la salud, especialmente en individuos con sistemas inmunológicos comprometidos

I.3.- OBJETIVOS

I.3.1.-Objetivo General:

-Conocer la diversidad de levaduras cultivables que están presentes en ambientes domésticos de la región amazónica de Ecuador.

I.3.2.-Objetivos Específicos:

-Aislar levaduras a partir de muestras colectadas en ambientes domésticos extremos de la región amazónica del Ecuador.

-Caracterizar desde un punto de vista morfológico, bioquímico y fisiológico a los aislados de levaduras obtenidos a partir de dichos ambientes.

-Determinar la expresión de factores de virulencia por parte de los aislados de levaduras obtenidas a partir de ambientes domésticos de la región amazónica del Ecuador.

-Identificar mediante métodos moleculares las especies a las cuales pertenecen dichas levaduras.

I.4.- MARCO TEÓRICO

I.4.1.- Antecedentes:

Para nadie es un secreto que gran parte de nuestro tiempo la pasamos en el interior de nuestros hogares, en espacios como la cocina –en general- y el lavaplatos –en particular-, participando activamente en procesos de limpieza y desinfección. Como hemos dicho, es allí donde podríamos entrar en contacto íntimo con diferentes microorganismos patógenos, los cuales podrían causarnos algún tipo de infección. Como antecedentes directos del presente proyecto de investigación, podemos mencionar los siguientes:

En un estudio realizado en Australia por Zalar y sus colaboradores, se determinó que los lavaplatos son ambientes ideales para el desarrollo de especies microbianas patógenas. Esto se debe a que, con frecuencia, estos ambientes presentan un pH alcalino, humedad constante y altas temperaturas, factores ambientales que favorecen el crecimiento de especies como *Exophiala dermatitidis* y *Exophiala phaeomuriformis*, que se presentan bajo la forma de ecotipos de células muriformes, fuertemente melanizadas. Estas características les permiten sobrevivir en nuestros hogares, pero también y provocar enfermedades sistémicas en los seres humanos, llegando a colonizar los pulmones de pacientes inmunodeprimidos (5).

En un trabajo similar, Kulesza y sus colaboradores identificaron la presencia, en ambientes domésticos, de levaduras poli-extremo-tolerantes, oligotróficas con mayor presencia de *Exophiala dermatitidis* y *Exophiala phaeomuriformis*. Estas especies se adaptan a factores de estrés, y son más tolerantes a condiciones adversas debido a la formación de biopelículas, estructuras protectoras. Esta capacidad aumenta su grado de virulencia, asumiendo un papel relevante en procesos de infección.

Un grupo de investigadores dirigido por la Dra. Nina Gunde, pionera en este tipo de estudios, detectó la presencia de diversos géneros fúngicos como *Candida*, *Cryptococcus* y *Rhodotorula* a nivel de lavaplatos manuales. Este estudio demostró cómo las condiciones específicas de los lavaplatos pueden influir en la abundancia

de grupos microbianos. Además, se determinó que la frecuencia de uso y la dureza del agua del grifo utilizada en los lavaplatos afectan la estructura y composición de las comunidades fúngicas que allí residen. La prevalencia de *Candida* spp. fue la más alta y se cree que especies pertenecientes a este género se encuentran entre los colonizadores primarios en lavaplatos recién comprados (7).

Cabe resaltar que, en una investigación realizada en el año 2013 en la ciudad subtropical de Mersin (Turquía), se analizó la presencia de hongos negros y filamentosos en ambientes húmedos. Se tomaron 893 muestras de lavavajillas, lavadoras, frigoríficos, bañeras, paredes del baño y cabezales de ducha, en un total de 177 viviendas privadas. De ellas, 30 muestras resultaron positivas para hongos. Entre los hongos identificados, *Exophiala dermatitidis* fue la especie más común, seguida de *Exophiala phaeomuriformis*, *Magnusiomyces capitatus* y *Candida parapsilosis*. Los autores resaltan que estos microorganismos son patógenos de los seres humanos (8).

I.4.2.- Marco referencial:

Ambientes extremos

Los ambientes extremos son ecosistemas caracterizados por condiciones físicas y químicas que son significativamente diferentes de las que se encuentran en la mayoría de los hábitats terrestres y acuáticos. Estas condiciones incluyen temperaturas extremadamente altas o bajas, niveles altos de salinidad, acidez o alcalinidad extrema, presiones elevadas, y radiación intensa. Ejemplos de estos ambientes incluyen fuentes hidrotermales, desiertos, salinas, lagos alcalinos, y las profundidades del océano. Las levaduras y otros microorganismos que habitan estos entornos han desarrollado adaptaciones únicas para sobrevivir y prosperar bajo estas condiciones desafiantes, lo que los convierte en objetos de estudio importantes para la biología y la biotecnología.

Investigaciones científicas han revelado que las levaduras extremófilas poseen mecanismos bioquímicos y genéticos específicos que les permiten mantener la funcionalidad celular en condiciones adversas. Por ejemplo, algunas levaduras termófilas pueden estabilizar sus proteínas y membranas a altas temperaturas mediante la producción de proteínas de choque térmico y ácidos grasos específicos. Las levaduras halófilas, que viven en ambientes con alta salinidad, regulan su equilibrio osmótico acumulando solutos compatibles, como glicerol y aminoácidos, para evitar la deshidratación celular. Estos estudios no solo amplían nuestro conocimiento sobre la vida en condiciones extremas, sino que también tienen aplicaciones potenciales en la industria, como la biotecnología, la medicina y la agricultura, debido a las propiedades únicas de estos organismos.

4.2.2 Organismos extremófilos

Los organismos extremófilos son seres vivos, principalmente microorganismos, que no solo sobreviven sino que prosperan en condiciones extremas que son letales para la mayoría de las otras formas de vida. Estas condiciones pueden incluir temperaturas extremadamente altas o bajas, pH ácido o alcalino, alta concentración

de sal, presión intensa, y radiación. Los extremófilos han desarrollado adaptaciones únicas que les permiten mantener la integridad celular y realizar procesos metabólicos bajo estas condiciones adversas. Estas adaptaciones incluyen proteínas resistentes a la desnaturalización térmica, membranas celulares especializadas, y mecanismos avanzados de reparación del ADN.

La investigación sobre extremófilos ha revelado una biodiversidad y una capacidad de adaptación sorprendentes en estos organismos. Se encuentran en ambientes tan variados como fuentes hidrotermales submarinas, salinas, lagos ácidos, y los polos. Los extremófilos no solo tienen implicaciones importantes para la biotecnología y la medicina, sino que también son fundamentales en el estudio de la astrobiología. Al entender cómo estos organismos sobreviven en condiciones extremas, los científicos pueden hacer hipótesis sobre la posibilidad de vida en otros planetas o lunas con ambientes hostiles.

Clasificación de Extremófilos

- **Termófilos:** Crecen a altas temperaturas, generalmente entre 60°C y 80°C.
- **Hipertermófilos:** Prosperan a temperaturas superiores a 80°C.
- **Psicrófilos:** Crecen en condiciones de frío, con temperaturas óptimas por debajo de 15°C.
- **Acidófilos:** Prosperan en ambientes ácidos con pH bajo.
- **Alcalófilos:** Viven en ambientes con pH alto.
- **Halófilos:** Habitan en ambientes con alta concentración de sal.
- **Barófilos (o piezófilos):** Viven en ambientes de alta presión, como en las profundidades oceánicas.
- **Radiotolerantes:** Pueden sobrevivir a niveles altos de radiación.
- **Xerófilos:** Viven en condiciones de extrema sequedad.

Es importante recalcar las características adaptativas de estos microorganismos las cuales les permiten sobrevivir y proliferar en ambientes hostiles. Una de las adaptaciones más comunes es la modificación de la composición de sus membranas celulares para mantener la fluidez y funcionalidad en condiciones

extremas de temperatura o pH. Además, muchas proteínas de estos organismos tienen estructuras más estables que evitan la desnaturalización en condiciones adversas. Los mecanismos de reparación del ADN son también cruciales para contrarrestar el daño genético causado por factores como la radiación o la desecación. Además, algunos extremófilos producen compuestos protectores, como antioxidantes o pigmentos, que ayudan a neutralizar los efectos dañinos del entorno.

Los microorganismos extremófilos se encuentran distribuidos en tres dominios Bacteria, Arquea, Eukarya descritos a continuación

- **Dominio Bacteria**

Las bacterias son organismos unicelulares procariotas, es decir, carecen de núcleo definido y su material genético está disperso en el citoplasma. Pueden vivir en una amplia gama de ambientes, incluyendo aquellos extremos. Muchas bacterias extremófilas son termófilas, halófilas o acidófilas, y han desarrollado mecanismos específicos para soportar condiciones extremas, como proteínas de choque térmico y bombas de iones para regular la presión osmótica.

Ejemplos: *Thermus aquaticus* (termófilo), *Deinococcus radiodurans* (radiotolerante).

- **Dominio Arquea**

Las arqueas son también organismos unicelulares procariotas, pero se distinguen de las bacterias en aspectos genéticos y bioquímicos, como la estructura de sus lípidos de membrana y sus sistemas de replicación y transcripción. Son famosas por habitar en ambientes extremos, como fuentes hidrotermales y salinas. Las arqueas incluyen muchos extremófilos conocidos, como los metanógenos (productores de metano), halófilos extremos y termófilos.

Ejemplos: *Halobacterium salinarum* (halófilo), *Pyrolobus fumarii* (hipertermófilo).

- **Dominio Eukarya**

El dominio Eukarya incluye organismos con células eucariotas, caracterizadas por tener un núcleo definido y organelos rodeados de membranas. Este dominio abarca una gran diversidad de formas de vida, desde levaduras y hongos hasta plantas y animales. Aunque los eucariotas no son tan conocidos por su capacidad de sobrevivir en condiciones extremas como las arqueas y las bacterias, algunos hongos y levaduras son extremófilos. Por ejemplo, ciertos hongos pueden sobrevivir en ambientes extremadamente ácidos o con alta radiación.

Ejemplos: *Cryptococcus neoformans* (resistente a radiación), *Saccharomyces cerevisiae* (levadura que puede tolerar condiciones ácidas o de alta concentración de alcohol).

Importancia de los extremófilos

Los microorganismos extremófilos presentan gran importancia en el área de la salud por lo cual nos hemos centrado en tres ejes primordiales en los que se pueden aplicar los conocimientos obtenidos de estas especies.

Biotecnología y Enzimas Extremófilas: Las enzimas derivadas de extremófilos, como las polimerasas de ADN de *Thermus aquaticus*, son cruciales para técnicas como la PCR (reacción en cadena de la polimerasa), utilizada en la investigación genética, diagnóstico médico, y criminalística. Estas enzimas son estables y eficientes a altas temperaturas, lo que las hace valiosas en procesos industriales .

Además de la Taq polimerasa, otras extremófilas como la **lignina** de hongos extremófilos están siendo investigadas para la descomposición de materiales lignocelulósicos en biocombustibles. Las lipasas y proteasas de origen extremófilo se utilizan en la producción de detergentes, dado que funcionan eficientemente en condiciones alcalinas y a altas temperaturas, mejorando la limpieza y la eficiencia en procesos industriales. Asimismo, las células de extremófilos están siendo exploradas para la conversión de biomasa en azúcares fermentables, lo que es crucial para la producción sostenible de bioetanol.

En la industria alimentaria, las extremozimas permiten procesos como la hidrólisis de grasas y proteínas bajo condiciones extremas de pH o temperatura, lo cual es esencial para la producción de alimentos procesados. La estabilidad de estas enzimas en condiciones industriales reduce costos al minimizar la necesidad de estabilizadores y aditivos. Además, las investigaciones continúan explorando nuevas aplicaciones, como la síntesis de productos químicos de alto valor y la degradación de contaminantes, lo que resalta el potencial de las extremozimas para innovaciones futuras en biotecnología y sostenibilidad.

Biorremediación: Los extremófilos pueden degradar compuestos tóxicos en ambientes extremos, lo que es útil para la limpieza de sitios contaminados con metales pesados o residuos industriales. Por ejemplo, ciertos acidófilos pueden prosperar en drenajes ácidos de minas, ayudando a neutralizar y remover contaminantes .

Aplicaciones Médicas y Farmacéuticas: Algunos extremófilos producen compuestos bioactivos únicos que tienen potencial como nuevos antibióticos o terapias. Por ejemplo, se están investigando las propiedades anticancerígenas de metabolitos producidos por ciertos hongos extremófilos, abriendo nuevas avenidas para el desarrollo de medicamentos .

4.2.4 Ambientes extremos domésticos

Los lavaplatos representan un ambiente extremo doméstico debido a sus condiciones únicas de humedad, calor y variabilidad en el pH. Este entorno favorece el crecimiento de microorganismos resistentes, como levaduras y hongos, que pueden soportar temperaturas elevadas y agentes químicos agresivos utilizados en la limpieza. Además, la acumulación de restos de alimentos proporciona una fuente de nutrientes, creando un ecosistema microbiano diverso.

El estudio de estos microorganismos en lavaplatos es crucial para entender cómo sobreviven y prosperan en tales condiciones, lo que puede tener implicaciones para

la salud humana y la limpieza del hogar. La identificación de especies resistentes en este ambiente puede revelar nuevas adaptaciones microbiológicas y guiar estrategias para mejorar la higiene y reducir la propagación de patógenos.

4.2.5 Levaduras asociadas a ambientes extremos domésticos

Las levaduras en ambientes extremos domésticos, como los lavaplatos, tienen una importancia creciente debido a su capacidad para resistir condiciones adversas como altas temperaturas, pH fluctuante y agentes químicos. A pesar de su relevancia, estas levaduras han sido menos estudiadas en comparación con los hongos filamentosos, que son más visibles y de mayor interés histórico en la microbiología.

A diferencia de los hongos filamentosos, las levaduras son unicelulares y pueden reproducirse rápidamente por gemación, lo que les permite colonizar eficientemente superficies y ambientes húmedos. Su estudio es crucial, ya que algunas especies pueden ser patógenas o causar deterioro en superficies y equipos. Además, pueden actuar como indicadores de condiciones de limpieza inadecuadas en ambientes domésticos.

A pesar de su menor visibilidad, las levaduras pueden desempeñar roles significativos en la ecología microbiana de los lavaplatos. Su capacidad para formar biofilms y resistir agentes de limpieza plantea desafíos para la higiene doméstica. La investigación de estas levaduras es esencial para comprender su biología, interacciones y el desarrollo de estrategias para su control en el hogar.

En la tabla 1 describimos las características de algunos microorganismos que se pueden encontrar en ambientes domésticos extremos centrado en el área de lavaplatos describiendo preferencias, rango de temperatura y mecanismos de resistencia.

Tabla 1. Tipos de Extremófilos y sus Adaptaciones Ambientales: Temperatura, pH y Resistencia

Tipo de Extremófilo	Preferencias de Hábitat	Rango de Temperatura	Mecanismos de Resistencia	Ejemplos
Termófilo	Interior del lavaplatos, áreas cercanas a elementos de calefacción	45-80°C	Producción de proteínas termoestables, modificación de lípidos de membrana	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i>
Psicrófilos	Partes no calefaccionadas, zonas húmedas y frías	-5 a 15°C	Producción de enzimas activas a bajas temperaturas, reducción de ácidos grasos saturados en membranas	<i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Penicillium</i> spp.
Halófilos	Acumulación de residuos de alimentos salados, superficies en contacto con detergentes	Varía, óptimo entre 10-40°C	Acumulación de solutos compatibles, bombeo de iones para equilibrar la osmolaridad	<i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Hortaea werneckii</i>
Acidófilos	Restos de alimentos ácidos, acumulación de líquidos ácidos en el fondo del lavaplatos	pH 2-5	Mecanismos de expulsión de protones, producción de enzimas acidófilas	<i>Candida glabrata</i> , <i>Yarrowia lipolytica</i>
Alcalófilos	Superficies expuestas a detergentes alcalinos	pH 9-11	Producción de enzimas resistentes al pH alto, modificación de membranas	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Fusarium</i> spp.

			para evitar daño alcalino	
--	--	--	------------------------------	--

CAPÍTULO II
METODOLOGÍA

Tabla 2. Variables y Escalas Utilizadas en el Estudio de Cultivos de Levaduras

Variables	Definición	Clasificación	Indicador	Escala
Especie de levadura	Taxón inferior al que pertenecen los organismos eucariotas que se reproducen por esporas y obtienen nutrientes de la descomposición de materia orgánica.	Cualitativa-ordinal	Características morfológicas, microscópicas, cultivo y pruebas bioquímicas específicas.	Clasificación taxonómica: <i>Candida albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> , etc
Medios de cultivo	Sustancia utilizada para el crecimiento y multiplicación de microorganismos en condiciones controladas.	Cualitativa-ordinal	Composición de nutrientes	Agar Papa Dextrosa; Agar Sabouraud Dextrosa; etc
Presencia o ausencia de factores de virulencia	Característica o mecanismo de un patógeno que contribuye a su capacidad para causar enfermedad.	Cualitativa-ordinal	Formación de halos en medios diferenciales	Presencia o Ausencia
Producción de proteasas	La producción de proteasas se refiere a la síntesis y liberación de enzimas que degradan proteínas.	Cualitativa-ordinal	Prueba bioquímica de formación de halos de degradación proteica	Presencia o ausencia
Producción de lipasas	La producción de lipasas se refiere a la síntesis y liberación de enzimas que degradan lípidos en organismos vivos.	Cuantitativa-continua.	Técnicas de cuantificación enzimática (medición de la actividad enzimática o la detección de productos degradados de lípidos.)	Presencia o ausencia
Capacidad de penetración	La capacidad de penetración fúngica se refiere a la habilidad de un hongo para invadir tejidos de un	Cualitativa-ordinal	Determinado de forma visual (con la ayuda de un microscopio)	Formación de hifas sub-superficiales/ Ausencia de hifas sub-superficiales

	hospedero.			
Temperatura óptima de crecimiento	Temperatura en la cual un hongo forma la mayor cantidad de biomasa	Cuantitativa-continua.	Formación de biomasa (determinado de forma visual).	Grados centígrados (C°).
Ubicación filogenética	Se refiere a la ubicación de la especie con respecto a otras relacionadas dentro del reino Fungi.	Cualitativa	Análisis de secuencias de ADN	Ubicación en una representación gráfica de la filogenia
Morfología de la colonia	Se refiere a los atributos físicos y visuales que exhibe una colonia de microorganismos en un medio de cultivo. Abarca dimensiones como el tamaño, la forma, el color, la apariencia, la textura, entre otros.	Cualitativa-nominal discreta.	Identificación de forma visual.	(Azul, rojo, verde, magenta, amarillo, naranja, blanco, celeste y lila). (Lisa, rugosa y plegada). (Intenso, opaco, apagado o ausente). (Entero, ondulado, lobulado, erosionado, filamentoso y rizado). (Plana, elevada, convexo, pulvinate y umbonate). (Puntiforme, circular, rizoide, irregular y filamentoso). (Suave, rugosa, arrugada, seca con aspecto

				polvoriento). (Húmedo o seco).
Morfología celular.	Se refiere a la forma y estructura de las células. Incluye el tamaño, la forma, la organización estructural y la apariencia de las células.	Cualitativa nominal discreta.	- Determinada de forma visual (empleo de microscopio).	(Fusiformes, estrelladas, prismáticas, aplanadas, elípticas, globosas o redondeadas). (Unicelular o pluricelular). (Presencia o ausencia). (Gemación o ascosporas).

