



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**Facultad de Enología y Gastronomía**



**Características y potencial enológico de levaduras silvestres de Baja California**

Tesis para obtener el grado de Licenciado en Enología presenta

Angel Isaac Pacheco Monteverde

Matricula:  
365089

Directora

Cristina Domínguez Castro

Septiembre 2025



"2025, año del Turismo Sostenible como impulsor del Bienestar Social y Progreso"

## Facultad de Enología y Gastronomía



PROPUESTA DE VOTOS APROBATORIOS DEL TRABAJO DESARROLLADO EMITIDO POR EL COMITÉ DE TESIS DE LICENCIATURA Y FIRMADA POR SUS MIEMBROS.

### "Características y potencial enológico de levadura silvestres de Baja California"

TESIS DE LICENCIATURA

Para cubrir los requisitos necesarios para obtener el título de la

**LICENCIATURA EN ENOLOGÍA**

Presentada

**Angel Isaac Pacheco Monteverde**

No. Matrícula 365089

A quien el Comité de Tesis de Licenciatura autoriza la tesis de licenciatura, después de haber efectuado una revisión minuciosa del mismo y de acuerdo con el Art. 19 del R.G.E.P.E.P. las y los señores profesores emiten los siguientes votos aprobatorios mediante rubrica:

**Dra. Cristina Domínguez Castro**  
DIRECTORA

**Dr. Luis Leobardo Pérez Mozqueda**  
CODIRECTOR

**M.P.A. Gricelda López González**  
SINODAL

**Dr. Alejandro Cabello Pasini**  
SINOD

Ensenada, Baja California, 14 de marzo de 2025  
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"

C.c.p.-Archivo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE ENOLOGÍA  
Y GASTRONOMÍA

## **Dedicatoria**

Con dedicatoria a mi papá, José Ángel Pacheco Rivera y  
a mi nana, Maura Hortencia Rivera Luna.

## Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de Baja California y a la facultad de Enología y Gastronomía, por brindarme el conocimiento sobre enología y acercarme a este mundo, que me ha encantado y del cual sigo aprendiendo día con día.

A mi directora de tesis, Dr. Cristina Dominguez Castro, por confiar en mí con la realización de este proyecto, y por su apoyo con mi decisión de titulación por este medio y agradezco su guía desde que inicié el proyecto como parte de mis prácticas profesionales.

A mi tutor y guía en este proyecto, Dr. Luis Leobardo Pérez Mosqueda, por brindarme la oportunidad de escoger mi tema de tesis, por brindarme el apoyo para la realización de los protocolos y por acercarme a este mundo de la microbiología, del cual me gustaría seguir explorando.

A mis sinodales, M.P.A. Gricelda López González y al Dr. Alejandro Cabello Pasini por su apoyo en la revisión del trabajo escrito y sus recomendaciones para que este proyecto estuviera expuesto de la mejor manera posible.

A mis compañeros de laboratorio, Aranza y Parys por apoyarme durante las prácticas y por hacerme más amenos los días durante la realización de este trabajo.

Al Centro de Estudios Vitivinícolas (CEVIT) por abrirme las puertas y permitirme realizar el proyecto en sus instalaciones, agradezco la oportunidad brindada y la hospitalidad por parte de los miembros del Equipo CEVIT, directora Diana Celaya Tentori, Mrto. Armando Orozco Moreno, Mrto. Ricardo Collins García, María Fernanda Luna Cárdenas y Miriam Arely Mejía Aguirre.

## Resumen

Se llevó a cabo un trabajo de investigación con el objetivo de caracterizar especies de levaduras de diferentes regiones de Baja California. Para ello, se aislaron levaduras de un viñedo de temporal de la variedad Misión ubicado en el municipio de Tecate y de un viñedo de manejo ecológico y con actividad agronómica situado en el municipio de Ensenada. Se realizaron toma de alícuotas de los mostos en diferentes días y se hicieron diluciones seriadas, seleccionando las colonias de aquellas que provenían de diluciones 1:100. A través de la observación se caracterizaron las colonias y sus formas unicelulares, y haciendo uso de técnicas moleculares, se lograron identificar como género y especie. Por medio de pruebas de tolerancia a diferentes compuestos (etanol, osmotolerancia, cobre y oxidación), así como de la producción y asimilación de compuestos (producción de ácidos, asimilación de ácido málico y láctico y producción de aminos biógenas), se pudieron caracterizar desde el punto de vista enológico, obteniendo resultados positivos para posteriores estudios de las diferentes cepas de levaduras, destacando levaduras pertenecientes a géneros No-*Saccharomyces*.

## Palabras clave

Tolerancia, levaduras, Misión, Producción, Asimilación.

# Índice

1. Introducción .....	09
1.1 Levaduras <i>Saccharomyces</i> y No- <i>Saccharomyces</i> silvestres.....	10
1.2 Levaduras No- <i>Saccharomyces</i> comerciales.....	11
2. Objetivo .....	13
2.1 Objetivo general.....	13
2.2 Objetivos particulares.....	13
3. Hipótesis.....	13
4. Materiales y metodología.....	13
4.1 Material y sitio de aislamiento.....	13
4.2 Aislamiento y selección de levaduras.....	14
4.3 Características morfológicas e identificación molecular.....	14
4.4 Tolerancia a factores de estrés.....	15
4.4.1 Osmotolerancia.....	15
4.4.2 Etanol .....	15
4.4.3 Cobre.....	16
4.4.5 Oxidación.....	16
4.5 Caracterización enológica de levaduras .....	16
4.5.1 Producción de ácidos a partir de glucosa.....	17
4.5.2 Asimilación de ácido málico y acético.....	17
4.5.3 Producción de aminas biógenas... ..	17

5. Resultados.....	18
5.1 Caracterización morfológica e identificación molecular.....	18
5.2 Tolerancia a diferentes factores de estrés.....	23
5.2.1 Osmotolerancia.....	23
5.2.2 Tolerancia al etanol.....	23
5.2.3 Tolerancia al cobre.....	25
5.2.4 Tolerancia a la oxidación.....	26
5.3 Potencial enológico.....	27
5.3.1 Producción de ácidos.....	27
5.3.2 Asimilación de ácido acético.....	28
5.3.3 Asimilación de ácido málico.....	28
5.3.4 Producción de aminas biógenas.....	30
6. Discusión.....	30
6.1 Identificación morfológica y molecular.....	30
6.2 Tolerancia a diferentes factores de estrés.....	32
6.3 Potencial en la producción y asimilación de compuestos.....	35
7. Conclusión.....	37
8. Literatura citada.....	39