II.5.- Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos.

Aislamiento primario.

Para llevar a cabo la toma de muestras, se escogerán entornos domésticos con características similares, específicamente apartamentos de familias de clase media que tengan cocinas con encimeras de granito o mármol y fregaderos manuales de acero inoxidable. Utilizando hisopos estériles empapados en solución salina, se recolectarán muestras en diferentes áreas de los fregaderos manuales, como los bordes, el tazón y la base. Estas muestras se colocarán en tubos que contengan una solución salina estéril y se transportarán al laboratorio. Una vez allí, las muestras se diluyen en una serie de diluciones (desde 10^{-1} hasta 10^{-4}) y se aplicarán 100 μ l de cada dilución de manera uniforme sobre la superficie del agar glucosado de Sabouraud, un medio de cultivo universal para hongos, utilizando una varilla esparcidora. Las placas de cultivo se incubaron a 25 °C durante varios días hasta que se observan colonias visibles. Estas colonias se transferirán a un medio fresco mediante el método de repique para purificar los aislados. Se registrarán los detalles de la morfología macroscópica y se conservarán los aislados en tubos con agua destilada estéril.

Medios de cultivo.

Los diferentes tipos de medios de cultivo que se utilizarán para el estudio de la morfología y los factores de virulencia incluyen: Agar Sabouraud Dextrosa, Agar Papa Dextrosa (PDA), Chromogar Candida, Agar Sabouraud con sangre desfibrinada, Agar Sabouraud Dextrosa con Yema de huevo y Agar Sabouraud Dextrosa con leche semidescremada.

Evaluación macroscópica y microscópica de los aislados de levaduras.

En este ensayo, se examinará la apariencia de las colonias de cada aislado en diferentes medios de cultivo. Se evaluarán criterios como el borde, la elevación, el color, la textura, el brillo, el pigmento y la forma. Además, para el análisis microscópico, se prepararon suspensiones de cada aislado en solución salina y se observarán utilizando un microscopio con aumentos de 100x y 400x. Se tomarán fotografías de las células de cada uno de los aislados.

Estimación de la temperatura óptima de crecimiento.

Se obtendrán suspensiones de cada aislado a partir de cultivos frescos, ajustándose a una densidad de 0.5 U McFarland. A partir de estas suspensiones, se realizan diluciones en serie (desde 10^{-3} hasta 10^{-6}). Luego, se inocularon 10 μ l de cada dilución en la superficie de 5 placas de agar (Sabouraud Dextrosa). Estas placas se incubaron a diferentes temperaturas: 5, 12, 20, 30 y 37°C. Después de 48 horas de cultivo, se comparará el tamaño y la apariencia de la biomasa de cada colonia en las diferentes placas.

Expresión de factores de virulencia.

Se utilizarán diferentes medios de cultivo para realizar distintas pruebas en las levaduras aisladas. Para determinar la producción de hemolisinas, se empleará un medio agarizado enriquecido con un 2,04% v/v de sangre desfibrinada de cordero y un 3% de glucosa (20).

Para evaluar la actividad fosfolipasa, se preparará un medio Sabouraud Dextrosa al que se añadirá un 3% v/v de yema de huevo liofilizado, cloruro de sodio y cloruro de calcio (21).

Asimismo, para analizar la presencia de proteasas, se utilizará Agar Nutritivo suplementado con un 1% de leche semidescremada pasteurizada (22).

En todas las pruebas, se inocularon los medios con una suspensión de cada aislado de levadura, previamente ajustada a una densidad de 0,5 unidades McFarland. Los cultivos se incuban a la temperatura óptima de crecimiento, y se observa la formación de halos alrededor de las colonias, lo cual indica la actividad enzimática correspondiente.

Para evaluar la capacidad de penetración de sustratos agarizados, se seguirá un protocolo basado en el método de Cullen et al. Se prepararon diluciones seriadas de las suspensiones de levadura, desde 10^{-1} hasta 10^{-4} , y se depositaron pequeñas cantidades en la superficie de un medio de cultivo SD. Tras incubar los cultivos durante 5 días a la temperatura óptima de cada aislado, se realizará un lavado suave para eliminar las células superficiales. Luego, se cortan finas láminas del agar utilizando un bisturí estéril, las cuales se observarán bajo un microscopio óptico con aumentos de 100X y 400X.

Extracción de ADN.

El ADN genómico de los aislados de levaduras se extraerá utilizando el método de lisis alcalina. Para ello, se mezclará una suspensión de levaduras con una solución que contiene SDS al 0.025% y NaOH al 0.025 N. La mezcla se calentó a 95 °C en un termobloque THERMO SCIENTIFIC durante 20 minutos. Luego, el lisado obtenido se centrifugó a $12.000 \times g$ y se almacenará a una temperatura de -20 °C hasta que sea necesario utilizarlo.

Amplificación de la región ITS.

Para amplificar la región ITS mediante la técnica de PCR, se utilizarán los cebadores ITS1 (CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A) - ITS4 (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GV), como se describe en el trabajo de White TJ et al. (1990). La mezcla de reacción, con un volumen total de 25 μ l, contendrá los siguientes componentes: 12.5 μ l de Master Mix, 2.0 μ l del cebador ITS1, 2.0 μ l del cebador ITS4, 6.5 μ l de agua ultra pura y 2.0 μ l de ADN. La amplificación se llevará a cabo en un termociclador Bioneer, utilizando el siguiente perfil térmico: una desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 minutos, seguida de 38 ciclos de amplificación que consistirán en una desnaturalización a 58 °C durante 1 minuto, una alineación a 72 °C durante 1 minuto y una elongación a 72 °C durante 10 minutos. Finalmente, se realizará una elongación final a 72 °C durante 10 minutos para concluir el proceso de amplificación.

Electroforesis de ADN en geles de agarosa.

La comprobación de la amplificación de la región ITS se realizará mediante la técnica de electroforesis en gel de agarosa teñido con SYBR Safe. El gel será preparado con una concentración del 1.5% (p/v) en buffer TBE. La electroforesis se llevará a cabo a una corriente constante de 90 voltios, y los productos de amplificación se visualizaron utilizando SYBR Safe en un transiluminador de rayos UV (24).

Secuenciación y análisis de secuencias con BLAST-N.

Los fragmentos amplificados mediante PCR serán enviados a la compañía Macrogen, ubicada en Seúl, Corea del Sur, para su secuenciación utilizando el método automatizado de Sanger. Una vez obtenidas las secuencias, se realizará una comparación con las secuencias depositadas en bases de datos de acceso público y gratuito, como GenBank y EMBL-EBI, utilizando el algoritmo BLAST-N (25).

Ubicación filogenética.

Para determinar la posición filogenética de las cepas de levadura, se emplea la versión más actualizada del software Mega11 (26). El procedimiento se iniciará mediante la alineación de las secuencias nucleotídicas correspondientes a la región ITS de cada cepa con las secuencias de especies previamente identificadas presentes en GenBank. A partir de estas alineaciones, se construirán árboles filogenéticos utilizando los diferentes modelos matemáticos disponibles en el programa.

Procesamiento, análisis, resumen y presentación de la información (Tablas, Gráficos, Técnicas de análisis estadístico).

Los resultados serán presentados a través de paneles fotográficos, que mostrarán los resultados obtenidos para cada cepa, y tablas que sintetizan los datos generados.

Procedimientos éticos.

No aplica.

CAPÍTULO III
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Aislamiento

Se llevó a cabo una toma de muestras en 10 residencias situadas en la ciudad de Sucúa, donde se examinaron lavaplatos con características similares, concentrándonos particularmente en las áreas de evacuación del agua y los laterales, incluyendo las gomas (Figuras 1 y 2). Este análisis permitió identificar la presencia de microorganismos patógenos en estos componentes de los lavaplatos residenciales, lo que brinda información relevante sobre la higiene y el riesgo de contaminación en los hogares estudiados.

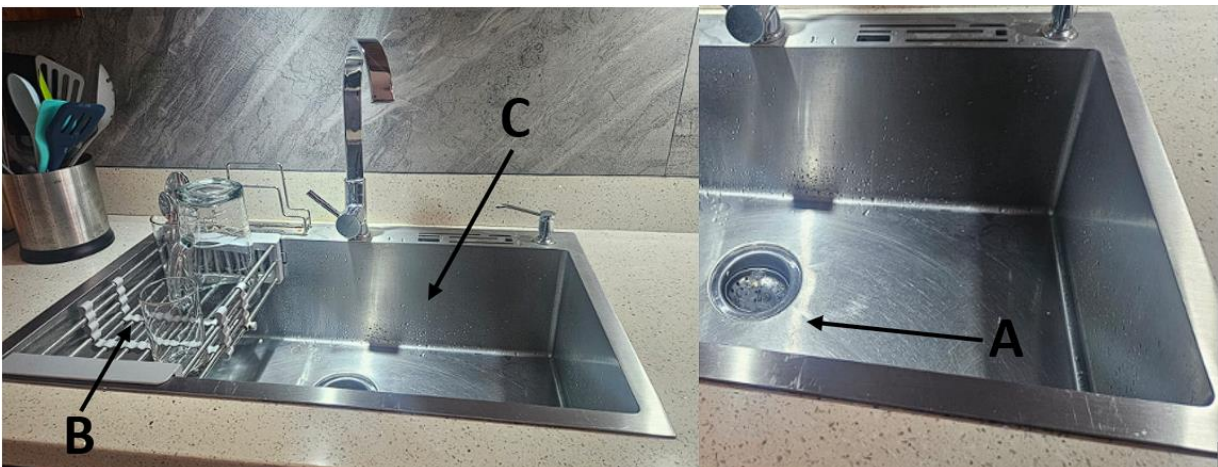


Figura 1. Lugares de muestreo en las cocinas con lavaplatos del departamento 1. (A) Desagüe. (B) Secador de platos. (C) Biofilm.



Figura 2. Lugares de muestreo en las cocinas con lavaplatos del departamento 1. (A) Desagüe. (B) Secador de platos. (C) Biofilm.

2. Descripción de los Aislamientos Primarios de Microorganismos

Tras la inoculación de muestras en agar Sabouraud Dextrosa e incubación a 37 °C por tres días, se observó el crecimiento de una amplia biodiversidad de colonias de hongos y bacterias (Figura 3). Los morfotipos presentaron una variedad de colores y texturas, predominando colonias blancas y crema, con una menor cantidad de colonias naranjas. Entre ellas, se distinguieron colonias con brillo y textura rugosa. Sin embargo, las muestras provenientes de ciertos lugares mostraron una mayor abundancia de colonias, posiblemente debido a las características de los lavaplatos. Es relevante mencionar la presencia de bacterias, que no formaban parte de los objetivos de este estudio y fueron descartadas.

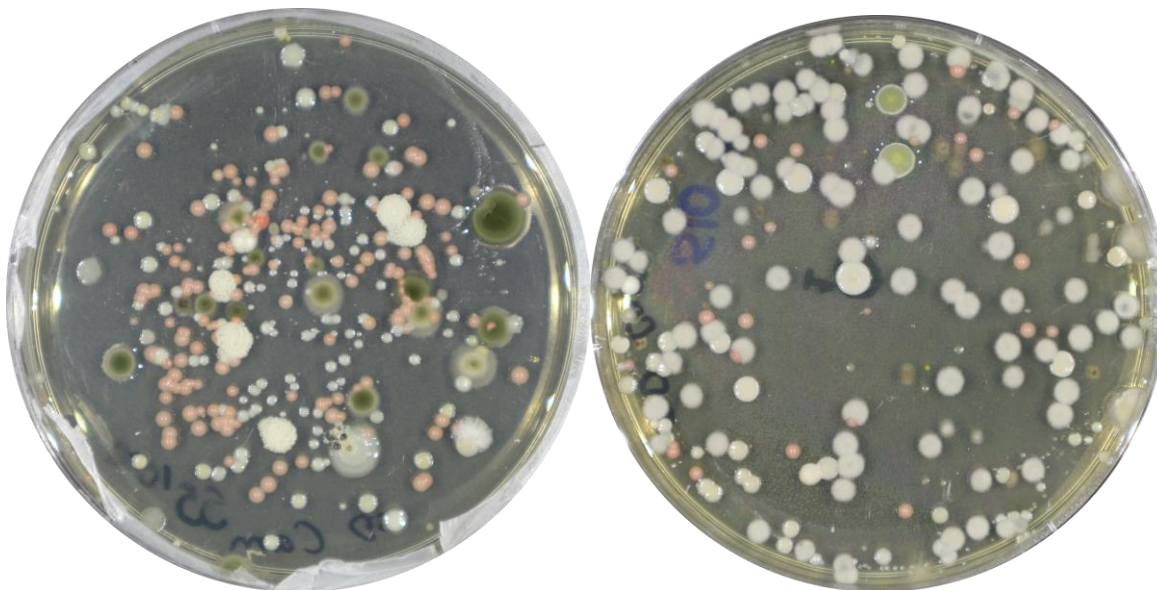


Figura 3. Crecimiento de diversas levaduras en agar Sabouraud Dextrosa.

3. Purificación de Aislados

A partir de cada aislamiento primario, se realizó un reaislamiento en Agar Sabouraud Dextrosa para obtener cepas puras, las cuales fueron identificadas morfológicamente mediante la utilización de un microscopio óptico. De esta manera se logró separar bacterias de levaduras, conservando estas últimas en agua estéril para su posterior identificación y caracterización.

Tabla 3. Aislamientos realizados según departamento y zona de muestreo.

Zona de muestra	Apartamento	Medio	N° Aislados
Desagüe/Secador/Biofilm	S1	Agar Sabouraud	4
Desagüe/Secador/Biofilm	S2	Agar Sabouraud	6
Desagüe/Secador/Biofilm	S3	Agar Sabouraud	7
Desagüe/Secador/Biofilm	S4	Agar Sabouraud	5
Desagüe/Secador/Biofilm	S5	Agar Sabouraud	6
Desagüe/Secador/Biofilm	S6	Agar Sabouraud	8

Desagüe/Secador/Biofilm	S7	Agar Sabouraud	4
Desagüe/Secador/Biofilm	S8	Agar Sabouraud	6
Desagüe/Secador/Biofilm	S9	Agar Sabouraud	4
Desagüe/Secador/Biofilm	S10	Agar Sabouraud	2
		TOTAL:	52

4. Selección de Aislados para Caracterización

Tras la etapa de purificación, seleccionamos 11 aislados de levaduras en base a sus diferentes características morfológicas (morfortipos). Estos aislados fueron considerados relevantes dentro de la biodiversidad de entornos domésticos extremos. Las características principales de los aislados seleccionados se detallan en la Tabla 4.

Tabla 4. Características morfológicas y celulares de los aislados seleccionados, inoculados en Agar Sabouraud e incubados a temperatura ambiente.

Código de Aislado	Fenotipo colonias								Otro
	Forma	Color	Brillo	Textura	Borde	Tamaño	Elevación	Transparencia	
S2-1	C	B	S	L	E	P	C	O	Ovoides
S3-1	C	B	S	L	E	p	E	O	Ovoides/Gemación
S3-3	C	B	B	L	E	P	E	O	Ovoides/Gemación
S4-1	C	B	S	L	E	M	U	O	Ovoides/Gemación
S4-3	C	C	S	L	E	P	C	O	Ovoides/Gemación/Redondas
S7-1	R	B	S	R	R	M	C	O	Ovoides/Gemación
S7-2	C	B	B	L	E	P	P	O	Pseudohifas
S7-6	C	N	B	L	E	G	C	O	Ovoides/Gemación
S7-B	C	N	S	L	E	P	E	O	Ovoides/Gemación/Redondas
S8-1	C	B	S	L	E	M	E	O	Ovoides/Gemación
S8-4	I	B	B	R	E	M	E	O	Ovoides/Gemación

Forma: C = circular; R = rizoide; F= filamentosa; I = irregular; Color: A = amarillo; C = crema; R = rosado; N = naranja; B = blanco; V= verde; Textura: L = lisa; R = rugosa; Tamaño: G = grande; M = mediano; P = pequeño; p = puntiforme; Transparencia: O = opaca; T = transparente; Brillo: B = brillante; S = sin brillo; Borde: E = entero; R=rizoide; F = filamentoso; O = ondulado; L = lobulado; r = rizado; Elevación: C = convexa; P = plana; E = elevada; U = umbilicada.

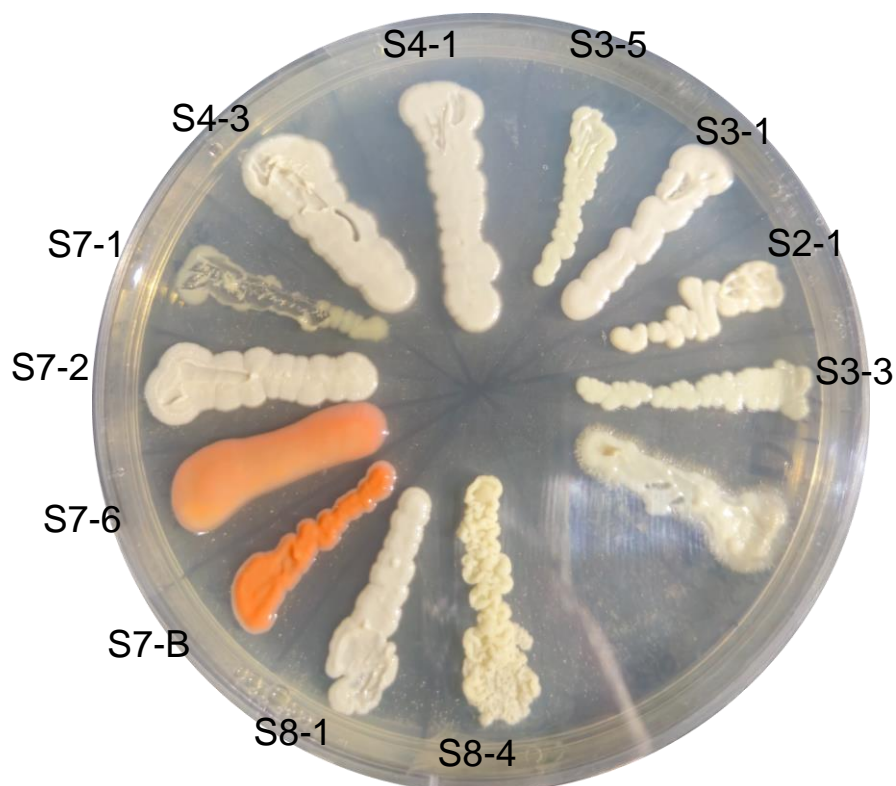



Figura 4. Aislados cultivados en Agar Sabouraud Dextrosa.