## Índice de tablas

Tabla I. Descripción morfológica micro y macroscópica de las cepas de levaduras aisladas.....	19
Tabla II. Tolerancia de levaduras a diferentes concentraciones de etanol con pH distintos .....	24

## Índice de figuras

Figura 1. Osmotolerancia .....	23
Figura 2. Tolerancia al cobre pH 3.5 .....	25
Figura 3. Tolerancia al cobre a pH 6 .....	26
Figura 4. Tolerancia a la oxidación.....	27
Figura 5. Producción de ácidos .....	28
Figura 6. Asimilación de ácido acético.....	29
Figura 7. Asimilación de ácido málico .....	29
Figura 8. Producción de aminas biógenas.....	30

## Introducción

La fermentación alcohólica es un proceso mediado por levaduras que engloba fenómenos bioquímicos y fisiológicos que suceden simultáneamente, permitiendo la conversión de jugo de uva a vino (Zamora, 2009). Este proceso puede suceder de forma controlada, con levaduras comerciales o domesticadas, o espontáneas. En este último caso, la fermentación la llevan a cabo principalmente levaduras silvestres del jugo de uva (Xu *et al.*, 2019).

Las levaduras silvestres pueden dotar de gran calidad a los vinos con características propias de la región que proveen de un carácter diferenciador, con aromas y sabores únicos (Fleet, 2008). Estas levaduras nativas constituyen, además, el llamado terruño microbiano de un vino, ya que sus poblaciones dependen de la variedad, el clima y las condiciones edáficas (Agarbatí *et al.*, 2022) y aportan un valor agregado en un mercado competitivo (Fazio *et al.*, 2023). Sin embargo, estos tipos de procesos naturales pueden ocasionar inicios tardíos, fermentaciones lentas o estancadas e inconsistencias en la calidad del vino, incluyendo la proliferación de especies silvestres que contaminen o no contribuyan a la calidad del vino (Fernández y Rodríguez, 2010).

Por otro lado, en la mayoría de las zonas vitivinícolas se hace uso de adición exógena de levadura seca activa (LSA) de la especie *S. cerevisiae* (Santamaría *et al.*, 2007). A pesar de su utilidad, las LSA provienen de una zona diferente, por lo que pueden contribuir a la pérdida en la tipicidad de los vinos (Fernández y Rodríguez, 2010).

Aunado a lo anterior, en los últimos años se ha propuesto la utilización de levaduras autóctonas seleccionadas (LAS) en una zona productora determinada, así como la

evaluación de cultivos iniciadores mixtos como alternativas al uso de cultivos puros de levaduras (una sola especie) (Fernández y Rodríguez, 2010). La elaboración de vinos en coinoculación de *Saccharomyces cerevisiae* con otros géneros confieren una huella volátil distintiva de una ubicación geográfica particular (Fazio *et al.*, 2023).

### **1.1 Levaduras *Saccharomyces* y No-*Saccharomyces* silvestres**

En ambientes antrópicos se encuentran especies del género *Saccharomyces* como *S. cerevisiae*, *S. bayanus* y *S. pastorianus*. Aun cuando *S. cerevisiae* es reconocida por su uso en procesos fermentativos, también *S. bayanus* y *S. pastorianus* pueden cumplir esa función, sobre todo a temperaturas bajas o en producción de sidra (Dequin y Casaregola, 2011).

La levadura *S. cerevisiae* es la principal especie usada en el proceso fermentativo y es distintiva de las demás, ya que puede resistir altas concentraciones de etanol, fermentar con presencia de oxígeno y tiene una alta resistencia al SO<sub>2</sub> (Mesas y Alegre, 1999; Siesto *et al.*, 2022). Esta levadura ha sido ampliamente estudiada y comercializada, sin embargo, la expresión que pudieran presentar las levaduras de la región se puede ver diferenciada a pequeña escala. En este sentido, Chen *et al.* (2022) en su estudio demostraron que entre diferentes viñedos esta especie presentó divergencia genética, siendo esto un fuerte factor que influye en los parámetros fisicoquímicos y los perfiles volátiles del vino, por ello lo de la actual selección de cepas autóctonas *S. cerevisiae* para mejorar el perfil aromático y potenciar la tipicidad de los vinos (Fazio *et al.*, 2023).

Por su parte, *S. bayanus* se caracteriza por tener un poder alcohólico mayor al de *S. cerevisiae* y una resistencia hasta 250 mg/L de SO<sub>2</sub> (Mesas y Alegre, 1999). Asimismo,

*S. pasterianus* puede fermentar, sin embargo, su uso es más relevante en la elaboración de bebidas alcohólicas como la cerveza lager o la sidra (Meier-Dörnberg *et al.*, 2017).

Las levaduras pertenecientes a los géneros No-*Saccharomyces* (Ns) se caracterizan por contribuir a la complejidad aromática y sensorial de los vinos, a través de actividades enzimáticas más complejas, pero con menor tolerancia y producción de etanol que *S. cerevisiae* (Aguilar *et al.*, 2015).

El género *Kluyveromyces* ha despertado el interés al producir grandes cantidades de ácido láctico, generando de 1.5 a 1.8 g/L comparado con *Saccharomyces* (0.2 g/L) (Hidalgo, 2003). La especie *Torulaspota rosei* es resistente de 8 a 14° de alcohol y se caracteriza por fermentar lentamente los azúcares, disminuyendo los niveles de acidez volátil (Mesas y Alegre, 1999). Las especies de *Schizosaccharomyces spp.* tienen la capacidad de degradar el ácido málico hasta 95-99% con altas concentraciones de levaduras (Jolly *et al.*, 2006). La especie *Schizosaccharomyces baillii* presenta una alta tolerancia al alcohol (Siesto *et al.*, 2022). *Pichia anomala* se presenta como una especie no deseada, sin embargo, en un estudio realizado por Lanieva y Podgorsky (2020), se demostró que esta especie presenta características de importancia enológica, como alta tolerancia a diferentes ambientes de estrés, factor killer y una amplia actividad hidrolítica. Por lo anterior, las diferentes especies proporcionan características que *S. cerevisiae* no puede producir, por lo que es de interés su estudio.