Estos resultados revelan la diversidad microbiana presente en los lavaplatos domésticos y destacan la importancia de mantener la higiene y el cuidado adecuados. En la Figura 5 se pueden observar las características descritas anteriormente.

S2-1	S3-1	S3-3	S4-1	S4-3	S7-1
					
S7-2	S7-6	S7-B	S8-1	S8-4	ATCC

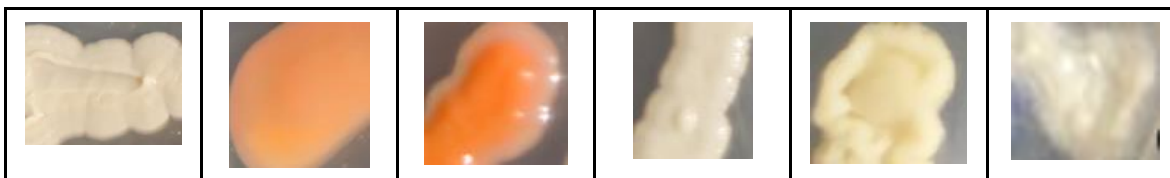


Figura 5. Características macroscópicas de las colonias de cada aislado en medio Sabouraud Dextrosa.

En cuanto a la morfología celular, evidenciamos las características de mayor relevancia en la Figura 6. Destaca que la mayoría de células son de carácter ovóide, siendo evidente una gran cantidad de levaduras en división por gemación.

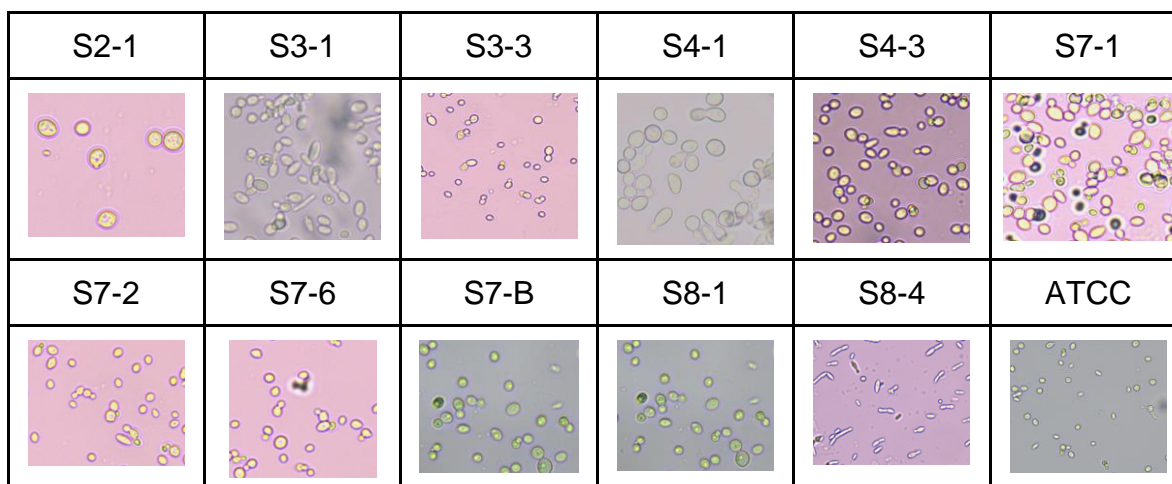


Figura 6. Características microscópicas de las células de los aislados de levaduras domésticas. Se presenta en esta figura la codificación de los 11 aislados, para facilitar su identificación.

5. Crecimiento de levaduras a diferentes temperaturas

El crecimiento de los aislados mostró una notable dependencia de la temperatura. A medida que la temperatura aumentó, se observó una tendencia generalizada a la disminución en la tasa de crecimiento. En particular, los aislados (S3-1, S3-3 y S7-1) no mostraron crecimiento a 37°C, lo que sugiere que estos aislados tienen una temperatura óptima de crecimiento inferior a esta temperatura. Por otro lado, los aislados (S2-1 y S8-4) demostraron una capacidad notable para crecer a temperaturas más altas, específicamente a 40°C. Este patrón indica que estos aislados tienen una mayor tolerancia al calor en comparación con otros. La Tabla 5

proporciona un resumen detallado del crecimiento de los aislados a diferentes temperaturas, lo que evidencia la variabilidad en la adaptabilidad térmica entre los distintos aislados estudiados.

Tabla 5. Crecimiento de levaduras a diferentes temperaturas

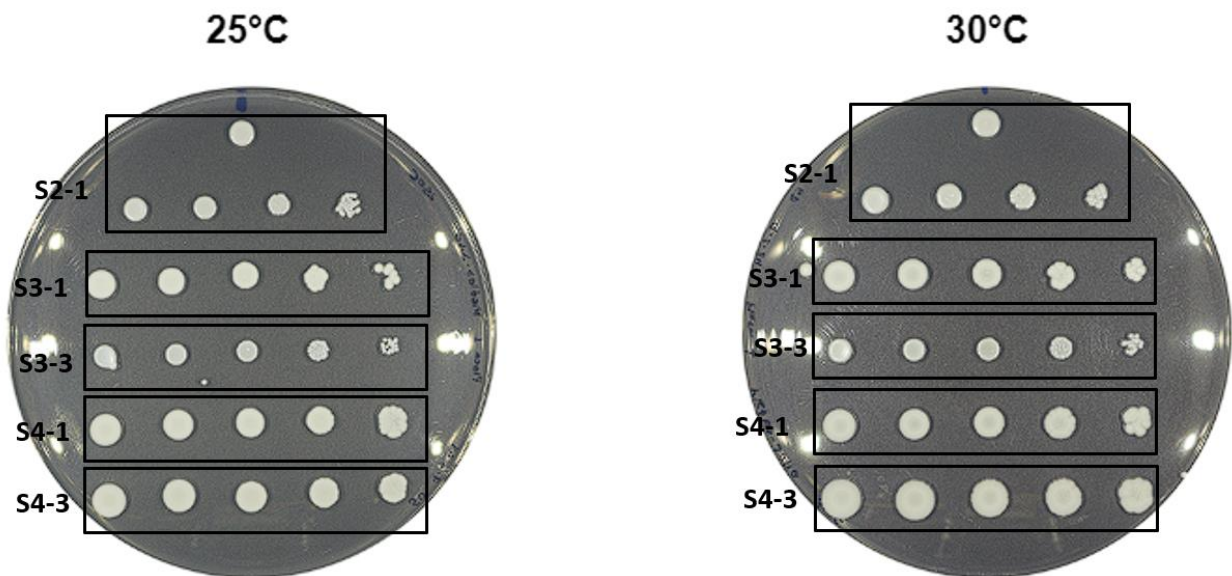
Código de Aislado	Temperatura de crecimiento			
	25°C	30°C	37°C	40°C
S2-1	+++	++++	+++	++
S3-1	+++	++++	-	-
S3-3	+++	+++	-	-
S4-1	+++	+++	+	-
S4-3	+++	++++	+	-
S7-1	+++	++++	-	-
S7-2	+++	++++	++++	+
S7-6	++	+++	+	-
S7-B	+++	++++	+	-
S8-1	+	++++	+	-
S8-4	+++	++++	+++	++
ATCC 90028	++	++++	++++	++

Lectura realizada en base a la dilución 10^{-1} .

Los aislados analizados muestran variaciones significativas en su crecimiento a diferentes temperaturas, como se observa en la tabla presentada. A 25°C, la mayoría de las cepas exhibe un crecimiento sólido, destacando aislados como S2-1, S4-1 y S7-1 con crecimiento robusto (+++). Sin embargo, a medida que la temperatura aumenta a 30°C, se observa que esta es la temperatura óptima para la mayoría de los aislados, ya que todos muestran un buen crecimiento, especialmente S2-1, S3-1, y S7-2 con un crecimiento máximo (++++). Las temperaturas más altas, como 37°C y 40°C, resultan menos favorables, mostrando que algunas cepas no crecen en absoluto o presentan un crecimiento reducido.

Al observar el comportamiento a 37°C y 40°C, la capacidad de adaptación varía considerablemente. Por ejemplo, el aislado S7-2 mantiene un crecimiento fuerte (++++) incluso a 37°C, lo que resalta su capacidad de adaptación a temperaturas más extremas. En cambio, otras cepas, como S3-1 y S3-3, no muestran crecimiento a estas temperaturas. A 40°C, solo algunas cepas como S2-1 y S8-4 logran un crecimiento moderado (++) , lo que sugiere que la mayoría de los aislados no tolera temperaturas elevadas y es más eficiente a temperaturas más bajas.

Además, como se puede observar en la Figura 7, algunos aislados experimentaron cambios en la coloración de las colonias al variar la temperatura. Esto fue particularmente evidente en el aislado S4-3, que pasó de un color crema claro a un marrón oscuro al aumentar la temperatura de 25°C a 40°C. Este cambio de color podría indicar un proceso de adaptación metabólica o un estrés celular relacionado con el calor, sugiriendo que las condiciones térmicas no solo afectan el crecimiento, sino también otras características fenotípicas de las levaduras.



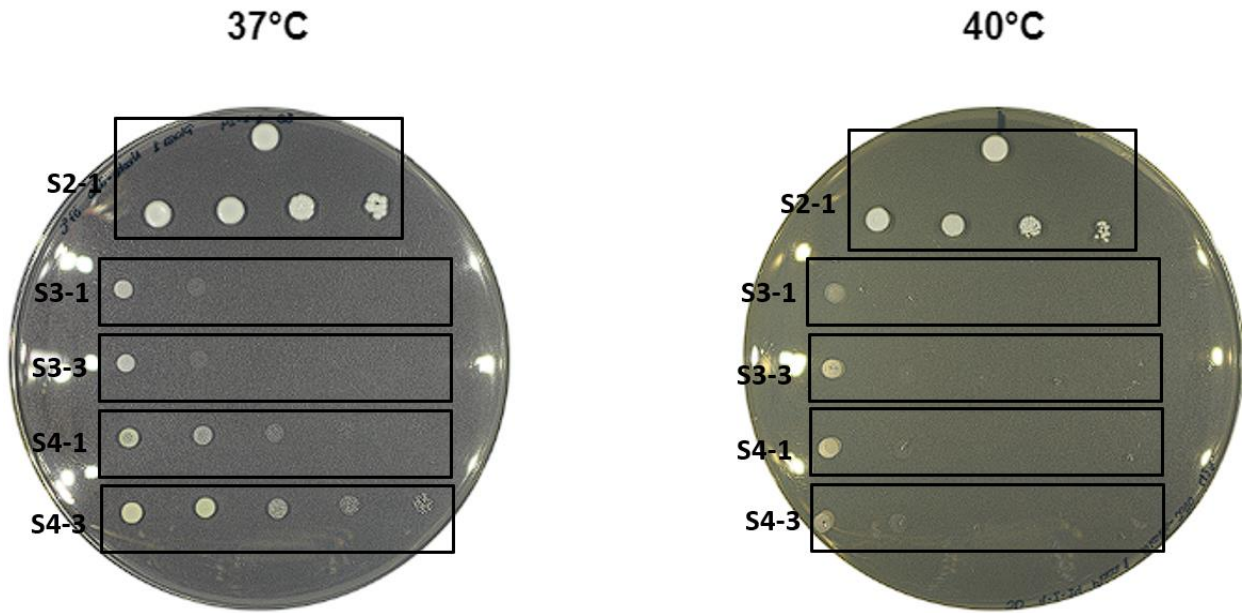


Figura 7. Aspecto de las colonias de los aislados a diferentes temperaturas.

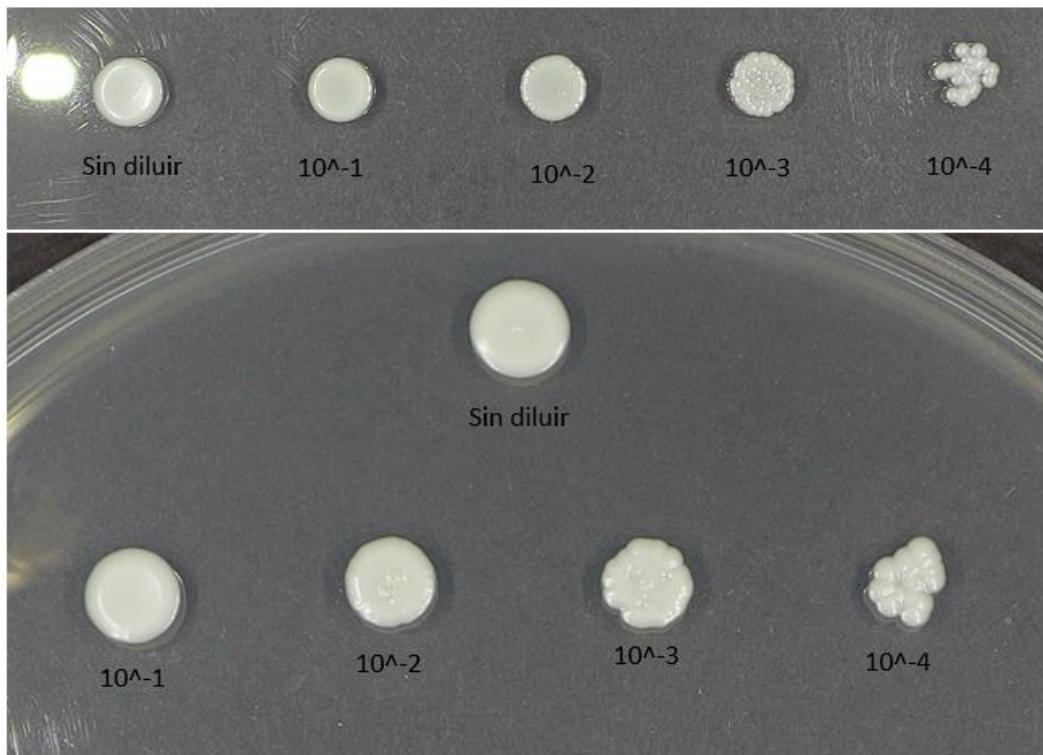


Figura 8. Esquema base de diluciones seriadas de cada aislado.

6. Expresión de factores de virulencia

Una vez purificados los aislados, nos permite determinar algunas de las características fenotípicas de cada uno de ellos.

6.1 Actividad de fosfolipasa.

A las 120 horas de incubación, se determinó que los aislados S7-2 Y S7-B poseen la capacidad de producir fosfolipasas. La Figura 9 muestra los ensayos realizados en Agar SD suplementados con yema de huevo.

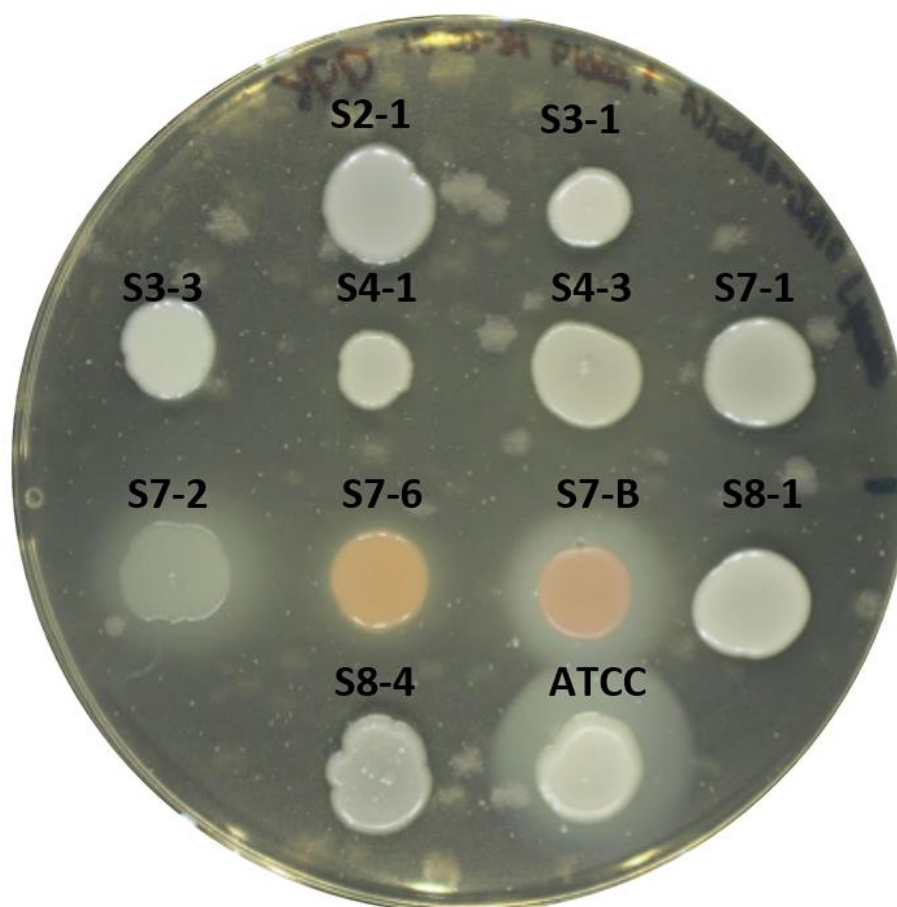


Figura 9. Actividad fosfolipasa de 11 aislados seleccionados en Agar SD suplementado con yema de huevo. Se puede observar una reacción positiva en los aislados para la producción de fosfolipasas

6.2 Actividad hemolítica.

Al observar los resultados a las 120 horas de incubación de los 11 aislados seleccionados, se pudo evidenciar que todos presentaron una actividad hemolítica. La Figura 10 muestra los ensayos realizados en Agar sangre

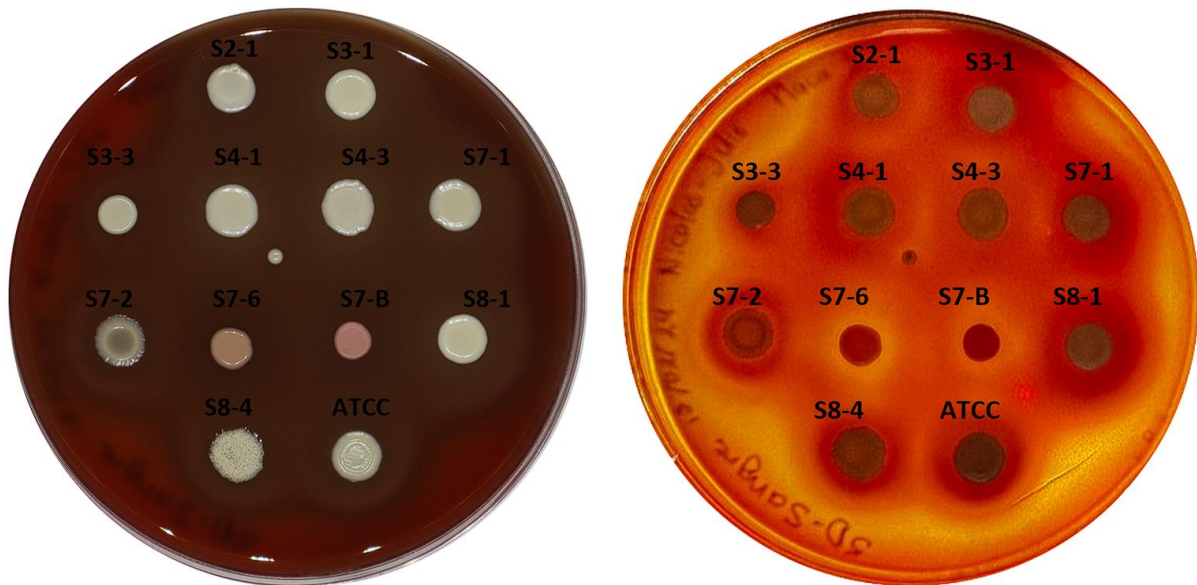


Figura 10. Actividad hemolítica de 11 aislados seleccionados cultivados en Agar Sangre.