## **1.2 Levaduras No-*Saccharomyces* comerciales.**

Actualmente existen cepas de levaduras Ns que han sido aisladas en diferentes partes del mundo y que son distribuidas por diferentes empresas para su uso comercial en la

producción de diferentes tipos de vino. Según lo recabado por Vejarano y Gil-Calderón (2021), existen 42 levaduras industriales, representadas en un 52% por cepas de las especies *Torulaspora delbrueckii*, *Lachancea thermotolerans* y *Metschnikowia pulcherrima*. De este total, el 79% se comercializa como cultivo puro y lo demás está compuesto por multicultivos, incluso una mezcla de 3 cepas distintas. Además, los productos se encuentran presentes en diferentes presentaciones, mismas que son aceptadas y descritas por la Organización Internacional de la viña y el vino (OIV) en su resolución OIV-OENO 576A-2017 para el género *Saccharomyces* (mezcla de cepas o cultivo puro) o mezcla de *Saccharomyces* con Ns. Estas levaduras se clasifican como: levadura Seca Activa, levadura Activa Congelada, levadura Comprimida, levadura en crema, levaduras encapsuladas (perlas) o inmovilizadas y “levadura de tiraje” para vinos espumosos.

En la actualidad, existen levaduras Ns en el mercado que cumplen diferentes propósitos a nivel enológico. Entre ellas, la cepa *T. delbrueckii* “Viniflora®” (CHR Hansen, Denmark) puede funcionar como inóculo apto a 22°C (Van Vedra *et al.*, 2013), siendo capaz de suplir a *S. cerevisiae* al alcanzar 13% (v/v) de etanol. Cultivos Mixtos de *M. pulcherrima* con *S. cerevisiae* sirven para disminuir el contenido alcohólico al 1% v/v (Vejarano y Gil-Calderón, 2021), siendo esto de importancia en la enología debido a la demanda de los consumidores de vinos menos alcohólicos.

Por otro lado, con la levadura *L. thermotolerans* se demostró en un estudio hecho por Hranilovic *et al.* (2021) que, en coinoculación con *S. cerevisiae*, se producen vinos más “frescos”, menos alcohólicos y más balanceados.

## **2. Objetivo**

### **2.1 Objetivo general**

Evaluar las características enológicas de levaduras silvestres de Baja California, México.

### **2.2 Objetivos particulares**

- Aislar e identificar morfológica y molecularmente levaduras silvestres de Baja California, México.
- Evaluar la resistencia de las levaduras frente a diversas condiciones de estrés, tales como Osmotolerancia, etanol, cobre y oxidación.
- Comparar el potencial enológico entre especies de levaduras, a través de pruebas de producción de ácidos, aminos biógenos y asimilación de ácido acético y ácido málico.

## **3. Hipótesis**

Las especies de levaduras silvestres *Saccharomyces spp.* y *No-Saccharomyces spp.* de Baja California presentan características favorables para su uso en la producción de vino.

## **4. Materiales y metodologías**

### **4.1 Material y sitio de aislamiento**

Se utilizaron racimos de *Vitis vinifera* del cultivar Misión de dos zonas productoras de vid del Estado de Baja California. La primera zona fue el viñedo ecológico Viñas del Tigre, situado en el municipio de Ensenada. El segundo punto muestreado fue un viñedo de

temporal situado en el municipio de Tecate que presenta un manejo agronómico sustentable.

#### **4.2 Aislamiento y selección de levaduras**

Tras la recolección de los frutos, las uvas se separaron manualmente y se maceraron en frascos de vidrio estériles, fermentando por 10 días. Sin embargo, en este estudio solo se obtuvieron alícuotas de 1 ml los días 0, 2 y 4 en fermentación, ya que fueron los que presentaron mayor diversidad de colonias. A continuación, se realizaron tres diluciones seriadas (1:10, 1:100 y 1:1000) y se cultivaron 100  $\mu$ L de cada muestra en cajas Petri con medio WL nutritivo (CRITERION™, Estados Unidos) mediante la técnica de extensión en placa con asa de vidrio. Finalmente, se seleccionó la dilución 1:1000 para el aislamiento de colonias hasta la obtención de cultivos puros. Una vez obtenidos los cultivos puros, se seleccionaron colonias que mostraron diferencias morfológicas entre sí.

#### **4.3 Características morfológicas e identificación molecular**

Las muestras obtenidas se cultivaron en medio YPD líquido durante 24 horas en la incubadora orbital a 180 revoluciones por minuto (RPM), se tomaron 20  $\mu$ L y se sembraron en medio WL nutritivo para visualizar el aspecto, color y textura de las colonias mediante microscopio óptico DM750 (Leica, Estados Unidos) con el objetivo 40X.

Para realizar el análisis molecular de las cepas descritas microscópicamente, se tomó muestra con un asa bacteriológica a partir de una colonia de levaduras y se incubó en medio YPD líquido por 24 horas. El DNA total de las cepas se purificó haciendo uso del kit Wizard® Genomic DNA Purification kit (PROMEGA, Estados Unidos).

Para la identificación genética, se utilizó la secuencia ITS mediante la aplicación con los oligonucleótidos ITS1 (5´- TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3´) e ITS2 (5´-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3´). La secuenciación de los fragmentos amplificados la llevó a cabo la Unidad de Síntesis y Secuenciación del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), campus Morelos. Por último, los resultados obtenidos se contrastaron con bases de datos internacionales haciendo uso del programa Geneious prime (National Center of Biotechnology Information, Estados Unidos), basado en el sistema BLAST para comparar las secuencias obtenidas y obtener la especie correspondiente.

#### **4.4 Tolerancia a factores de estrés**

##### **4.4.1 Osmotolerancia**

Se preparó el medio como Kurtzman *et al.* (2011) establecen, con un medio control de YPD al 6% y un medio saturado YPD con 50% glucosa (Dextrosa Anhidra) (Jalmek científica, México). Las muestras de levaduras se inocularon en caja petri mediante la técnica de estriado en placa y se incubaron durante 7 días a 29°C.

##### **4.4.2 Etanol**

Se efectuó el procedimiento descrito por Barbosa *et al.* (2018) con las modificaciones de Lanieva y Podgorsky (2020) en medio YPD y ajustando los medios a pH 6 y 3.5. Los medios estériles se dejaron enfriar a 40°C y se prepararon concentraciones del medio con etanol (Alcoholes de Zapopan, México) a 6%, 9%, 12% y 16% en tubos de 30 mL. Se cultivaron por estriado y se incubaron por una semana a 26°C.

#### **4.4.3 Cobre**

Este ensayo se realizó siguiendo lo establecido por Capece *et al.* (2018). Para ello se prepararon medios YPD con pH 6 y 3.5, agregando a cada medio 200  $\mu\text{M}$  y 400  $\mu\text{M}$  de sulfato cúprico pentahidratado (Materiales y abastos especializados, México). Las muestras se cultivaron por estriado y se incubaron por una semana a 26°C.