6.3 Actividad proteolítica.

Con el objetivo de determinar la actividad proteolítica, se utilizó el medio agarizado suplementado con leche descremada. De esta manera, 120 horas después de la inoculación se evidenció que ningún aislado posee la capacidad de producir proteólisis. La Figura 10 muestra los ensayos realizados en Agar SD suplementado con leche.

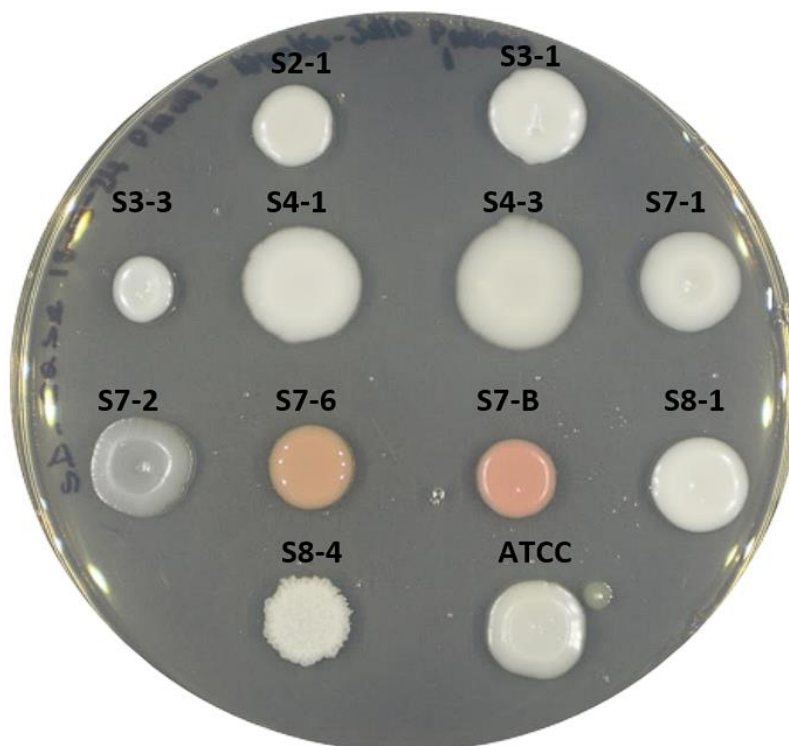


Figura 11. Actividad proteolítica de 11 aislados seleccionados inoculados en Agar SD suplementado con leche.

6.4 Capacidad de penetración del sustrato.

Con el objetivo de determinar si los aislados seleccionados poseen la capacidad de penetrar un sustrato semi-sólido de manera activa, se realizó este ensayo el cual permite simular un tejido animal o vegetal. Los aislados que presentaron capacidad de penetración fueron (S3-1, S8-4) (Figura 12) Se observa claramente la “huella” de estos aislados, una vez que las células superficiales fueron eliminadas mediante lavado con agua destilada.

Una vez se identificó los aislados que fueron capaces de penetrar el medio se realizaron cortes transversales de los mismos y luego fueron observadas al microscopio óptico. En la Figura 12 se muestran los resultados obtenidos. Se pudo observar hifas alargadas y ramificadas que penetran activamente el medio. La capacidad de penetración varía según el aislado. En algunos casos, las hifas

penetraron hasta una profundidad de 234 μm ; por el contrario, las hifas otros aislados fueron capaces de profundizar hasta 1120 μm .

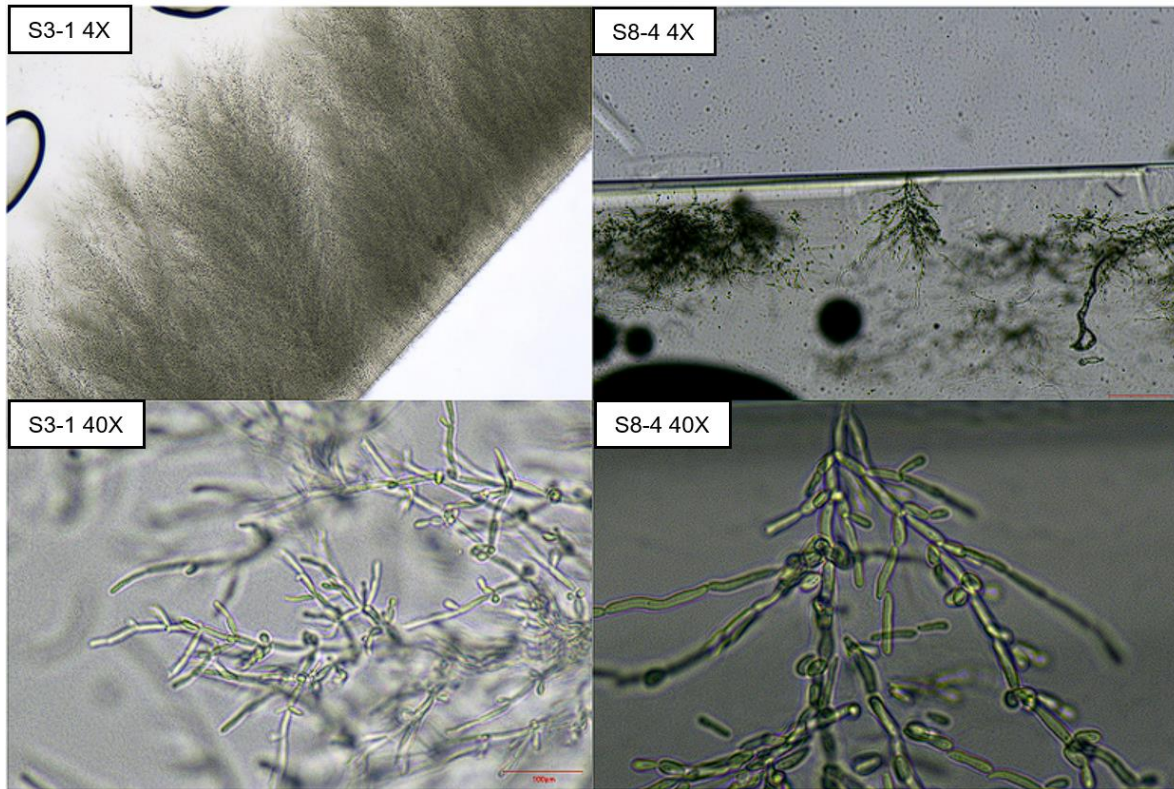


Figura 12. Hifas del aislados S3-1, S8-4. Penetrando activamente el medio agarizado. Se muestran imágenes obtenidas con aumento de 4X y 40X.

En la Tabla 6 se resumen los factores de virulencia expresados por cada uno de los 11 aislados seleccionados.

Tabla 6. Factores de virulencia

Factores de virulencia	Hemólisis	Proteasas	Fosfolipasas	Capacidad de penetración
S2-1	+	-	-	-
S3-1	+	-	-	+
S3-3	+	-	-	-

S4-1	+	-	-	-
S4-3	+	-	+	-
S7-1	+	-	+	-
S7-2	+	-	-	-
S7-6	+	-	-	-
S7-B	+	-	-	-
S8-1	+	-	-	-
S8-4	+	-	-	+

7. Amplificación de la región ITS

A partir del ADN genómico extraído a partir de cada uno de los aislados, se llevó a cabo la amplificación de la región ITS mediante PCR. En la Figura 13 se presentan las bandas correspondientes a los productos de amplificación obtenidos mediante PCR, luego de haber sido sometidos a electroforesis en gel de agarosa. Las bandas observadas muestran longitudes moleculares diversas, evidenciando el polimorfismo de la región amplificada.

La amplificación de la región ITS del genoma de uno de los aislados permitió obtener un amplicón con una longitud de aproximadamente 700 pb. Otros tres aislados produjeron amplicones de aproximadamente 500 pb, mientras que cuatro aislados generaron productos de amplificación de aproximadamente 400 pb. Por último, dos aislados dieron origen a amplicones con una longitud aproximada de 350 pb.

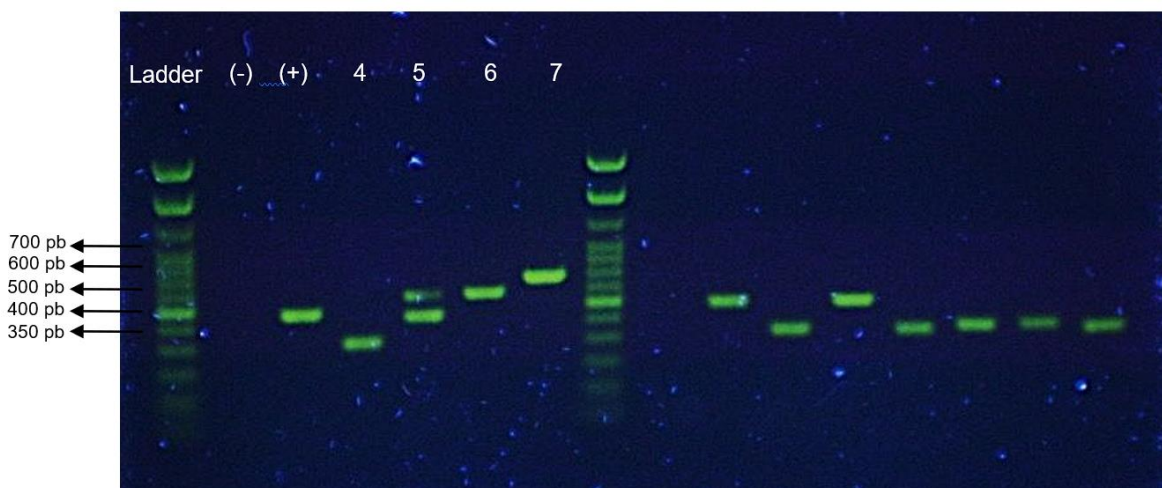


Figura 13. Amplificación por PCR de la región ITS a partir del genoma de 11 aislados, y posterior electroforesis en gel de agarosa 1%. **Carril 1:** Patrón de longitud molecular; **(-):** Control negativo; **(+):** Control positivo; **Carril 4:** Aislado S3-1; **Carril 5:** Aislado S2-1; **Carril 6:** Aislado S3-3; **Carril 7:** Aislado S7-2

El proceso de amplificación de la región ITS se llevó a cabo a partir del genoma de las 11 cepas seleccionadas, junto con controles positivos y negativos. Como se muestra en la Figura 13, los productos de amplificación obtenidos mediante PCR fueron sometidos a electroforesis en gel de agarosa, revelando bandas con longitudes moleculares variadas. Esta variabilidad en la longitud de los amplicones, que oscila entre aproximadamente 350 pb y 700 pb, sugiere la existencia de polimorfismo en la región amplificada.

La presencia de amplicones de diferentes longitudes como los de 700 pb, 500 pb, 400 pb y 350 pb indica que la región ITS presenta una considerable variabilidad tanto en secuencia como en tamaño. Este polimorfismo es característico de regiones intergénicas que no codifican para proteínas estables, permitiendo mutaciones sin consecuencias graves para la supervivencia celular. Los resultados obtenidos proporcionan una visión detallada de la diversidad genética de las cepas estudiadas, subrayando la importancia de la región ITS en la identificación y caracterización de levaduras patógenas.

8. Secuenciación y análisis de secuencias con BLAST

A partir de los amplicones obtenidos anteriormente, se logró la secuenciación nucleotídica, la cual fue ejecutada por la empresa Macrogen Inc. (Seúl, Corea del Sur). Utilizando el programa BLAST-N y las secuencias de ARNr/ITS almacenadas en las bases de datos de GenBank, se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 7.

Los resultados indican un porcentaje de identidad del 98% con respecto a las secuencias presentes en GenBank; e incluso las secuencias de algunas cepas muestran una identidad del 100%. A través de este método, determinamos que la mayoría de los aislados están relacionados, filogenéticamente hablando, con cepas que pertenecen al género ***Candida***. En efecto, de cinco aislados, cuatro corresponden a ***Candida intermedia*** y una a ***Candida parapsilosis***.

Además del género ***Candida***, se identificaron aislados relacionados con especies de otros géneros de levaduras, como ***Rhodotorula mucilaginosa*** (S7-6, S7-B), que mostraron un porcentaje de identidad del 99% con las secuencias de GenBank.

También se observó la presencia de un aislado que está cercanamente relacionado con una cepa de la especie ***Yamadazyma takamatsuzukensis***. En el anexo 5, se presentan los resultados del análisis de secuencia mediante BLAST-N.

Durante la secuenciación del aislado S4-3, se visualizó una posible contaminación en el espectroferograma, lo que resultó en picos irregulares y señales inconsistentes que afectaron la calidad de la secuencia obtenida. Esta contaminación, probablemente presente desde la extracción del ADN o durante la amplificación por PCR, impidió un alineamiento confiable con las secuencias disponibles en la base de datos GenBank, lo que imposibilitó la identificación del aislado.

Tabla 7. Resultados del análisis de las secuencias nucleotídicas de la región ITS mediante Blast-N

Aislado	Especie Filogenética más cercana	% Identidad	% de Cobertura	N° Adhesión	Longitud de secuencia
S2-1	<i>Candida parapsilosis</i>	99.66	73	<u>EF187252.1</u>	400
S3-1	<i>Candida intermedia</i> isolate B-NC-12-F29	100	82	KF728822.1	200
S3-3	<i>Yamadazyma takamatsuzukensis</i>	99.76	84	NR_144770.1	500
S4-1	[<i>Candida</i>] <i>intermedia</i> strain DL8Y	100	53	<u>MT102814.1</u>	250
S7-1	[<i>Candida</i>] <i>intermedia</i> strain CCDBC 622	89.02	65	OL687496.1	263
S7-2	<i>Hanseniaspora pseudoquilliermondii</i>	100,00	88	MW990151.1	600
S7-6	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	99,64	79	<u>OM181944.1</u>	350
S7-B	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	100	77	MT635319.1	500
S8-1	[<i>Candida</i>] <i>intermedia</i> isolate <u>4Y142</u>	97,90	48	MT138731.1	294
S8-4	<i>Metarhizium robertsii</i>	88.33	19	MF681593.1	300
S4-3	NO IDENTIFICADA	-	-	-	-

Discusión

Este estudio se centró en la identificación y caracterización de levaduras potencialmente patógenas presentes en ambientes domésticos extremos del Oriente Ecuatoriano. Durante la realización del mismo se logró aislar y caracterizar una diversidad de levaduras, destacando algunas que tienen relevancia médica debido a su capacidad para proliferar en condiciones extremas y su potencial patógeno. Se obtuvieron 11 aislados, todos capaces de crecer entre 25 y 30°C, destacando que dos colonias presentaron la capacidad de crecer a 40°C. Hasta

donde hemos podido consultar la bibliografía, se trata de la primera investigación en su tipo realizada en el oriente ecuatoriano.

Dentro de los resultados recopilados, fue evidente la gran cantidad y diversidad de hongos que logramos aislar a partir de las comunidades que colonizan los lavaplatos domésticos en el oriente ecuatoriano. En efecto, como se mencionó en los resultados, se obtuvieron 11 aislados que presentaban morfotipos claramente distintos. Estos hongos pertenecen a una variedad de géneros y especies, lo que refleja una notable diversidad microbiana en los ambientes domésticos estudiados.

Esta diversidad ha sido previamente reportada en estudios realizados en otros países, específicamente en investigaciones que se han centrado en el análisis de microorganismos presentes en lavaplatos domésticos, como lo ha descrito Zalar et al., quienes analizaron la diversidad de hongos presentes en lavaplatos domésticos y destacaron la variedad de géneros y especies que se pueden encontrar en estos ambientes (27).

Tal es el caso del artículo publicado por Gunde-Cimerman et al. en 2018, que investigó la diversidad y distribución de hongos en lavaplatos domésticos en Eslovenia. En dicho estudio, se aislaron cepas de hongos pertenecientes a varios géneros, incluyendo *Candida*, *Cryptococcus* y *Rhodotorula*. Los investigadores encontraron una colonización generalizada en todo el lavaplatos, sin concentrarse en áreas específicas. Este hallazgo subraya la capacidad de los hongos para adaptarse y proliferar en diversos microambientes dentro del lavaplatos, desde las superficies internas hasta las partes móviles. Además, el estudio destacó la importancia de las condiciones ambientales, como la humedad y la temperatura, en la promoción del crecimiento fúngico (28).

Otro estudio relevante es el realizado por Bockmühl et al. en 2020, que identificó varios tipos de hongos patógenos en lavaplatos domésticos en Alemania, incluyendo *Aspergillus* y *Exophiala*. Los resultados indicaron una presencia generalizada de estos hongos en diversas partes internas del lavaplatos. Los

investigadores también señalaron que los hongos patógenos oportunistas pueden representar un riesgo significativo para la salud, especialmente para individuos con sistemas inmunológicos comprometidos. Este estudio enfatizó la necesidad de una limpieza regular y el mantenimiento adecuado de los lavaplatos para minimizar el riesgo de contaminación y proliferación de hongos patógenos (29).

En nuestro estudio, se observó una colonización fúngica general en los lavaplatos domésticos muestreados, sin una concentración predominante en áreas específicas. Entre los hongos aislados, se encontraron especies patógenas oportunistas, como, *Fusarium oxysporum* y *Candida parapsilosis*. Específicamente, conocida patógena oportunista, se identificó en un alto porcentaje de los lavaplatos. Estos resultados coinciden con las observaciones de estudios previos, indicando que los lavaplatos pueden ser reservorios significativos de hongos patógenos. La identificación de estas especies en múltiples muestras subraya la importancia de la vigilancia y el control de la contaminación fúngica en entornos domésticos.

Considerando que la cocina es un lugar que se encuentra en contacto continuo con diferentes productos, es un ambiente propicio para el crecimiento de diversos tipos de hongos.

Los microorganismos pueden provenir de los alimentos, utensilios de cocina y otros elementos que se lavan regularmente, esto se ha podido identificar gracias a investigaciones como la de Gunde-Cimerman (2018) en la que se investigaron los hongos presentes en lavaplatos domésticos, revelando que muchos de los microorganismos provienen de restos de alimentos, utensilios de cocina y otros elementos que se lavan regularmente (28).

El ambiente de los lavaplatos, con su alta humedad, temperaturas variables y residuos alimenticios, proporciona las condiciones ideales para que los microorganismos, incluidos hongos patógenos oportunistas, proliferen. Además, la disponibilidad de nutrientes, condiciones de humedad y otros factores ambientales favorecen su crecimiento y proliferación. La preparación de alimentos,

especialmente aquellos que dejan residuos orgánicos, contribuye significativamente a la acumulación de nutrientes en el lavaplatos, creando un entorno ideal para la proliferación de hongos. La combinación de calor y humedad durante el ciclo de lavado también proporciona condiciones óptimas para el crecimiento fúngico (29).

Por otra parte, cabe recalcar que las levaduras aisladas se multiplican activamente en un rango de temperaturas de crecimiento óptimas entre 25°C y 37°C, lo cual es consistente con su capacidad para colonizar ambientes domésticos y humanos. Estas temperaturas favorecen la proliferación de levaduras como *Candida albicans* y *Exophiala dermatitidis*, que pueden crecer en ambientes húmedos y cálidos, como los encontrados en baños y cocinas. La termo tolerancia de estas especies les permite sobrevivir y prosperar en condiciones que serían letales para otros microorganismos, contribuyendo a su capacidad patogénica y su persistencia en el medio ambiente.

Es por esta razón que se considera de particular interés la capacidad que presentaron las colonias S2-1, S7-2 y S8-4 para crecer en ambientes con temperaturas iguales o superiores a 37°C.

Además de identificar las especies de hongos presentes, también evaluamos la expresión de factores de virulencia de estos aislados. Estos factores incluyen la hemólisis, la producción de fosfolipasas y la capacidad de penetración, aspectos que son cruciales para entender el potencial patogénico de los hongos en el cuerpo humano.

La hemólisis, que fue observada en todos los aislados, es un factor de virulencia significativo. La hemólisis se refiere a la capacidad de ciertos microorganismos para destruir los glóbulos rojos, liberando hemoglobina. Este proceso puede tener graves consecuencias para el cuerpo humano, incluyendo anemia y daño tisular.

En un estudio realizado por Luo et al. en 2019, se evaluó la capacidad hemolítica de varias cepas de *Candida albicans* y se encontró que las cepas altamente

hemolíticas eran más virulentas en modelos animales, causando infecciones más graves y persistentes (30).

La presencia de actividad hemolítica en todos nuestros aislados sugiere un potencial patogénico considerable, lo cual es preocupante dado el uso doméstico de los lavaplatos.

En contraste, la producción de proteasas no fue observada en ninguno de los casos aislados de nuestro estudio. Las proteasas son enzimas que degradan proteínas y son conocidas por facilitar la invasión y colonización de tejidos por parte de patógenos. Aunque no detectamos actividad proteásica, otros estudios han demostrado su importancia en la patogenicidad de hongos. Por ejemplo, en un estudio de Naglik et al. (2003), se demostró que las proteasas de *Candida albicans* juegan un papel crucial en la destrucción de barreras epiteliales, facilitando la invasión de tejidos subyacentes. La ausencia de proteasas en nuestros aislados podría indicar una menor capacidad invasiva, aunque no necesariamente una menor virulencia general (31).

La producción de fosfolipasas fue observada en dos de los aislados S7-2 Y S7-B. Las fosfolipasas son enzimas que descomponen los fosfolípidos de las membranas celulares, contribuyendo a la destrucción celular y facilitando la diseminación del patógeno en el hospedador.

Un estudio realizado por Ghannoum en el año 2000 mostró que las cepas de *Candida* con alta actividad fosfolipasa eran más virulentas en modelos animales, causando infecciones más severas y de mayor duración (32).

La presencia de fosfolipasas en nuestros aislados sugiere que estos hongos podrían tener un potencial mayor para causar daño tisular y diseminación sistémica.

En un estudio realizado por Sampathkumar et al. (2020), se demostró que *Candida albicans* con alta actividad fosfolipasa causaba daño hepático significativo en ratones, subrayando el peligro potencial de estos hongos en humanos (33).

Otro factor de virulencia evaluado fue la capacidad de penetración en sustratos semi-sólidos o agarizados, que se observó en los aislados S3-1 y S8-4. La capacidad de penetración se refiere a la habilidad del hongo para invadir tejidos y órganos del huésped, lo cual es crucial para la diseminación de la infección.

De manera similar, en un estudio realizado por Liu, Zhang y Wang (2020), se evaluó la capacidad de penetración de *Metarhizium anisopliae* (*Clavicipitaceae*), un hongo entomopatógeno con gran potencial en el control biológico de plagas. Mediante el uso de microscopía confocal y electrónica de barrido, los investigadores revelaron que *M. anisopliae* tiene una destacada habilidad para penetrar y colonizar diversos tejidos de insectos. El estudio mostró que las hifas de *M. anisopliae* logran invadir las estructuras celulares del huésped, incluyendo células epiteliales y tejidos internos, provocando una respuesta inflamatoria significativa y daño celular progresivo (40).

El análisis de la región ITS mediante PCR y su posterior secuenciación utilizando la herramienta Blast-N ha revelado información significativa sobre la diversidad de los aislados estudiados. La Tabla 7 presenta los resultados de este análisis, mostrando la especie filogenética más cercana para cada aislado, junto con el porcentaje de identidad, el porcentaje de cobertura, el número de adhesión y la longitud de la secuencia.

La amplificación de la región ITS es ampliamente utilizada para la identificación de hongos debido a su alta variabilidad en las secuencias nucleotídicas entre diferentes aislados, lo que permite la diferenciación precisa de especies cercanas (34).

El análisis filogenético basado en la región ITS ha permitido la identificación de especies como *Candida parapsilosis* y *Candida sp.*, demostrando una alta identidad secuencial del 99-100%, lo cual es crucial para estudios de epidemiología y diagnóstico clínico.

Los estudios de secuenciación de ITS han identificado cepas como *Candida intermedia* y *Rhodotorula mucilaginosa*, resaltando su relevancia en infecciones humanas debido a su potencial patógeno y la variabilidad genética que presentan.

Como lo destacó Borman et al. (2008) *Rhodotorula mucilaginosa* es una levadura oportunista que afecta principalmente a pacientes inmunocomprometidos, como aquellos con diabetes mellitus, cáncer o enfermedad renal crónica (ERC). Y Lortholary et al. (36) añade que esta levadura se asocia frecuentemente con infecciones invasivas, como fungemia y meningitis, en personas que usan catéteres venosos centrales u otros dispositivos médicos invasivos (35)(36).

El aislado S7-2, correspondiente a *Hanseniaspora pseudoguilliermondii*, mostró una identidad del 100% con la secuencia de referencia y una cobertura del 88%. Además, los aislados S7-6 y S7-B se identificaron como *Rhodotorula mucilaginosa*, con porcentajes de identidad del 99.64% y 100%, respectivamente. Estas especies también son reconocidas por su potencial patógeno, destacando su importancia en estudios microbiológicos.

Aunque *Hanseniaspora pseudoguilliermondii* es conocida principalmente por su rol en procesos fermentativos, especialmente en la fermentación espontánea de vinos y en productos como el jugo de naranja, también ha sido aislada en contextos clínicos. Se ha reportado su presencia en infecciones como uñas infectadas, lo que sugiere un potencial patógeno en ciertas condiciones (37)(38).

Sin embargo, es importante recordar que algunas levaduras oportunistas pueden causar infecciones en individuos inmunocomprometidos, aunque *Hanseniaspora pseudoguilliermondii* en general no es un género reconocido por su patogenicidad. Si se identifica como un agente patógeno, sería un caso extremadamente raro (39).

El aislado S4-3 presentó dificultades significativas para ser identificado debido a problemas surgidos durante el proceso de secuenciación. En primer lugar, se observó una posible contaminación en el espectroferograma, lo que se tradujo en picos irregulares y señales inconsistentes a lo largo de la secuencia obtenida. Esta

contaminación, que muy probablemente tuvo su origen durante la extracción del ADN o en el proceso de amplificación por PCR, afectó directamente la calidad de los resultados. La presencia de estas anomalías impidió que se lograra un alineamiento confiable entre la secuencia del aislado S4-3 y las secuencias disponibles en las bases de datos genómicas, como GenBank.

A pesar de los intentos por resolver estas inconsistencias y obtener una secuencia clara, los datos generados no fueron lo suficientemente robustos como para identificar con precisión al aislado, ya que no se encontraron coincidencias significativas con las secuencias nucleotídicas depositadas en dichas bases de datos. En consecuencia, la identificación del aislado S4-3 no pudo ser completada, lo que destaca la importancia de evitar posibles contaminaciones en las etapas críticas del proceso, como la extracción y amplificación del ADN, para garantizar la calidad de los resultados y facilitar la identificación precisa de los aislados.

Esto es respaldado por varios estudios que destacan la relevancia de la región ITS en la diversidad genética y la identificación de especies fúngicas:

La elevada tasa de mutación y el polimorfismo de la región ITS la convierten en un marcador molecular ideal para la discriminación taxonómica de hongos (42). Esta región es ampliamente usada para la identificación a nivel interespecífico como intraespecífico de especies fúngicas y el estudio de las relaciones evolutivas entre ellas (43).

Los resultados obtenidos durante este estudio han demostrado poseer información valiosa, sin embargo, somos conscientes de varias limitaciones que deben ser consideradas al interpretar los resultados. Primero, el número limitado de hogares muestreados (10 en total) puede representar un inconveniente a la hora de extrapolar nuestros resultados a toda la región. Un número limitado de muestras puede afectar la representatividad de la diversidad y frecuencia de hongos en lavaplatos domésticos en una región más amplia. Por otra parte, la variabilidad entre

diferentes hogares y prácticas de limpieza podría influir significativamente en los resultados obtenidos.

Otra limitación importante radica en los medios de cultivo utilizados. No todos los hongos presentes en las muestras obtenidas pueden crecer en los medios de cultivo seleccionados, lo cual puede deberse a diversas razones. Algunos hongos tienen requisitos nutricionales específicos que no se cumplen en los medios estándar como lo ha reportado Barnett & Hunter en el año de 1998. Además, factores como la temperatura y el pH del medio pueden no ser óptimos para el crecimiento de todas las especies presentes en las muestras, pudiendo esto resultar en una subestimación de la diversidad fúngica real (41).

Las limitaciones del entorno universitario también jugaron un papel. El acceso a recursos avanzados y equipos especializados podía implementarse para llevar a cabo análisis más detallados y precisos. Sin embargo, a pesar de estas limitaciones, los resultados obtenidos son valiosos y contribuyen significativamente a la comprensión de la ecología microbiana en entornos domésticos, así como la patogenicidad potencial de estas especies. En este sentido, el presente estudio ofrece una visión preliminar que puede guiar investigaciones futuras más amplias y detalladas.

En resumen, los resultados obtenidos en este estudio muestran una notable diversidad de hongos en los lavaplatos domésticos del oriente ecuatoriano, con 11 aislados diferentes identificados. Los factores de virulencia evaluados incluyeron hemólisis, fosfolipasas y capacidad de penetración, con todos los aislados mostrando hemólisis, dos produciendo fosfolipasas y dos demostrando capacidad de penetración.

Se trata, como hemos dicho más arriba, del primer estudio de este tipo en la región que emplea una combinación innovadora de técnicas microbiológicas, moleculares y bioinformáticas, estableciendo un sólido punto de partida para futuras investigaciones. Estos resultados no solo proporcionan una visión inicial valiosa,

sino que también sientan las bases para estudios más amplios que puedan abordar las limitaciones del presente trabajo y ofrecer una comprensión más profunda de la proliferación de hongos en entornos domésticos.

CAPÍTULO IV
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

IV.1.- CONCLUSIONES

- Los lavaplatos domésticos del oriente ecuatoriano presentan una notable diversidad de hongos, incluyendo especies pertenecientes a géneros como *Candida* y *Rhodotorula*.
- Las levaduras aisladas en este estudio muestran potenciales factores de virulencia, tales como la capacidad de producir hemolisinas y fosfolipasas, así como la capacidad de penetración del sustrato, lo que representa un riesgo potencial para la salud humana.
- A pesar de las limitaciones del estudio, como el reducido número de hogares muestreados y la capacidad limitada de los medios de cultivo, los resultados obtenidos son significativos y contribuyen al conocimiento sobre la ecología microbiana en entornos domésticos.
- La presencia de hongos que pueden producir biopelículas en los lavaplatos domésticos reafirma la idea de que estos microorganismos tienen la capacidad de adherirse y persistir en superficies, lo que puede aumentar la dificultad de su eliminación y el riesgo de contaminación de alimentos e infección de personas.
- El estudio revela que algunos hongos presentes en los lavaplatos tienen la capacidad de degradar materiales orgánicos, lo cual indica su potencial para afectar negativamente la integridad de los utensilios de cocina y otros elementos en contacto frecuente con estos microorganismos.

IV.2.- RECOMENDACIONES

- Ampliar el estudio a una mayor cantidad de hogares y diferentes regiones geográficas para obtener una visión más representativa de la diversidad y prevalencia de hongos en lavaplatos domésticos.
- Implementar el uso de medios de cultivo más variados y específicos, así como técnicas avanzadas de análisis microbiológico y molecular, para asegurar un aislamiento más completo de todas las especies fúngicas presentes en las muestras.
- Informar a las autoridades de salud pública sobre los hallazgos del estudio, especialmente sobre los hongos con factores de virulencia identificados, para desarrollar políticas de higiene y prevención en los hogares.
- Promover la investigación adicional sobre la interacción de los hongos con los materiales utilizados en la fabricación de lavaplatos y utensilios de cocina, para entender mejor cómo prevenir la degradación y la contaminación persistente.
- Establecer pautas específicas para la limpieza y desinfección de lavaplatos, que incluyan el uso de productos antifúngicos efectivos y técnicas de mantenimiento que minimicen la formación de biopelículas y la acumulación de residuos orgánicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Novak Babič M, Gostinčar C, Gunde-Cimerman N. Microorganisms populating the water-related indoor biome. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020 Aug;104(15):6443-6462.
2. Zupančič J, Novak Babič M, Zalar P, Gunde-Cimerman N. The Black Yeast *Exophiala dermatitidis* and Other Selected Opportunistic Human Fungal Pathogens Spread from Dishwashers to Kitchens. *PLoS One.* 2016 Feb 11;11(2):e0148166.
3. Kulesza K, Biedunkiewicz A, Nowacka K, Dynowska M, Urbaniak M, Stępień Ł. Dishwashers as an Extreme Environment of Potentially Pathogenic Yeast Species. *Pathogens.* 2021 Apr 8;10(4):446.
4. Gostinčar C, Grube M, Gunde-Cimerman N. Evolution of fungal pathogens in domestic environments? *Fungal Biol.* 2011 Oct;115(10):1008-18.
5. Zalar P, Novak M, de Hoog GS, Gunde-Cimerman N. Dishwashers--a man-made ecological niche accommodating human opportunistic fungal pathogens. *Fungal Biol.* 2011 Oct;115(10):997-1007.
6. Kulesza K, Biedunkiewicz A, Nowacka K, Dynowska M, Urbaniak M, Stępień Ł. Dishwashers as an Extreme Environment of Potentially Pathogenic Yeast Species. *Pathogens* 2021, 10, 446.
7. Raghupathi P K, Zupančič J, Brejnrod A D, Jacquioid S, Houf K, Burmølle M, Gunde-Cimerman N, Sørensen S J. Microbial Diversity and Putative Opportunistic Pathogens in Dishwasher Biofilm Communities. *Appl Environ Microbiol.* 2018 Feb 14;84(5):e02755-17.
8. Döğen A, Kaplan E, Oksüz Z, Serin MS, Ilkit M, de Hoog GS. Dishwashers are a major source of human opportunistic yeast-like fungi in indoor environments in Mersin, Turkey. *Med Mycol.* 2013 Jul;51(5):493-8.
9. Beumer RR, Kusumaningrum H. Kitchen hygiene in daily life. *International Biodeterioration & Biodegradation.* 1 de junio de 2003;51(4):299-302. 20
10. Leonas K. *Microorganisms in Carpet.* University of Georgia. 2003;

11. Rintala H, Pitkäranta M, Täubel M. Chapter 4 - Microbial Communities Associated with House Dust. En: Laskin AI, Sariaslani S, Gadd GM, editores. *Advances in Applied Microbiology* [Internet]. Academic Press; 2012 [citado 13 de junio de 2023]. p. 75-120. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012394805200004X>
12. Islam MMM, Islam MA. Quantifying public health risks from exposure to waterborne pathogens during river bathing as a basis for reduction of disease burden. *J Water Health*. junio de 2020;18(3):292-305.
13. Novak Babič M, Gostinčar C, Gunde-Cimerman N. Microorganisms populating the water-related indoor biome. *Appl Microbiol Biotechnol*. agosto de 2020;104(15):6443-62.
14. Afonso TB, Simões LC, Lima N. Occurrence of filamentous fungi in drinking water: their role on fungal-bacterial biofilm formation. *Research in Microbiology*. 1 de enero de 2021;172(1):103791.
15. Bogantes- Ledezma P, Bogantes-Ledezma D, Bogantes- Ledezma S. Aflatoxinas. *Acta Médica Costarricense*. octubre de 2004;46(4):174-8.
16. Gostinčar C, Grube M, Gunde-Cimerman N. Evolution of Fungal Pathogens in Domestic Environments? *Fungal Biology*. octubre de 2011;115(10):1008-18.
17. Cham: Springer International Publishing; 2017 [citado 04 de junio de 2023]. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-62683-3>
18. Raghupathi P, Zupancic J, Brejnrod A, Jacquiod S, Houf K, Burmølle M, et al. Microbiomes in Dishwashers: Analysis of the microbial diversity and putative opportunistic pathogens in dishwasher biofilm communities. *21 Applied and Environmental Microbiology*. 12 de enero de 2018;84:AEM.02755-17.
19. Buzzini P, Lachance MA, Yurkov A, editores. *Yeasts in Natural Ecosystems: Diversity* [Internet].