#### **4.4.4 Oxidación**

Para la evaluación de la capacidad oxidativa, se empleó la metodología propuesta por Mestre *et al.* (2017) con algunas modificaciones. Se usó papel filtro de 99 mm de diámetro (Whatman® filter paper grade 2, Sigma Aldrich, Estados Unidos), y se hizo uso de peróxido de hidrógeno (Agua oxigenada al 3% Laboratorios Jaloma, México), en concentraciones de 250 mM, 500 mM y 1 M. Se sembraron por extensión, colocando 100  $\mu\text{L}$  de cultivo en medio YPD sólido, seguido de la colocación de los papeles filtros en tres sitios diferentes, y se agregó 50  $\mu\text{L}$  de las concentraciones de peróxido de hidrógeno en cada uno de sus respectivos sitios. Las placas resultantes se incubaron a 26°C por 48 horas.

#### **4.5 Caracterización enológica de levaduras**

Para la identificación de crecimiento por parte de las levaduras en las pruebas de asimilación se determinará como “óptimo” crecimiento, aquella colonia que haya crecido en su totalidad con el estriado hecho, como “baja”, colonia que haya crecido parcialmente y “nulo” la colonia que no haya presentado crecimiento.

#### **4.5.1 Producción de ácidos a partir de glucosa**

Como indica Kurtzman *et al.* (2011), se preparó medio Causter's chalk agar (Causters 1940; Van der Walt, 1970) compuesto de 5% glucosa, 0.5% extracto de levadura, 0.5% carbonato de calcio y 2% agar. En este medio se sembraron 10  $\mu$ L de muestra, que se tomaron previamente de un cultivo de YPD líquido, y se incubaron por una semana a 26°C.

#### **4.5.2 Asimilación de ácido málico y acético**

El ensayo de asimilación de ácido málico y acético se basó en la utilización de medio Yeast nitrogen base (YNB) (Sigma *Aldrich* products, Estados Unidos), tal y como detalla Šuranská *et al.* (2016). A este medio se le adiciona, por una parte, agar al 0.65% y dextrosa al 5% (glucosa).

Por otra parte, se prepararon dos medios de cultivo YNB al 6.7% y suplementados con ácido málico (Sigma *Aldrich*, Estados Unidos) al 0.5% y ácido acético (Jalmek, México) al 0.25%, respectivamente. Para la adición de estos ácidos, se emplearon filtros de 99 mm de diámetro (Whatman® filter paper grade 2, Sigma *Aldrich*, Estados Unidos) bajo condiciones de esterilidad en campana de flujo laminar. Finalmente, las muestras de levaduras se sembraron por estriado y se colocaron en la incubadora por tres semanas a 26°C.

#### **4.5.3 Producción de aminas biógenas**

La evaluación de la producción de aminas biogénicas se realizó en base a la metodología de Aslankoochi *et al.* (2016), modificando el pH del medio a 5.2 y ensayando medios de

cultivos suplementados con agar al 2% (Sigma *Aldrich*, Estados Unidos) y 0.0015%, 1% y 2% de púrpura de bromocresol (Jalmek científica, México), y 1% de un concentrado de aminoácidos (tirosina, histidina, fenilalanina, leucina, triptófano, arginina y lisina (Sigma *Aldrich*, Estados Unidos). Por último, las muestras se sembraron por estriado en los medios de cultivo y se incubaron por una semana a 26°C.


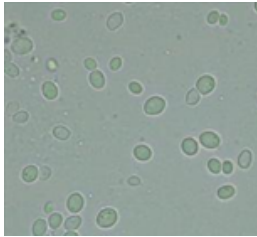
## **5. Resultados**


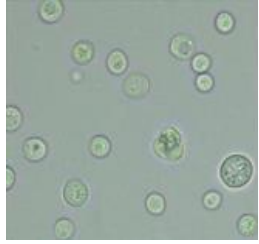
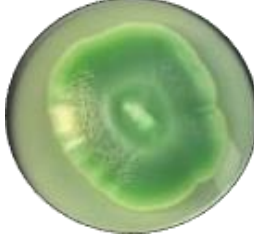


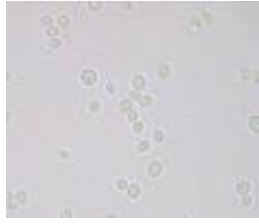
### **5.1 Características morfológicas e identificación molecular**


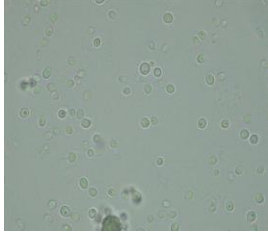

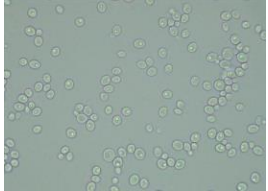

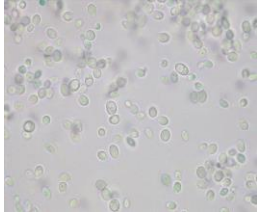

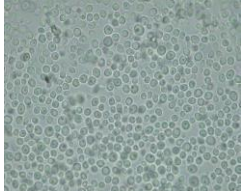
Se observaron diferencias morfológicas celulares y de las colonias de levaduras aisladas de los mostos (Tabla I). Las especies Cp-T1, Cp-T6 presentaron similitudes al presentar la misma coloración macroscópica y la misma forma unicelular elongada; la cepa Sc-E4 presento un morfotipo similar al anterior, pero mostrando forma unicelular diferente al presentar células con forma esférica y una apariencia macroscópica más rugosa. Aun cuando Cp-T2 y Mp-E2 pertenecen a dos géneros distintos, presentaron el mismo morfotipo macro y microscópico, con una coloración verde más oscura y la presencia de dos formas distintas, apiculadas y ovaladas. Mp-T1 presenta una coloración más rosa pero que a diferencia de la apariencia macroscópica de Cp-T4, Cp-T5, Mp-T3, Mp-T2 y Mp-T4, esta presenta un borde en la periferia muy claro y definido, sin embargo, ambos morfotipos presentan formas unicelulares esféricas, a excepción de Mp-T2. La cepa Cp-T3 es la única en presentar un morfotipo de coloración verde en dos tonos, oscuro al centro y más claro en la periferia y las levaduras presentan formas ovaladas.