20. Elfeky DS, Gohar NM. Evaluation of virulence factors of *Candida* species isolated from superficial versus systemic candidiasis. *Egypt J Med Microbiol.* 2016;38(87):1-10.
21. Cafarchia C, Iatta R, Danesi P, Camarda A, Capelli G, Otranto D. Yeasts isolated from cloacal swabs, feces, and eggs of laying hens. *Med Mycol.* 2018;57(3):340-345.
22. Gardini F, Tofalo R, Belletti N, Iucci L, Suzzi G, Torriani S, Guerzoni ME, Lanciotti R. Characterization of yeasts involved in the ripening of Pecorino Crotonese cheese. *Food Microbiol.* 2006;23:641-648.
23. Borman AM, Muller J, Walsh-Quantick J, Szekely A, Patterson Z, Palmer MD, et al. MIC distributions for amphotericin B, fluconazole, itraconazole, voriconazole, flucytosine and anidulafungin and 35 uncommon pathogenic yeast species from the UK determined using the CLSI broth microdilution method. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(5):1194–205.
24. White TJ, Bruns T, Lee SJW, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications.* 1990;18(1):315-322.
25. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.* 1990;215:403-410.
26. Koichiro Tamura and others, MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11, *Molecular Biology and Evolution*, Volume 38, Issue 7, July 2021, Pages 3022–3027.
27. Zalar P. Diversity of fungi in domestic dishwashers. *Microbiol Ecol.* 2018;76(3):456-464.
28. Gunde-Cimerman N, Zupančič J, Zalar P, de Hoog GS. Ecology of fungi in dishwashers. *Appl Environ Microbiol.* 2018;84(3)

29. Bockmühl DP, Schages J, Rehberg L. Dishwashers—a potential source for microbial contamination of domestic kitchen environments? *Front Microbiol.* 2020;11:349.
30. Luo G, Samaranayake LP, Yau JY. *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. *J Clin Microbiol.* 2019;57(9)
31. Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2003;67(3):400-428.
32. Ghannoum MA. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13(1):122-143.
33. Sampathkumar P, Menon RK, Krishnan V, Murugesan A. Hepatic damage caused by *Candida albicans* in mice model. *J Fungi.* 2020;6(3):225.
34. Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(16):6241-6246.
35. Borman AM, Linton CJ, Miles SJ, Johnson EM. Molecular identification of pathogenic fungi. *J Clin Pathol.* 2008;61(2):236-240. doi:10.1136/jcp.2007.048983.
36. Lortholary O, Renaudat C, Sitbon K, Desnos-Ollivier M, Bretagne S, Dromer F y el Grupo de Estudio de las Micosis Francesas. El riesgo y el desenlace clínico de la candidemia dependen de la neoplasia maligna subyacente. *Medicina de Cuidados Intensivos* 2017; 43(5):652–62.
37. Saubin M, Devillers H, Proust L, Brier C, Grondin C, Pradal M, et al. Investigation of Genetic Relationships Between *Hanseniaspora* Species Found in Grape Musts Revealed Interspecific Hybrids With Dynamic Genome Structures. *Front Microbiol.* 2019;10:2960.
38. Scorzetti G, Fell JW, Fonseca A, Statzell-Tallman A. Yeast diversity in extreme environments. *FEMS Yeast Res.* 2000;1(3):177-184. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1340354010701455>

39. Fell JW, Boekhout T, Fonseca A. Molecular identification of basidiomycetous yeasts. *FEMS Yeast Res.* 2001;1(3):277-286. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567135601000411>
40. Liu Y, Zhang Z, Wang W. Host invasion of *Metarhizium anisopliae*: A morphological and ultrastructural study. *Fungal Biol.* 2020;124(4):337-347.
41. Barnett HL, Hunter BB. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 4th ed. New York: Macmillan; 1998.
42. White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J., *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*, en *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, página 318, 1990.
43. Schoch, C. L., et al., "Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, página 6243, 2012.

ANEXO

ANEXOS

Anexo 1. Autorización para subir al repositorio digital. (Anexo A)

Anexo 2. Documento antiplagio. (Otorgado por secretaría)

ANEXO 3. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DEL AISLAMIENTO PRIMARIO

Aislado	Fenotipo colonias									Crecimiento	Células	Otro
	Forma	Color	Brillo	Textura	Borde	Tamaño	Elevación	Transparencia				
S1-1	C	B	S	L	E	P	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación Redondas	
S1-2	C	B	S	L	E	P	C	O	37°C	Levaduras	Pseufohifas	
S1-3	C	C	S	L	R	P	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación Redondas	
S1-4	R	B	S	L	E	p	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S2-1	C	N	S	L	E	P	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides	
S2-2	-	-	-	-	-	-	-	-	37°C	Bacterias	-	
S2-3	-	-	-	-	-	-	-	-	37°C	Bacterias	-	
S2-4	R	B	S	L	R	p	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación Redondas	
S2-5	R	C	S	L	R	P	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación Redondas	
S2-6	C	B	S	L	R	P	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S3-1	C	N	S	L	E	p	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S3-2	C	B	S	L	E	P	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S3-3	C	B	B	L	E	P	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S3-4	C	C	S	L	R	P	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación Redondas	
S3-5	C	C	S	L	R	M	U	O	37°C	Levaduras	Pseufohifas	
S3-6	C	C	S	L	E	P	U	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación Redondas	
S3-7	R	C	S	L	E	M	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación Redondas	
S4-1	C	N	S	L	E	M	U	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S4-2	-	-	-	-	-	-	-	-	37°C	Bacterias	-	
S4-3	C	C	S	L	E	P	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación Redondas	
S4-4	R	C	B	L	E	M	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S4-5	C	C	S	L	E	p	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S5-B	C	C	S	L	E	M	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S5-1	R	C	B	L	E	p	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S5-2	-	-	-	-	-	-	-	-	37°C	-	Ovoides/Gemación	
S5-3	C	N	S	L	E	P	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S5-4	R	N	S	L	E	P	U	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S5-5	-	-	-	-	-	-	-	-	37°C	Bacterias	-	
S6-1	R	N	S	L	E	M	U	O	37°C	Levaduras	Pseufohifas	
S6-2	-	-	-	-	-	-	-	-	37°C	Bacterias	-	
S6-3	R	N	S	L	R	P	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S6-4	-	-	-	-	-	-	-	-	37°C	Bacterias	-	
S6-5	R	N	S	L	E	P	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S6-6	C	N	S	L	E	P	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S6-7	C	N	S	L	E	p	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S6-8	-	-	-	-	-	-	-	-	37°C	Bacterias	-	
S7-1	R	N	S	R	R	M	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S7-2	C	N	B	L	E	P	P	O	37°C	Levaduras	Pseufohifas	
S7-6	C	N	B	L	E	G	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación	
S7-A	-	-	-	-	-	-	-	-	37°C	Bacterias	-	
S7-B	C	N	S	L	E	P	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación Redondas	

S8-1	C	N	S	L	E	M	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación
S8-2	C	B	S	L	R	P	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación
S8-3	R	B	S	L	E	p	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación
S8-4	I	N	B	R	E	M	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación
S8-5	I	C	S	L	R	P	E	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación
S8-6	R	B	S	L	E	M	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación
S9-1	-	-	-	-	-	-	-	-	37°C	Bacterias	-
S9-2	-	-	-	-	-	-	-	-	37°C	Bacterias	-
S9-3	-	-	-	-	-	-	-	-	37°C	Bacterias	-
S9-4	-	-	-	-	-	-	-	-	37°C	Bacterias	-
S10	C	Verde	B	L	E	p	P	O	37°C	Levaduras	Redondas
S10-A	I	B	S	L	E	M	C	O	37°C	Levaduras	Ovoides/Gemación

Forma: C = circular; R = rizoide; F = filamentosa; I = irregular

Color: A = amarillo; C = crema; R = rojo; N = naranja; B = blanco

Textura: L = lisa; R = rugosa

Tamaño: G = grande; M = mediano; P = pequeño; p = puntiforme

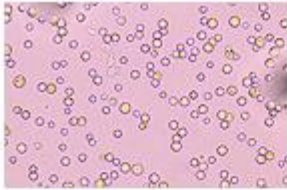
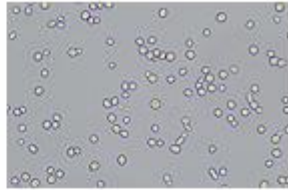
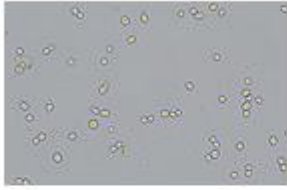
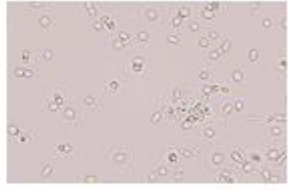
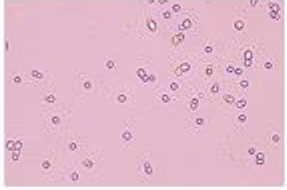
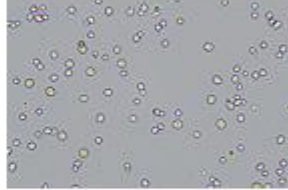
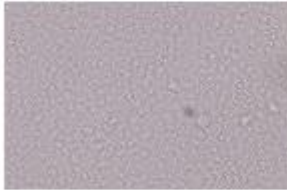

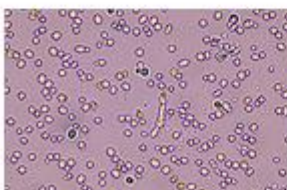
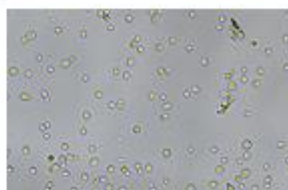
Transparencia: O = opaca; T = transparente

Brillo: B = brillante; S = sin brillo

Borde: E = entero; R = rizoide; F = filamentoso; O = ondulado; L = lobulado; r = rizado

Elevación: C = convexa; P = plana; E = elevada; U = umbilicada

ANEXO 4. Características microscópicas de las colonias aisladas

S10		S4-5	
S8-5		S8-2	
S3-4		S4-3	
S1-1		S7-2	
S1-3		S3-4	

ANEXO 5. Resultados de análisis de secuencias por BlastN

S2-1 (A)

Job Title:Cepa S2-1 (A) Oriente Nicolas - Julio
 Program: BLASTN
 Database: nt Nucleotide collection (nt)
 Query #1: Cepa J Oriente Nicolas - Julio Query ID: lcl|Query_780399 Length: 400

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Candida parapsilosis isolate C36 small subunit ribosomal RNA...	Candida para...	NA	5480	540	540	74%	1e-148	99.33	513	OQ184042.1
Candida parapsilosis strain I6 internal transcribed spacer 1,...	Candida para...	NA	5480	540	540	74%	1e-148	99.33	506	OM959604.1
Candida parapsilosis isolate 4Y137 internal transcribed spacer...	Candida para...	NA	5480	538	538	74%	5e-148	99.33	496	MT153735.1
Candida albicans strain 0552 internal transcribed spacer 1,...	Candida albi...	NA	5476	538	538	74%	5e-148	99.33	526	PP851260.1
Candida parapsilosis strain 4_0430 18S ribosomal RNA gene,...	Candida para...	NA	5480	538	538	74%	5e-148	99.33	498	KT067766.1
Candida parapsilosis isolate sample_28_ITS internal transcribe...	Candida para...	NA	5480	538	538	74%	5e-148	99.33	482	OP618193.1
Candida parapsilosis isolate sample_24_ITS internal transcribe...	Candida para...	NA	5480	538	538	74%	5e-148	99.33	488	OP618189.1
Candida parapsilosis isolate sample_23_ITS internal transcribe...	Candida para...	NA	5480	538	538	74%	5e-148	99.33	483	OP618188.1
Candida parapsilosis isolate sample_22_ITS internal transcribe...	Candida para...	NA	5480	538	538	74%	5e-148	99.33	483	OP618187.1
Candida parapsilosis isolate sample_9_ITS internal transcribed...	Candida para...	NA	5480	538	538	74%	5e-148	99.33	482	OP618179.1
Candida parapsilosis isolate 4Y139 internal transcribed spacer...	Candida para...	NA	5480	536	536	74%	2e-147	99.33	480	MT153858.1
Candida albicans strain 0102 small subunit ribosomal RNA gene,...	Candida albi...	NA	5476	536	536	74%	2e-147	99.33	525	PP851181.1
Candida parapsilosis strain n26b internal transcribed spacer 1,...	Candida para...	NA	5480	536	536	74%	2e-147	99.33	494	KP675635.1
Candida parapsilosis strain n6a internal transcribed spacer 1,...	Candida para...	NA	5480	536	536	74%	2e-147	99.33	493	KP675616.1
Candida sp. (in: Saccharomycetales) clone 177.2 internal...	[Candida] sp...	NA	1853550	536	536	74%	2e-147	99.33	470	ON907710.1
Candida parapsilosis strain I5 internal transcribed spacer 1,...	Candida para...	NA	5480	536	536	74%	2e-147	99.33	507	OM959551.1
Candida parapsilosis strain FA20191-1 internal transcribed...	Candida para...	NA	5480	536	536	74%	2e-147	99.33	482	MW709971.1
Candida parapsilosis isolate 11XS-2 internal transcribed space...	Candida para...	NA	5480	534	534	74%	7e-147	98.99	499	OR507588.1
Candida parapsilosis isolate cn39 internal transcribed spacer ...	Candida para...	NA	5480	534	534	74%	7e-147	98.99	488	OM681576.1
Candida parapsilosis isolate C13 ITI small subunit ribosomal R...	Candida para...	NA	5480	534	534	74%	7e-147	99.00	536	MT875249.1
Candida parapsilosis isolate ZA018 18S ribosomal RNA gene,...	Candida para...	NA	5480	534	534	74%	7e-147	99.00	530	GQ280289.1
Candida parapsilosis strain HK31c 18S ribosomal RNA gene,...	Candida para...	NA	5480	534	534	73%	7e-147	99.66	548	EF187252.1
Candida parapsilosis isolate MG2_17 small subunit ribosomal RN...	Candida para...	NA	5480	532	532	74%	2e-146	99.00	548	MH707032.1
Candida parapsilosis IFM 56865 genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S...	Candida para...	NA	5480	532	532	74%	2e-146	99.00	548	LC390104.1
Candida parapsilosis isolate CP42 internal transcribed spacer ...	Candida para...	NA	5480	532	532	74%	2e-146	98.99	500	MF462176.1
Candida parapsilosis isolate 79 18S ribosomal RNA gene, partia...	Candida para...	NA	5480	532	532	74%	2e-146	99.00	571	KX652404.1
Candida parapsilosis strain AUMC 10714 18S ribosomal RNA gene,...	Candida para...	NA	5480	532	532	74%	2e-146	99.00	527	KX376268.1
Candida parapsilosis strain AUMC 10220 18S ribosomal RNA gene,...	Candida para...	NA	5480	532	532	74%	2e-146	99.00	526	KU255846.1
Candida parapsilosis strain AUMC 9171 18S ribosomal RNA gene,...	Candida para...	NA	5480	532	532	74%	2e-146	99.00	528	KU200441.1
Candida parapsilosis isolate sample_38_ITS internal transcribe...	Candida para...	NA	5480	532	532	74%	2e-146	99.00	497	OP618200.1
Candida parapsilosis isolate sample 32 ITS internal transcribe...	Candida para...	NA	5480	532	532	74%	2e-146	99.00	482	OP618196.1

S3-1 (B)

Job Title:Cepa S3-1 (B) Oriente Nicolas - Julio
 Program: BLASTN
 Database: nt Nucleotide collection (nt)
 Query #1: Cepa S3-1 (B) Oriente Nicolas - Julio Query ID: lcl|Query_4609843 Length: 200

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Candida intermedia isolate B-NC-12-F29 internal transcribed...	[Candida] in...	NA	45354	305	305	82%	3e-78	100.00	362	KF728822.1
[Candida] intermedia strain 2MG-A0603-25 small subunit ribosom...	[Candida] in...	NA	45354	302	302	83%	3e-77	99.40	401	MT974634.1
[Candida] intermedia isolate 1Y39 internal transcribed spacer ...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	656	MT141129.1
[Candida] intermedia isolate 1Y73 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	484	MT141127.1
[Candida] intermedia isolate 1Y78 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	501	MT141126.1
[Candida] intermedia isolate 1Y1 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	438	MT141125.1
[Candida] intermedia isolate 1Y84 internal transcribed spacer ...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	566	MT141123.1
[Candida] intermedia isolate 1Y37 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	576	MT135942.1
[Candida] intermedia strain JYC496 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	681	MN244488.1
[Candida] intermedia strain AUMC 10767 small subunit ribosomal...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	396	KY495735.1
[Candida] intermedia strain Cepa_L 18S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	928	KX981200.1
[Candida] intermedia strain Cepa_K 18S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	922	KX981199.1
[Candida] intermedia strain Cepa_J 18S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	926	KX981198.1
[Candida] intermedia strain Cepa_H 18S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	908	KX981197.1
[Candida] intermedia strain Cepa_F 18S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	843	KX981196.1
[Candida] intermedia strain Cepa_B 18S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	935	KX981194.1
[Candida] intermedia strain PYCC 4715 genome assembly,...	[Candida] in...	NA	45354	300	600	83%	1e-76	99.40	1835850	LT635767.1
[Candida] intermedia strain PYCC 4715 genome assembly,...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	3422859	LT635764.1
[Candida] intermedia culture CBS:7153 large subunit ribosomal...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	995	KY106521.1
[Candida] intermedia culture CBS:5159 large subunit ribosomal...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	842	KY106519.1
[Candida] intermedia culture CBS:2049 small subunit ribosomal...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	929	KY102159.1
[Candida] intermedia culture CBS:7153 small subunit ribosomal...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	972	KY102152.1
[Candida] intermedia isolate S69 internal transcribed spacer 1...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	348	OR544632.1
[Candida] intermedia isolate S66 internal transcribed spacer 1...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	328	OR544630.1
Candida sp. (in: Saccharomycetales) strain F934 internal...	[Candida] sp...	NA	1853550	300	300	83%	1e-76	99.40	343	OP485668.1
Candida sp. (in: Saccharomycetales) strain F843 internal...	[Candida] sp...	NA	1853550	300	300	83%	1e-76	99.40	364	OP485667.1
[Candida] intermedia isolate 9ZZ-2 internal transcribed spacer...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	394	OR507582.1
[Candida] intermedia isolate ORQ001 internal transcribed space...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	349	OP392530.1
Candida intermedia strain WM 03.499 isolate ISHAM-ITS_ID MITS7...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	82%	1e-76	99.39	402	KP131723.1
Candida intermedia strain PMM09-1546-BL isolate ISHAM-ITS_ID...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	577	KP131722.1
[Candida] intermedia genomic DNA sequence contains 18S rRNA...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	83%	1e-76	99.40	682	OW987801.1

S3-3 (C)

Job Title:Cepa S3-3 (C) Oriente Nicolas - Julio
 Program: BLASTN
 Database: nt Nucleotide collection (nt)
 Query #1: Cepa S3-3 (C) Oriente Nicolas - Julio Query ID: lcl|Query_4924647 Length: 500

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Yamadazyma takamatsuzukensis CBS 10916 ITS region; from TYPE...	Yamadazyma t...	NA	480065	776	776	84%	0.0	99.76	686	NR_144770.1
Yamadazyma takamatsuzukensis culture CBS:10916 small subunit...	Yamadazyma t...	NA	480065	776	776	84%	0.0	99.76	891	KY105955.1
Yamadazyma takamatsuzukensis genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S...	Yamadazyma t...	NA	480065	776	776	84%	0.0	99.76	1180	AB365470.1
Candida sp. SG6L02 18S ribosomal RNA gene, partial sequence;...	[Candida] sp...	NA	511688	662	662	83%	0.0	95.45	579	FJ153162.1
[Candida] conglobata isolate Kw1790/16 small subunit ribosomal...	[Candida] co...	NA	45541	658	658	84%	0.0	94.82	639	KX809938.1
Candida temnochilae strain NRRL Y-27763 18S ribosomal RNA gene...	[Candida] te...	NA	234530	658	658	83%	0.0	95.22	573	FJ153211.1
Yamadazyma sp. DMKU-RG72 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, LSU...	Yamadazyma sp.	NA	2003358	652	652	84%	0.0	94.60	631	LC816131.1
[Candida] germanica CBS 4105 ITS region; from TYPE material	[Candida] ge...	NA	148633	652	652	84%	0.0	94.60	756	NR_103619.1
Candida sp. (in: Saccharomycetales) isolate UFMG-CM-Y6948 smal...	[Candida] sp...	NA	1853550	647	647	83%	1e-180	94.75	734	OM570240.1
[Candida] atlantica strain IST700 internal transcribed spacer ...	[Candida] at...	NA	45521	645	645	84%	4e-180	94.15	612	PP341908.1
[Candida] diddensiae strain CBS 2214 small subunit ribosomal R...	[Candida] di...	NA	45543	643	643	84%	1e-179	94.13	2724	MK394116.1
[Candida] sp. (uncertain placement) AH483 genes for 18S rRNA,...	[Candida] sp...	NA	1853550	643	643	83%	1e-179	94.52	1249	LC815028.1
[Candida] atlantica strain IST714 internal transcribed spacer ...	[Candida] at...	NA	45521	643	643	84%	1e-179	94.13	609	PP341921.1
[Candida] atlantica strain IST712 internal transcribed spacer ...	[Candida] at...	NA	45521	643	643	84%	1e-179	94.13	613	PP341919.1
Yamadazyma sp. isolate 306 internal transcribed spacer 1,...	Yamadazyma sp.	NA	2003358	643	643	84%	1e-179	94.13	919	MW567233.1
[Candida] sp. (uncertain placement) isolate 301 internal...	[Candida] sp...	NA	1853550	643	643	84%	1e-179	94.13	626	MW567230.1
Yamadazyma tenuis strain ATCC 10573 chromosome 3	Yamadazyma t...	NA	2315449	641	2567	84%	5e-179	94.10	1446176	CP117539.1
Candida tenuis genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5.8...	Yamadazyma t...	NA	2315449	641	641	84%	5e-179	94.10	1156	HE612107.1
Candida diddensiae strain UOA/HCPF 10735B isolate ISHAM-ITS_ID...	[Candida] di...	NA	45543	640	640	84%	2e-178	94.10	658	KC253978.1
Pichia sp. SG6L04 18S ribosomal RNA gene, partial sequence;...	Pichia sp. S...	NA	561031	640	640	84%	2e-178	94.12	580	FJ153201.1
Pichia rarasmilans culture CBS:10901 small subunit ribosomal...	Pichia raras...	NA	477177	638	638	83%	6e-178	94.27	1050	KY104644.1
[Candida] temnochilae culture CBS:9938 small subunit ribosomal...	[Candida] te...	NA	234530	638	638	80%	6e-178	95.29	619	KY102432.1
[Candida] nonsorbophila culture CBS:10862 small subunit...	[Candida] no...	NA	456248	638	638	83%	6e-178	94.27	1034	KY102232.1
Ambrosiozyma neoplatypodis culture CBS:10900 small subunit...	Ambrosiozyma...	NA	1382203	638	638	83%	6e-178	94.27	1052	KY101645.1
Ambrosiozyma kamigamensis culture CBS:10899 small subunit...	Ambrosiozyma...	NA	1382202	638	638	83%	6e-178	94.27	1033	KY101638.1
Yamadazyma sp. strain KBP:Y-7259 internal transcribed spacer 1...	Yamadazyma sp.	NA	2003358	638	638	84%	6e-178	93.90	1405	OR400959.1
Candida spenceri strain JY 14 internal transcribed spacer...	[Candida] sp...	NA	1116881	638	638	84%	6e-178	93.90	706	KM014574.1
[Candida] kanchanaburiensis CBS 11266 ITS region; from TYPE...	[Candida] ka...	NA	512061	638	638	84%	6e-178	93.90	736	NR_137581.1
Uncultured fungus clone S11T_69 18S ribosomal RNA gene, partia...	uncultured f...	NA	175245	636	636	84%	2e-177	93.88	598	KU163773.1
[Candida] diddensiae strain HH91 internal transcribed spacer 1...	[Candida] di...	NA	45543	634	634	84%	8e-177	93.87	585	MK156306.1
[Candida] atlantica strain IST711 internal transcribed spacer ...	[Candida] at...	NA	45521	634	634	83%	8e-177	94.06	603	PP341918.1

S4-1 (D)

Job Title:Cepa S4-1 (D) Oriente Nicolas - Julio
 Program: BLASTN
 Database: nt Nucleotide collection (nt)
 Query #1: Cepa S4-1 (D) Oriente Nicolas - Julio Query ID: lcl|Query_3902439 Length: 250

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
[Candida] intermedia isolate S56AF internal transcribed spacer...	[Candida] in...	NA	45354	309	309	70%	3e-79	98.31	363	KY112739.1
[Candida] intermedia strain DL8Y small subunit ribosomal RNA...	[Candida] in...	NA	45354	303	303	65%	1e-77	100.00	399	MT102814.1
[Candida] intermedia isolate VR545 internal transcribed spacer...	[Candida] in...	NA	45354	303	303	70%	1e-77	97.74	372	OM837190.1
[Candida] intermedia isolate VR544 internal transcribed spacer...	[Candida] in...	NA	45354	303	303	70%	1e-77	97.74	375	OM837189.1
[Candida] pseudointermedia strain 191030-024_M01_Lev8_ITS1.ab1...	[Candida] ps...	NA	46585	303	303	70%	1e-77	97.74	392	OP603448.1
[Candida] intermedia isolate Lev9 internal transcribed spacer ...	[Candida] in...	NA	45354	303	303	70%	1e-77	97.74	378	MZ768867.1
[Candida] intermedia strain 2MG-A0603-31 small subunit ribosom...	[Candida] in...	NA	45354	300	300	70%	2e-76	97.19	400	MT974642.1
[Candida] intermedia isolate 76 internal transcribed spacer 1,...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	64%	6e-76	100.00	343	MT448644.1
[Candida] intermedia strain TTG-180 internal transcribed space...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	64%	6e-76	100.00	366	MT321171.1
[Candida] intermedia isolate 4Y142 internal transcribed spacer...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	65%	6e-76	99.39	356	MT138731.1
[Candida] intermedia isolate 3Y246 internal transcribed spacer...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	64%	6e-76	100.00	358	MT138716.1
[Candida] intermedia strain JYC551 internal transcribed spacer...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	64%	6e-76	100.00	666	MN244393.1
[Candida] pseudointermedia strain CBS 6918 small subunit...	[Candida] ps...	NA	46585	298	298	64%	6e-76	100.00	2449	MK394147.1
Ascomycota sp. isolate E22271_ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	298	298	64%	6e-76	100.00	413	MK267731.1
[Candida] intermedia strain DMic 052571 small subunit ribosoma...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	64%	6e-76	100.00	391	MG009537.1
[Candida] pseudointermedia CBS 6918 ITS region; from TYPE...	[Candida] ps...	NA	46585	298	298	64%	6e-76	100.00	544	NR_155007.1
Uncultured fungus clone OTU#9605-01_1_060-2222_2544 5.8S...	uncultured f...	NA	175245	298	298	64%	6e-76	100.00	251	GU315783.1
[Candida] intermedia strain CBS 141442 genome assembly,...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	65%	6e-76	99.39	1965937	LT635760.1
[Candida] intermedia strain CBS 141442 genome assembly,...	[Candida] in...	NA	45354	298	1468	65%	6e-76	100.00	2919042	LT635756.1
[Candida] pseudointermedia culture CBS:6918 small subunit...	[Candida] ps...	NA	46585	298	298	64%	6e-76	100.00	634	KY102344.1
[Candida] intermedia culture CBS:5311 small subunit ribosomal...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	64%	6e-76	100.00	411	KY102156.1
[Candida] sp. (uncertain placement) isolate UFMG-CM-Y7161 smal...	[Candida] sp...	NA	1853550	298	298	64%	6e-76	100.00	400	OR228684.1
[Candida] intermedia strain CFP00982 small subunit ribosomal R...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	64%	6e-76	100.00	392	OM287577.1
[Candida] intermedia isolate L1 internal transcribed spacer 1,...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	64%	6e-76	100.00	483	OP454868.1
Candida intermedia strain WM 03.499 isolate ISHAM-ITS_ID MITS7...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	64%	6e-76	100.00	402	KP131723.1
Candida sp. (in: Saccharomycetales) isolate IBUN-03526 interna...	[Candida] sp...	NA	1853550	298	298	64%	6e-76	100.00	868	ON908680.1
Colletotrichum sp. isolate PT1785 internal transcribed spacer ...	Colletotrich...	NA	34409	298	298	64%	6e-76	100.00	836	ON155350.1
Candida intermedia isolate B-NC-12-OZ09 internal transcribed...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	64%	6e-76	100.00	358	KF728792.1
[Candida] pseudointermedia strain 2MG-A0603-51 small subunit...	[Candida] ps...	NA	46585	298	298	64%	6e-76	100.00	396	MT974667.1
[Candida] intermedia strain 2MG-A0603-47 small subunit ribosom...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	64%	6e-76	100.00	405	MT974659.1
[Candida] intermedia strain 2MG-A0603-45 small subunit ribosom...	[Candida] in...	NA	45354	298	298	64%	6e-76	100.00	402	MT974656.1

S7-1 (F)

Job Title:Cepa S7.1 (F) Oriente Nicolas - Julio
 Program: BLASTN
 Database: nt Nucleotide collection (nt)
 Query #1: Cepa S7.1 (F) Oriente Nicolas - Julio Query ID: lc1|Query_7689699 Length: 263

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
[Candida] intermedia isolate S56AF internal transcribed spacer...	[Candida] in...	NA	45354	196	196	66%	2e-45	88.64	363	KY112739.1
[Candida] intermedia strain CCDBC 622 small subunit ribosomal...	[Candida] in...	NA	45354	196	196	65%	2e-45	89.02	387	OL687496.1
[Candida] intermedia isolate 3Y330 internal transcribed spacer...	[Candida] in...	NA	45354	195	195	65%	8e-45	88.95	352	MT138726.1
[Candida] intermedia strain DL6Y small subunit ribosomal RNA...	[Candida] in...	NA	45354	195	195	65%	8e-45	88.95	418	MT102813.1
[Candida] intermedia strain LR27 internal transcribed spacer 1...	[Candida] in...	NA	45354	195	195	65%	8e-45	88.95	314	KY911171.1
Candida intermedia internal transcribed spacer 1, partial...	[Candida] in...	NA	45354	195	195	65%	8e-45	88.95	348	DQ646683.1
[Candida] intermedia isolate 3Y326 internal transcribed spacer...	[Candida] in...	NA	45354	193	193	65%	3e-44	88.89	355	MT138722.1
[Candida] intermedia isolate 89 internal transcribed spacer 1,...	[Candida] in...	NA	45354	191	191	65%	1e-43	88.44	340	MT448657.1
[Candida] intermedia isolate 85 small subunit ribosomal RNA...	[Candida] in...	NA	45354	191	191	65%	1e-43	88.44	394	MT448653.1
[Candida] intermedia isolate 79 small subunit ribosomal RNA...	[Candida] in...	NA	45354	191	191	65%	1e-43	88.44	390	MT448647.1
[Candida] intermedia isolate 2 internal transcribed spacer 1,...	[Candida] in...	NA	45354	191	191	65%	1e-43	88.44	379	MT443893.1
[Candida] intermedia isolate 1Y39 internal transcribed spacer ...	[Candida] in...	NA	45354	191	191	65%	1e-43	88.44	656	MT141129.1
[Candida] intermedia isolate 1Y73 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	191	191	65%	1e-43	88.44	484	MT141127.1
[Candida] intermedia isolate 1Y78 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	191	191	65%	1e-43	88.44	501	MT141126.1
[Candida] intermedia isolate 1Y1 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	191	191	65%	1e-43	88.44	438	MT141125.1
[Candida] intermedia isolate 1Y84 internal transcribed spacer ...	[Candida] in...	NA	45354	191	191	65%	1e-43	88.44	566	MT141123.1
[Candida] intermedia isolate 4Y142 internal transcribed spacer...	[Candida] in...	NA	45354	191	191	65%	1e-43	88.44	356	MT138731.1
[Candida] intermedia isolate 1Y37 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	191	191	65%	1e-43	88.44	576	MT135942.1
Uncultured Saccharomycetales genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S...	uncultured S...	NA	362224	191	191	65%	1e-43	88.44	400	LC440279.1
[Candida] intermedia strain JYC496 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	191	191	65%	1e-43	88.44	681	MN244488.1
Ascomycota sp. isolate R97309 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	191	191	65%	1e-43	88.44	413	MK268153.1
Ascomycota sp. isolate R96661 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	191	191	65%	1e-43	88.44	413	MK267910.1
Ascomycota sp. isolate R96656 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	191	191	65%	1e-43	88.44	413	MK267905.1
Ascomycota sp. isolate E25984 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	191	191	65%	1e-43	88.44	413	MK267788.1
Ascomycota sp. isolate E25983 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	191	191	65%	1e-43	88.44	413	MK267787.1
Ascomycota sp. isolate E25982 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	191	191	65%	1e-43	88.44	413	MK267786.1
Ascomycota sp. isolate E25977 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	191	191	65%	1e-43	88.44	413	MK267781.1
Ascomycota sp. isolate E25975 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	191	191	65%	1e-43	88.44	413	MK267780.1
Ascomycota sp. isolate E25974 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	191	191	65%	1e-43	88.44	413	MK267779.1
Ascomycota sp. isolate E25973 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	191	191	65%	1e-43	88.44	413	MK267778.1
Ascomycota sp. isolate E22312 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	191	191	65%	1e-43	88.44	413	MK267752.1

S7-2 (G)

Job Title:Cepa S7-2 (G) Nicolas y Julio
 Program: BLASTN
 Database: nt Nucleotide collection (nt)
 Query #1: Cepa S7-2 (G) Nicolas y Julio Query ID: lcl|Query_8374143 Length: 600