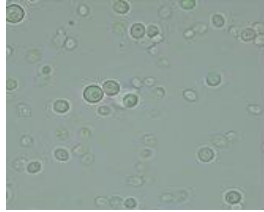

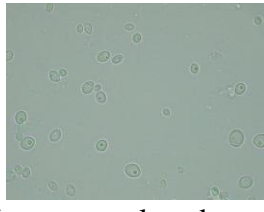

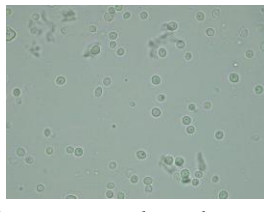

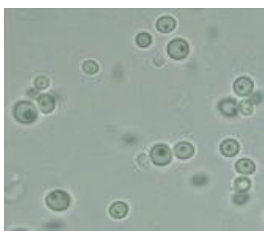
Las siguientes cepas presentan similitudes en su color y forma unicelular, pero con diferencias particulares. Las cepas Cp-E1, Mp-E1, Sc-E1, Sc-E2, Sc-E3, Cp-E3 y Cp-E4 tienen forma esférica, mientras que Cp-E2 tiene forma elongada; Cp-E1 presenta una coloración rosa pálido que se extiende en todo su perímetro; Mp-E1 presenta la coloración rosa pálido pero solo en sus bordes con una franja bien definida que divide al color verde azulado que tiene y que se presenta más en el centro de la colonia; Cp-E2 presenta el morfotipo similar al anterior, pero este no se encuentra tan bien definido su diferencia de coloración, en esta levadura se presenta más difuminado. Las cepas Sc-E1, Sc-E2, Sc-E3 y Cp-E4 presentan el morfotipo similar a Cp-E2 pero con una elevación, presentando mayor volumen a diferencia de las cepas anteriores. La cepa Cp-E3 se encuentra cubierta casi en su totalidad por una coloración azul verdoso.

Tabla I. Descripción morfológica micro y macroscópica de las cepas de levaduras aisladas.

<b>Características morfológicas</b>	<b>Descripción de las colonias</b>	<b>Código de especie</b>	<b>Característica unicelular</b>
	<p>La colonia exhibe una forma irregular, sus bordes se tornan irregulares a medida que avanza a la periferia. Presenta una consistencia cremosa, una superficie lisa y brillante con elevación unbonada, y de coloración verde pálido.</p>	<p>Cp-T1 Cp-T6</p>	 <p>Las levaduras tienen una forma elongada.</p>

	<p>La colonia exhibe una forma irregular, sus bordes se tornan irregulares a medida que avanza a la periferia. Presenta una consistencia cremosa, una superficie rugosa y brillante con elevación unbonada, y de coloración verde-blanquecino.</p>	<p>Sc-E4</p>	 <p>Las levaduras tienen una forma esférica.</p>
	<p>La colonia exhibe una forma irregular, sus bordes se tornan irregulares a medida que avanza a la periferia. Presenta una consistencia cremosa, una superficie lisa y brillante con elevación convexa, y de coloración verde que es más oscuro al centro y más claro en la periferia.</p>	<p>Cp-T2 Mp-E2</p>	 <p>Se observan dos formas diferentes de las levaduras, apiculada (arriba) y ovalada (abajo).</p>
	<p>La colonia exhibe una forma elongada, con bordes uniformes. Presenta una consistencia cremosa, una superficie rugosa y brillante con elevación convexa, y de coloración rosa que, en su periferia, presenta una coloración crema.</p>	<p>Mp-T1</p>	 <p>Las levaduras presentan una forma esférica.</p>

	<p>La colonia exhibe una forma elongada, con bordes uniformes. Presenta una consistencia cremosa, una superficie rugosa y brillante con elevación convexa, y de coloración rosa en toda su superficie.</p>	<p>Cp-T4 Cp-T5 Mp-T3 Mp-T4</p>	 <p>Las levaduras presentan una forma esférica.</p>
	<p>La colonia exhibe una forma irregular y borde irregular. Posee una superficie rugosa con líneas que se extienden del centro a la periferia, con una elevación plana, y de coloración verde oscuro en el centro y con un borde más claro de gran extensión.</p>	<p>Mp-T2</p>	 <p>Las levaduras presentan una forma ovalada.</p>
	<p>La colonia exhibe una forma enolgada, con borde uniforme en toda su periferia. Presenta una una superficie lisa con elevación plana, y de coloración rosado pálido que se extiende hasta la periferia</p>	<p>Cp-T3</p>	 <p>La morfología de las levaduras es de forma ovalada.</p>
	<p>La colonia exhibe una forma enolgada, con borde uniforme en toda su periferia. Presenta una una superficie lisa con elevación plana, y de coloración rosado pálido que se extiende hasta la periferia</p>	<p>Cp-E1</p>	 <p>Las levaduras presentan una forma esférica.</p>

	<p>La colonia exhibe una forma circular, con borde uniforme en toda su periferia. Presenta una una superficie lisa con elevación plana, y de un tono que va del azul y se ve separada por bordes uniformes de un tono más rosado</p>	<p>Mp-E1</p>	 <p>Las levaduras presentan una forma esférica.</p>
	<p>La colonia exhibe una forma circular, con borde uniforme en toda su periferia. Presenta una una superficie lisa con elevación plana y muestra un tono que va del azul al rosado que se va difuminando mientras más cerca está de la periferia</p>	<p>Cp-E2</p>	 <p>Las levaduras presentan una forma elongada.</p>
	<p>La colonia exhibe una forma circular, con borde uniforme en toda su periferia. Presenta una una superficie lisa con elevación convexa y muestra un tono que va del azul al rosado que se va difuminando mientras más cerca está de la periferia</p>	<p>Sc-E1 Sc-E2 Sc-E3 Cp-E4</p>	 <p>Las levaduras presentan una forma esférica.</p>
	<p>La colonia exhibe una forma circular, con borde uniforme en toda su periferia. Presenta una superficie lisa con elevación plana, y de coloración azul verdoso en el centro y que se extiende de manera desigual en toda la superficie, tornando más de</p>	<p>Cp-E3</p>	 <p>Las levaduras presentan una forma esférica.</p>

	una coloración rosa en ciertas zonas.		
--	---------------------------------------	--	--

## 5.2 Tolerancia a diferentes factores de estrés

### 5.2.1 Osmotolerancia

Todas las cepas de levaduras presentaron óptimo crecimiento en medio con 50% de glucosa en medio sólido con siete días de crecimiento, una semana menos a lo establecido en el protocolo (Figura 1).

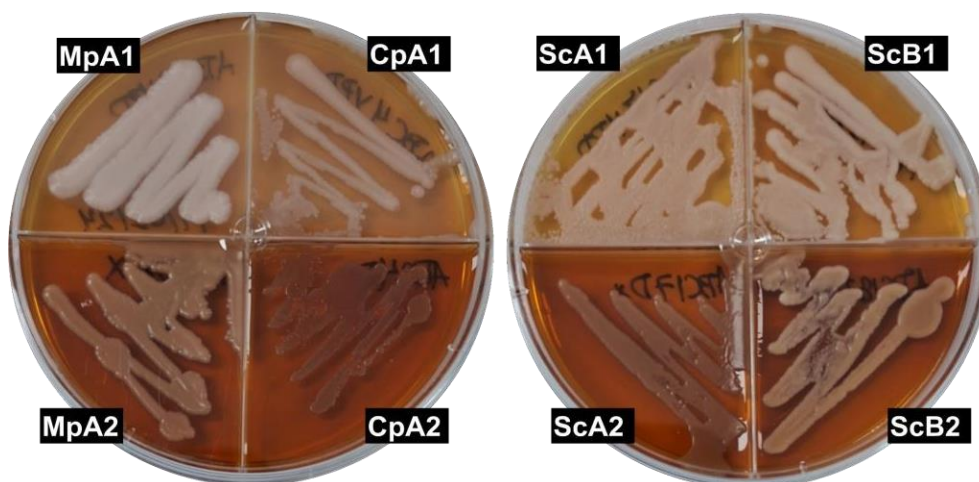


Figura 1. Osmotolerancia. MpA1, cepa *M. pulcherrima* en medio YPD sólido; MpA2, cepa *M. pulcherrima* en medio YPD+50% glucosa; CpA1, cepa *Candida sp.* en medio YPD sólido; CpA2, cepa *Candida sp.* en medio YPD sólido+50% glucosa; ScA1, cepa *S. cerevisiae* en medio YPD sólido; ScA2, cepa *S. cerevisiae* en medio YPD sólido+50% glucosa; ScB1, cepa *S. cerevisiae* en medio YPD sólido; ScB2, cepa *S. cerevisiae* en medio YPD sólido+50% glucosa.

### 5.2.2 Tolerancia al etanol

Las muestras Cp-T1, Cp-T2, Cp-T3, Sc-E4 y Cp-E4 presentaron un crecimiento óptimo en ambos pH en todas sus concentraciones de etanol, seguido de Mp-T1, Cp-T4, Mp-T2, Cp-T5, Cp-E2 y Mp-E1 presentaron buen crecimiento en ambos pH. Sin embargo, el crecimiento en los medios con pH 6 o pH 3.5 y 16% de etanol, se vio inhibido Cp-T2 y

Mp-T3 mostraron un mejor crecimiento en los medios con pH 3.5, siendo sólo Cp-T2 la cepa sin desarrolló en presencia de etanol al 16%.

Por su parte, la cepa Mp-T4 no crece bien en ninguna concentración a pH 3.5, aunque proliferan de forma normal en condiciones de pH 6. Mp-E2 presentó un crecimiento adecuado en los medios suplementados con 6% y 9% de etanol y con pH 6, pero la disminución del pH a valores de 3.5 provocó un escaso desarrollo de la cepa. Sc-E2 presentó buen crecimiento a pH 6, siendo este menor con medios de pH 3.5 hasta concentraciones de 12% de etanol. Sc-E3 mantuvo un buen crecimiento hasta concentración de 12% de etanol a pH 6, observándose una inhibición de este cuando se cultivó la cepa en concentraciones por encima del 9% de etanol y a pH 3.5. Cp-E3 no presentó crecimiento en el medio con pH 3.5, por otro lado, Sc-E1 tuvo un crecimiento idóneo hasta 9% de etanol, y Sc-E1 tuvo un crecimiento hasta 9% de etanol en pH 3.5 y 6 (Tabla II).

Tabla II. Tolerancia de levaduras a diferentes concentraciones de etanol con pH distintos. Marcado por colores, en negro, "Óptimo crecimiento"; en gris "Bajo crecimiento"; en blanco "Nulo crecimiento".

Levadura	Prueba de etanol							
	pH 3.5				pH 6			
Muestra	6%	9%	12%	16%	6%	9%	12%	16%
Cp-T1	Black	Black	Black	Black	Black	Black	Black	Black
Cp-T2	Black	Black	Black	Grey	Black	Black	White	White
Mp-T1	Black	Black	Black	Grey	Black	Black	Grey	White
Cp-T3	Black	Black	Black	Black	Black	Black	Black	Black
Cp-T4	Black	Black	Black	Black	Black	Black	Black	White
Mp-T2	Black	Black	Black	White	Black	Black	Black	Black
Cp-T5	Black	Black	Black	White	Black	Black	Black	White



*pulcherrima* con adición de 400  $\mu\text{M}$  de sulfato de cobre. ScA1, cepa de *S. cerevisiae* con adición de 200  $\mu\text{M}$  de sulfato de cobre; ScA2, cepa de *S. cerevisiae* con adición de 400  $\mu\text{M}$  de sulfato de cobre.