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Hanseniaspora pseudoguilliermondii strain YNX-22 internal...	Hanseniaspor...	NA	332229	976	976	88%	0.0	100.00	724	MW990151.1
Hanseniaspora opuntiae isolate B-NC-12-F6 internal transcribed...	Hanseniaspor...	NA	211096	974	974	87%	0.0	100.00	724	KF728809.1
Hanseniaspora opuntiae strain BZL-89 internal transcribed spac...	Hanseniaspor...	NA	211096	970	970	88%	0.0	99.81	723	MN371906.1
Hanseniaspora opuntiae strain SM10UFAM small subunit ribosomal...	Hanseniaspor...	NA	211096	970	970	88%	0.0	99.81	3092	MN268780.1
Hanseniaspora opuntiae isolate S58 internal transcribed spacer...	Hanseniaspor...	NA	211096	970	970	88%	0.0	99.81	689	OR544628.1
Hanseniaspora opuntiae isolate S57 internal transcribed spacer...	Hanseniaspor...	NA	211096	970	970	88%	0.0	99.81	690	OR544627.1
Hanseniaspora opuntiae strain UniFGH03 18S ribosomal RNA gene,...	Hanseniaspor...	NA	211096	970	970	88%	0.0	99.81	769	KT029780.1
Hanseniaspora opuntiae strain H034 18S ribosomal RNA gene,...	Hanseniaspor...	NA	211096	970	970	88%	0.0	99.81	784	KP241869.1
Hanseniaspora opuntiae strain 39F2B internal transcribed space...	Hanseniaspor...	NA	211096	970	970	88%	0.0	99.81	722	KC905054.1
Hanseniaspora opuntiae strain JEY269 18S ribosomal RNA gene,...	Hanseniaspor...	NA	211096	970	970	88%	0.0	99.81	1964	KC111446.1
Hanseniaspora opuntiae strain JEY258 18S ribosomal RNA gene,...	Hanseniaspor...	NA	211096	970	970	88%	0.0	99.81	1964	KC111445.1
Hanseniaspora opuntiae isolate S56 internal transcribed spacer...	Hanseniaspor...	NA	211096	968	968	87%	0.0	99.81	705	OR544626.1
Hanseniaspora opuntiae isolate S54 internal transcribed spacer...	Hanseniaspor...	NA	211096	968	968	87%	0.0	99.81	693	OR544625.1
Hanseniaspora opuntiae isolate S53 internal transcribed spacer...	Hanseniaspor...	NA	211096	968	968	87%	0.0	99.81	689	OR544624.1
Hanseniaspora opuntiae isolate S49 internal transcribed spacer...	Hanseniaspor...	NA	211096	968	968	87%	0.0	99.81	689	OR544622.1
Hanseniaspora uvarum isolate 50 internal transcribed spacer 1,...	Hanseniaspor...	NA	29833	968	968	87%	0.0	99.81	725	OQ357466.1
Hanseniaspora pseudoguilliermondii strain YNX-20 internal...	Hanseniaspor...	NA	332229	968	968	88%	0.0	99.81	723	MW990145.1
Hanseniaspora opuntiae isolate B-WHX-12-39 internal transcribe...	Hanseniaspor...	NA	211096	968	968	87%	0.0	99.81	726	KC544485.1
Hanseniaspora opuntiae 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRN...	Hanseniaspor...	NA	211096	968	968	88%	0.0	99.81	749	FM199951.1
Hanseniaspora opuntiae isolate KOT1 18S ribosomal RNA gene,...	Hanseniaspor...	NA	211096	966	966	88%	0.0	99.62	1304	KY849378.1
Hanseniaspora opuntiae isolate S50 internal transcribed spacer...	Hanseniaspor...	NA	211096	966	966	87%	0.0	99.81	686	OR544623.1
Hanseniaspora opuntiae isolate S48 internal transcribed spacer...	Hanseniaspor...	NA	211096	966	966	87%	0.0	99.81	706	OR544621.1
Hanseniaspora opuntiae isolate S47 internal transcribed spacer...	Hanseniaspor...	NA	211096	966	966	87%	0.0	99.81	687	OR544620.1
Hanseniaspora opuntiae strain AUMC 10221 18S ribosomal RNA gen...	Hanseniaspor...	NA	211096	966	966	87%	0.0	99.81	751	KX015895.1
Hanseniaspora pseudoguilliermondii isolate 47 internal...	Hanseniaspor...	NA	332229	966	966	87%	0.0	99.81	714	OQ357464.1
Hanseniaspora opuntiae strain H013 18S ribosomal RNA gene,...	Hanseniaspor...	NA	211096	966	966	87%	0.0	99.81	749	KP241868.1
Hanseniaspora opuntiae 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRN...	Hanseniaspor...	NA	211096	966	966	87%	0.0	99.81	748	FM199954.1
Hanseniaspora opuntiae ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 26S rRNA...	Hanseniaspor...	NA	211096	966	966	87%	0.0	99.81	563	FM199953.1
Hanseniaspora pseudoguilliermondii strain YNX-23 internal...	Hanseniaspor...	NA	332229	965	965	88%	0.0	99.62	722	MW990144.1
Hanseniaspora pseudoguilliermondii strain YNX-19 internal...	Hanseniaspor...	NA	332229	965	965	88%	0.0	99.62	725	MW990142.1
Hanseniaspora pseudoguilliermondii strain PNX-8 internal...	Hanseniaspor...	NA	332229	965	965	88%	0.0	99.62	726	MW990140.1

S7-6 (H)

Job Title:Cepa S7-6 (H) Oriente Nicolas - Julio
 Program: BLASTN
 Database: nt Nucleotide collection (nt)
 Query #1: Cepa S7-6 (H) Oriente Nicolas - Julio Query ID: lcl|Query_3717095 Length: 350

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Rhodotorula mucilaginosa isolate I59 internal transcribed spac...	Rhodotorula ... NA		5537	525	525	85%	4e-144	98.33	599	ON142364.1
Rhodotorula mucilaginosa AAN6 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2,...	Rhodotorula ... NA		5537	514	514	83%	8e-141	98.30	593	LC473094.1
Rhodotorula mucilaginosa genomic DNA sequence contains ITS1,...	Rhodotorula ... NA		5537	514	514	84%	8e-141	98.31	1171	LT548977.1
Rhodotorula mucilaginosa strain IST726 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	514	514	84%	8e-141	97.99	594	PP470799.1
Rhodotorula mucilaginosa strain WC53-2 18S ribosomal RNA gene,...	Rhodotorula ... NA		5537	514	514	81%	8e-141	98.96	647	EF190221.1
Rhodotorula sp. isolate MF1/SRLAAH/2018 internal transcribed...	Rhodotorula sp. NA		1853554	512	512	81%	3e-140	98.95	479	MH780758.1
Rhodotorula sp. isolate LBMH1012 5.8S ribosomal RNA gene,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	510	510	81%	1e-139	98.95	371	MT268973.1
Rhodotorula mucilaginosa genomic DNA sequence contains ITS1,...	Rhodotorula ... NA		5537	510	510	84%	1e-139	97.97	975	LT548979.1
Rhodotorula mucilaginosa strain IST703 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	510	510	84%	1e-139	97.66	587	PP341911.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate JH-R23 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	510	510	81%	1e-139	98.95	617	OR976269.1
Rhodotorula mucilaginosa strain YY39 internal transcribed spac...	Rhodotorula ... NA		5537	510	510	82%	1e-139	98.62	579	KR912272.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate X5-3 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	510	510	84%	1e-139	97.66	586	KT876501.1
Uncultured yeast isolate DGGE gel band kazem2 internal...	uncultured y... NA		447265	508	508	80%	4e-139	99.29	593	MH917126.1
Rhodotorula mucilaginosa YE-171 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS...	Rhodotorula ... NA		5537	508	508	80%	4e-139	99.29	602	LC486532.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate ASU 11 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	508	508	80%	4e-139	99.29	618	MK095614.1
Rhodotorula sp. isolate Z-Y-6 internal transcribed spacer 1,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	508	508	80%	4e-139	99.29	581	MK367487.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate 2-ITS1 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	508	508	82%	4e-139	98.29	598	MG020687.1
Rhodotorula mucilaginosa genomic DNA sequence contains ITS1,...	Rhodotorula ... NA		5537	508	508	80%	4e-139	99.29	1124	LT548978.1
Rhodotorula sp. EY12114 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S...	Rhodotorula ... NA		1976994	508	508	85%	4e-139	97.33	726	LC229714.1
Rhodotorula mucilaginosa strain IST690 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	508	508	84%	4e-139	97.66	592	PP341901.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate GDMCC 2.30 small subunit...	Rhodotorula ... NA		5537	508	508	80%	4e-139	99.29	630	OR976268.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate Rmu2015 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	508	508	80%	4e-139	99.29	613	OP526941.1
Rhodotorula sp. strain sF10 internal transcribed spacer 1,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	508	508	84%	4e-139	97.65	596	OP060799.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate F-290 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	508	508	80%	4e-139	99.29	589	OM648194.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate F-213 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	508	508	83%	4e-139	98.29	588	OM647876.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate CDB 5-2C small subunit...	Rhodotorula ... NA		5537	508	508	79%	4e-139	99.64	609	OM181944.1
Rhodotorula mucilaginosa strain XZY21-1 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	508	508	80%	4e-139	99.29	561	MW710378.1
Rhodotorula mucilaginosa strain XZ6-1 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	508	508	80%	4e-139	99.29	577	MN710184.1
Rhodotorula mucilaginosa strain JYC2617 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	507	507	84%	1e-138	97.33	600	MN648703.1
Rhodotorula sp. strain SM03UFAM small subunit ribosomal RNA...	Rhodotorula sp. NA		1853554	507	507	84%	1e-138	97.33	2437	MN268779.1
Rhodotorula mucilaginosa strain JYC529 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	507	507	84%	1e-138	97.33	647	MN244371.1

S7-B (I)

Job Title:Cepa S7-B (I) Oriente Nicolas - Julio
 Program: BLASTN
 Database: nt Nucleotide collection (nt)
 Query #1: Cepa S7-B (I) Oriente Nicolas - Julio Query ID: lcl|Query_7995143 Length: 500

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Rhodotorula mucilaginosa isolate AM25 18S ribosomal RNA gene...	Rhodotorula ... NA		5537	734	734	80%	0.0	99.75	638	KM246181.1
Rhodotorula sp. EY12114 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S...	Rhodotorula ... NA		1976994	732	732	81%	0.0	99.02	725	LC229718.1
Rhodotorula sp. EY12114 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S...	Rhodotorula ... NA		1976994	728	728	81%	0.0	98.78	726	LC229714.1
Rhodotorula sp. isolate MF1/SRLAAH/2018 internal transcribed...	Rhodotorula sp. NA		1853554	725	725	80%	0.0	99.01	479	MH780758.1
Rhodotorula sp. P38-S2 genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	725	725	82%	0.0	98.54	1076	LC769459.1
Rhodotorula mucilaginosa strain Y-2 small subunit ribosomal RN...	Rhodotorula ... NA		5537	725	725	82%	0.0	98.54	617	OL966430.1
Rhodotorula sp. cultivar fungus5 internal transcribed spacer 1...	Rhodotorula sp. NA		1853554	723	723	78%	0.0	99.75	624	MN176344.1
Rhodotorula sp. strain DN40 internal transcribed spacer 1,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	723	723	81%	0.0	98.77	637	MK226267.1
Rhodotorula sp. strain D20 internal transcribed spacer 1,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	723	723	81%	0.0	98.77	653	MK226222.1
Rhodotorula sp. EY12114 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S...	Rhodotorula ... NA		1976994	723	723	81%	0.0	98.53	723	LC229721.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate H8-4 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	723	723	81%	0.0	98.53	588	KT876599.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate 80 internal transcribed space...	Rhodotorula ... NA		5537	723	723	79%	0.0	99.50	566	KP794192.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate I60 internal transcribed spac...	Rhodotorula ... NA		5537	723	723	80%	0.0	99.25	591	ON242334.1
Rhodotorula sp. isolate CLE154 internal transcribed spacer 1,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	721	721	81%	0.0	98.53	1128	MN543987.1
Rhodotorula mucilaginosa strain RmTun15 MR-2 internal...	Rhodotorula ... NA		5537	721	721	81%	0.0	98.53	944	MN535021.1
Rhodotorula mucilaginosa strain RmTun15 MR-3 internal...	Rhodotorula ... NA		5537	721	721	81%	0.0	98.53	947	MN535020.1
Rhodotorula mucilaginosa strain RmTun15 MR-4 internal...	Rhodotorula ... NA		5537	721	721	81%	0.0	98.53	941	MN526031.1
Rhodotorula mucilaginosa strain RmTun15 MR-3 internal...	Rhodotorula ... NA		5537	721	721	81%	0.0	98.53	920	MN526028.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate MKC22 internal transcribed...	Rhodotorula ... NA		5537	721	721	81%	0.0	98.53	1140	MN427959.1
Rhodotorula sp. strain Y-ER-46 internal transcribed spacer 1,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	721	721	81%	0.0	98.53	1133	MN299246.1
Rhodotorula sp. strain Y-F-24 internal transcribed spacer 1,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	721	721	81%	0.0	98.53	1165	MN299244.1
Rhodotorula sp. strain RY-R-39 small subunit ribosomal RNA gen...	Rhodotorula sp. NA		1853554	721	721	81%	0.0	98.53	1190	MN299243.1
Rhodotorula sp. strain RY-R-37 internal transcribed spacer 1,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	721	721	81%	0.0	98.53	1168	MN299242.1
Rhodotorula sp. strain RY-R-35 small subunit ribosomal RNA gen...	Rhodotorula sp. NA		1853554	721	721	81%	0.0	98.53	1179	MN299241.1
Rhodotorula sp. strain RY-R-34 internal transcribed spacer 1,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	721	721	81%	0.0	98.53	1154	MN299240.1
Rhodotorula sp. strain RY-ER-27 internal transcribed spacer 1,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	721	721	81%	0.0	98.53	1153	MN299239.1
Rhodotorula sp. strain RY-ER-23 internal transcribed spacer 1,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	721	721	81%	0.0	98.53	1147	MN299238.1
Rhodotorula sp. strain RY-M-1 internal transcribed spacer 1,...	Rhodotorula sp. NA		1853554	721	721	81%	0.0	98.53	1165	MN299236.1
Rhodotorula sp. strain RY-M-8 small subunit ribosomal RNA gene...	Rhodotorula sp. NA		1853554	721	721	81%	0.0	98.53	1163	MN299235.1
Rhodotorula sp. strain RY-M-7 small subunit ribosomal RNA gene...	Rhodotorula sp. NA		1853554	721	721	81%	0.0	98.53	1163	MN299234.1
Rhodotorula sp. strain RY-ER-25 small subunit ribosomal RNA...	Rhodotorula sp. NA		1853554	721	721	81%	0.0	98.53	1170	MN299233.1

S8-1 (J)

Job Title:Cepa S8-1 (J) Oriente Nicolas - Julio
 Program: BLASTN
 Database: nt Nucleotide collection (nt)
 Query #1: Cepa S8-1 (J) Oriente Nicolas - Julio Query ID: lcl|Query_3510789 Length: 294

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
[Candida] intermedia isolate S56AF internal transcribed spacer...	[Candida] in...	NA	45354	250	250	52%	2e-61	96.13	363	KY112739.1
[Candida] intermedia isolate 4Y142 internal transcribed spacer...	[Candida] in...	NA	45354	244	244	48%	9e-60	97.90	356	MT138731.1
[Candida] intermedia strain AUMC 11203 small subunit ribosomal...	[Candida] in...	NA	45354	244	244	48%	9e-60	97.90	390	KY495771.1
Candida intermedia isolate C1/23 18S ribosomal RNA gene, parti...	[Candida] in...	NA	45354	244	244	48%	9e-60	97.90	413	KM246246.1
[Candida] intermedia strain FA20191-2 internal transcribed...	[Candida] in...	NA	45354	244	244	48%	9e-60	97.90	345	MW709973.1
Candida intermedia strain YA01a 18S ribosomal RNA gene, partia...	[Candida] in...	NA	45354	244	244	48%	9e-60	97.90	416	DQ680837.1
Candida intermedia isolate F1 internal transcribed spacer 1,...	[Candida] in...	NA	45354	243	243	48%	3e-59	97.89	331	KP238320.1
[Candida] intermedia isolate 89 internal transcribed spacer 1,...	[Candida] in...	NA	45354	241	241	47%	1e-58	97.87	340	MT448657.1
[Candida] intermedia isolate 85 small subunit ribosomal RNA...	[Candida] in...	NA	45354	241	241	47%	1e-58	97.87	394	MT448653.1
[Candida] intermedia isolate 79 small subunit ribosomal RNA...	[Candida] in...	NA	45354	241	241	47%	1e-58	97.87	390	MT448647.1
[Candida] intermedia isolate 2 internal transcribed spacer 1,...	[Candida] in...	NA	45354	241	241	47%	1e-58	97.87	379	MT443893.1
[Candida] intermedia isolate 1Y39 internal transcribed spacer ...	[Candida] in...	NA	45354	241	241	47%	1e-58	97.87	656	MT141129.1
[Candida] intermedia isolate 1Y73 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	241	241	47%	1e-58	97.87	484	MT141127.1
[Candida] intermedia isolate 1Y78 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	241	241	47%	1e-58	97.87	501	MT141126.1
[Candida] intermedia isolate 1Y1 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	241	241	47%	1e-58	97.87	438	MT141125.1
[Candida] intermedia isolate 1Y84 internal transcribed spacer ...	[Candida] in...	NA	45354	241	241	47%	1e-58	97.87	566	MT141123.1
[Candida] intermedia isolate 1Y37 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	241	241	47%	1e-58	97.87	576	MT135942.1
Uncultured Saccharomycetales genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S...	uncultured S...		362224	241	241	47%	1e-58	97.87	400	LC440279.1
[Candida] intermedia strain JYC496 5.8S ribosomal RNA gene,...	[Candida] in...	NA	45354	241	241	47%	1e-58	97.87	681	MN244488.1
Ascomycota sp. isolate R97309 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	241	241	47%	1e-58	97.87	413	MK268153.1
Ascomycota sp. isolate R96661 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	241	241	47%	1e-58	97.87	413	MK267910.1
Ascomycota sp. isolate R96656 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	241	241	47%	1e-58	97.87	413	MK267905.1
Ascomycota sp. isolate E25984 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	241	241	47%	1e-58	97.87	413	MK267788.1
Ascomycota sp. isolate E25983 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	241	241	47%	1e-58	97.87	413	MK267787.1
Ascomycota sp. isolate E25982 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	241	241	47%	1e-58	97.87	413	MK267786.1
Ascomycota sp. isolate E25977 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	241	241	47%	1e-58	97.87	413	MK267781.1
Ascomycota sp. isolate E25975 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	241	241	47%	1e-58	97.87	413	MK267780.1
Ascomycota sp. isolate E25974 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	241	241	47%	1e-58	97.87	413	MK267779.1
Ascomycota sp. isolate E25973 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	241	241	47%	1e-58	97.87	413	MK267778.1
Ascomycota sp. isolate E22312 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	241	241	47%	1e-58	97.87	413	MK267752.1
Ascomycota sp. isolate E21077 ITS small subunit ribosomal RNA...	Ascomycota sp.	NA	1709939	241	241	47%	1e-58	97.87	413	MK267629.1

S8-4 (K)

Job Title:Cepa S8-4 (K) Oriente Nicolas - Julio
 Program: BLASTN
 Database: nt Nucleotide collection (nt)
 Query #1: Cepa S8-4 (K) Oriente Nicolas - Julio Query ID: lcl|Query_4255573 Length: 300

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Query Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Metarhizium robertsii strain E991 small subunit ribosomal RNA...	Metarhizium	NA	568076	67.6	67.6	19%	2e-06	88.33	576	MF681593.1

Alignments:

>Metarhizium robertsii strain E991 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: MF681593.1 Length: 576
 Range 1: 522 to 576

Score:67.6 bits(36), Expect:2e-06,
 Identities:53/60(88%), Gaps:6/60(10%), Strand: Plus/Plus

```

Query  218  TTTGACCTCAAATTCAGGGTAGGGACTTACCCGCTGAACTTTAAGCATAT-AAAAAC  276
      ||| |||||  || ||| |||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
Sbjct  522  TTT-GACCTC-GAA-TCA-GGTA-GGACTTACCCGCTGAACTTTAAGCATATCAAAAAC  576
  
```

Autorización de publicación en el repositorio institucional

Andrés Nicolás García Marín portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **0106434590** y **Julio Humberto Lazo Alvarado** portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **0106047491**. En calidad de autores y titulares de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación **“Presencia de levaduras potencialmente patógenas en ambientes extremos domésticos del Oriente ecuatoriano”** de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconocemos a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizamos además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **07 de octubre de 2024**



Andrés Nicolás García Marín

C.I. **0106434590**



Julio Humberto Lazo Alvarado

C.I. **0106047491**