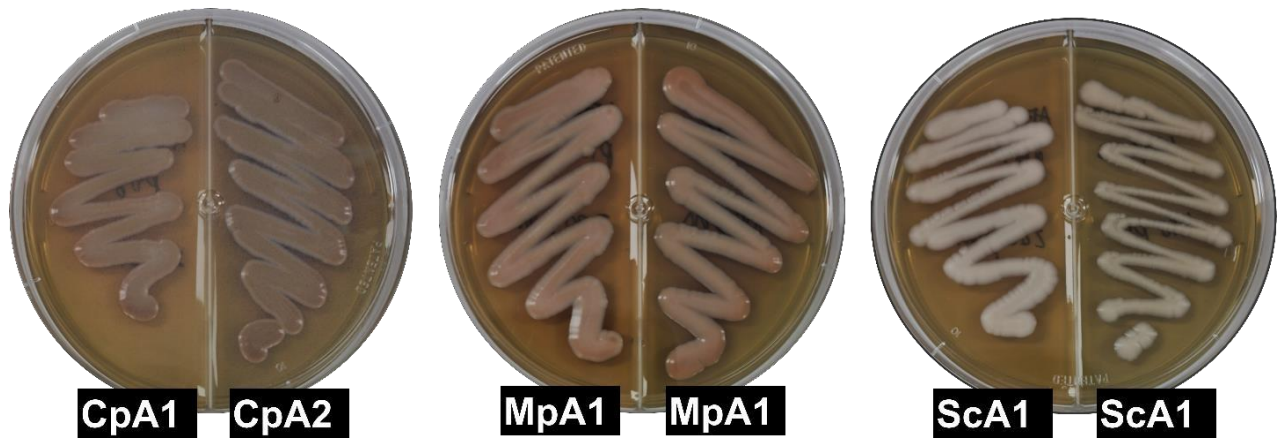


Figura 3. Tolerancia al cobre a pH 6. CpA1, cepa de *Candida sp.* con adición de 200  $\mu\text{M}$  de sulfato de cobre; CpA2, cepa de *Candida sp.* con adición de 400  $\mu\text{M}$  de sulfato de cobre. MpA1, cepa de *M. pulcherrima* con adición de 200  $\mu\text{M}$  de sulfato de cobre; MpA2, cepa de *M. pulcherrima* con adición de 400  $\mu\text{M}$  de sulfato de cobre. ScA1, cepa de *S. cerevisiae* con adición de 200  $\mu\text{M}$  de sulfato de cobre; ScA2, cepa de *S. cerevisiae* con adición de 400  $\mu\text{M}$  de sulfato de cobre.

### 5.2.4 Tolerancia a la oxidación

Ninguna de las cepas de levaduras presentó inhibición en su crecimiento, ni por debajo de los filtros, ni alrededor de ellos, demostrando su resistencia a cantidades mínimas como 250  $\mu\text{M}$  e incluso resistiendo a 1 M. Si hubiera aparecido una intolerancia, se hubiera podido visualizar que alrededor de los filtros no habría crecimiento. Tampoco se visualizó cambios de coloración en los medios o en las levaduras, todas se mantuvieron en un tono blanquecino (Figura 4).

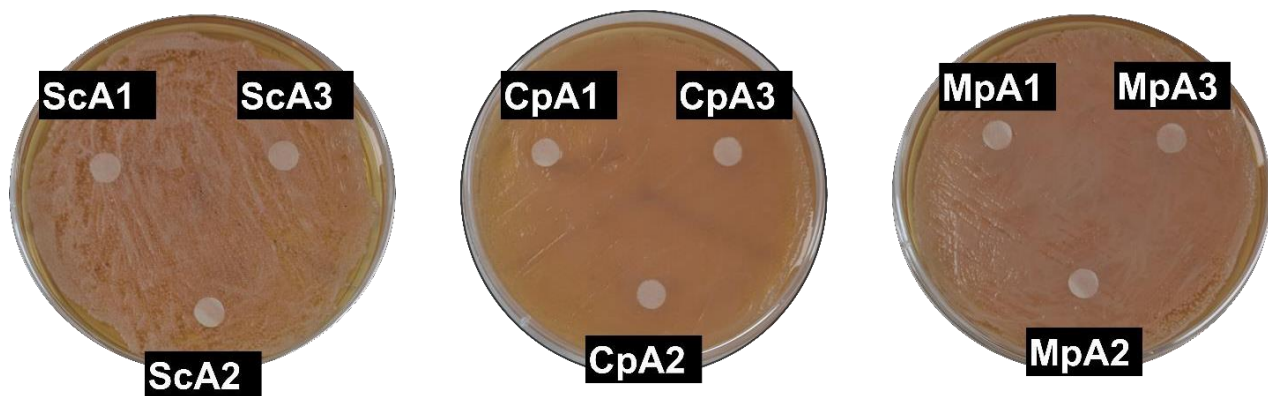


Figura 4. Tolerancia a la oxidación. ScA1, cepa de *S. cerevisiae* con adición de 250 mM de peróxido de hidrógeno; ScA2, cepa de *S. cerevisiae* con adición de 500 mM de peróxido de hidrógeno; ScA3, cepa de *S. cerevisiae* con adición de 1 M de peróxido de hidrógeno. CpA1, cepa de *Candida sp.* con adición de 250 mM de peróxido de hidrógeno; CpA2, cepa de *Candida sp.* con adición de 500 mM de peróxido de hidrógeno; CpA3, cepa de *Candida sp.* con adición de 1 M de peróxido de hidrógeno. MpA1, cepa de *M. pulcherrima* con adición de 250 mM de peróxido de hidrógeno; MpA2, cepa de *M. pulcherrima* con adición de 500 mM de peróxido de hidrógeno; MpA3, cepa de *M. pulcherrima* con adición de 1 M de peróxido de hidrógeno.

## 5.3 Potencial Enológico

### 5.3.1 Producción de ácidos

Con relación a la producción de ácidos, los resultados obtenidos fueron variables, especialmente en las cepas pertenecientes al género *Candida*. Las cepas Cp-T1, Cp-T2 y Cp-T3 mostraron halo de inhibición con el medio transparente alrededor de la colonia, mientras que las cepas Cp-T4, Cp-T5, Cp-E1, Cp-E2, Cp-E3, Cp-E4 y Cp-E5 no lo presentaron.

Por su parte, las cepas Mp-T1, Mp-T2, Mp-T3, Mp-T4 y Mp-E1 de *M. pulcherrima* no presentaron solubilización del medio, siendo la cepa Mp-E2 la única que manifestó este fenómeno y, por tanto, producción de ácidos.

Finalmente, las cepas de la especie *S. cerevisiae* también presentaron gran diversidad en este ensayo, con Sc-E1, Sc-E2 y Sc-E3 como cepas sin capacidad y Sc-E4 con capacidad para producir ácidos (Figura 5).

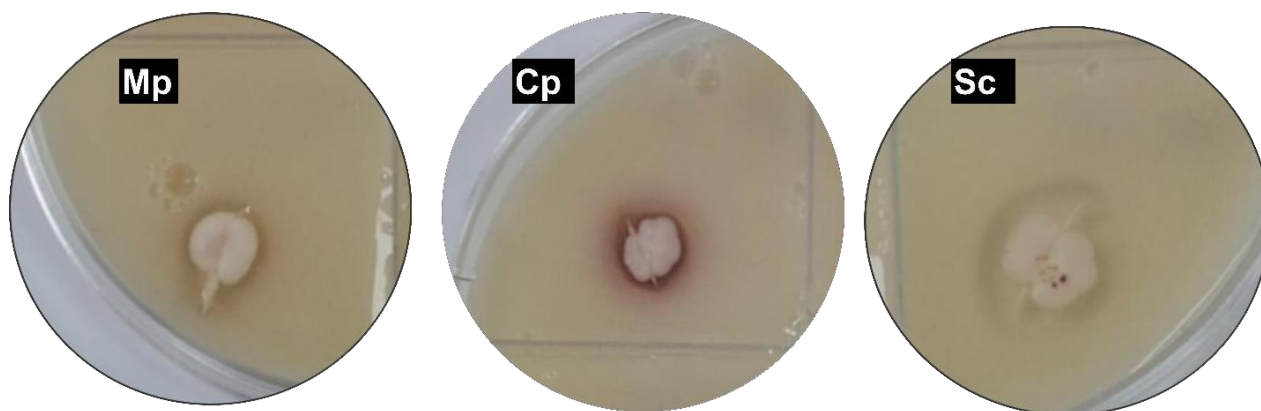


Figura 5. Producción de ácidos. Mp, ejemplo de cepa de *M. pulcherrima* productor de ácidos; Cp, cepa de *Candida sp.* no productor de ácidos; Sc, ejemplo de cepa *S. cerevisiae* productor de ácidos.

### 5.3.2 Asimilación de ácido acético

Al igual que en la producción de ácido, los resultados en cuanto a la asimilación de estos compuestos también fueron diversos. Las cepas de *C. sp.* presentaron variabilidad en su crecimiento, mostrando Cp-T1, Cp-T3 y Cp-T6 óptima asimilación con un crecimiento total del estriado y fácil de visualizar, mientras que las cepas Cp-E1 y abc Cp-E3 bajo crecimiento y las cepas abc Cp-T2, Cp-T4, Cp-T5, abc Cp-E2 y Cp-E4 nula asimilación.

En la especie *M. pulcherrima*, se observó poca asimilación en Mp-T1, Mp-T2, Mp-E1 y Mp-E2, y las cepas Mp-T3 y Mp-T4 no presentaron asimilación del ácido acético.

Las cepas de *S. cerevisiae* que presentó buena asimilación fue la abc Sc-E4. Por último, las cepas Sc-E1 y Sc-E2 mostraron poca asimilación y la cepa abc Sc-E3 se caracterizó

por no asimilar estos compuestos (Figura 6).

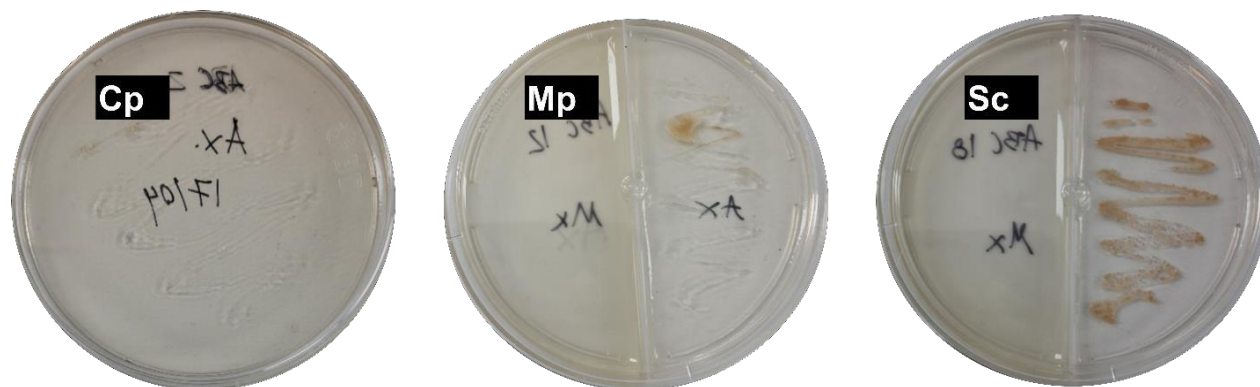


Figura 6. Asimilación de ácido acético. Cp, nula asimilación por parte de cepa de *Candida sp.*; Mp, poca asimilación por parte de cepa *M. pulcherrima*; Sc, óptima asimilación por parte de cepa *S. cerevisiae*.

### 5.3.3 Asimilación de ácido málico

Todas las levaduras presentaron un crecimiento débil teniendo el ácido málico como fuente de energía, el crecimiento en el estriado apenas es notable y no en todos se ve la coloración blanquecina de la cepa (Figura 7).

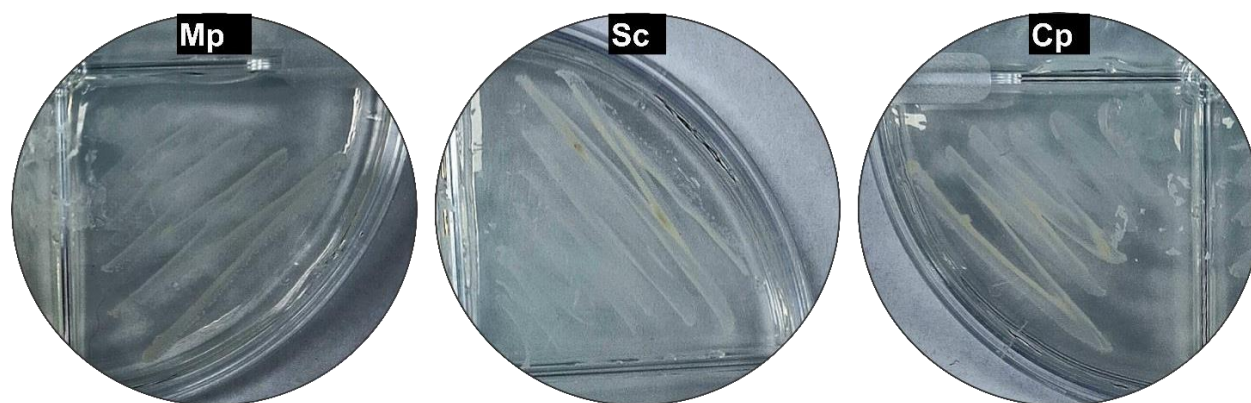


Figura 7. Poca asimilación de ácido málico. Cp, cepa de *Candida sp.*; Sc, cepa *S. cerevisiae*; Mp, cepa *M. pulcherrima*.

### 5.3.4 Producción de aminas biógenas

Ninguna levadura produjo aminas biógenas, ya que no hubo presencia de un halo rodeando a las levaduras. El púrpura de bromocresol que funcionó como indicador ante la producción de aminas biógenas (con pH básico) y que modifica el pH alrededor de la colonia pintándolo de un color morado, no estuvo presente ni en 2% de indicador (Figura 8).

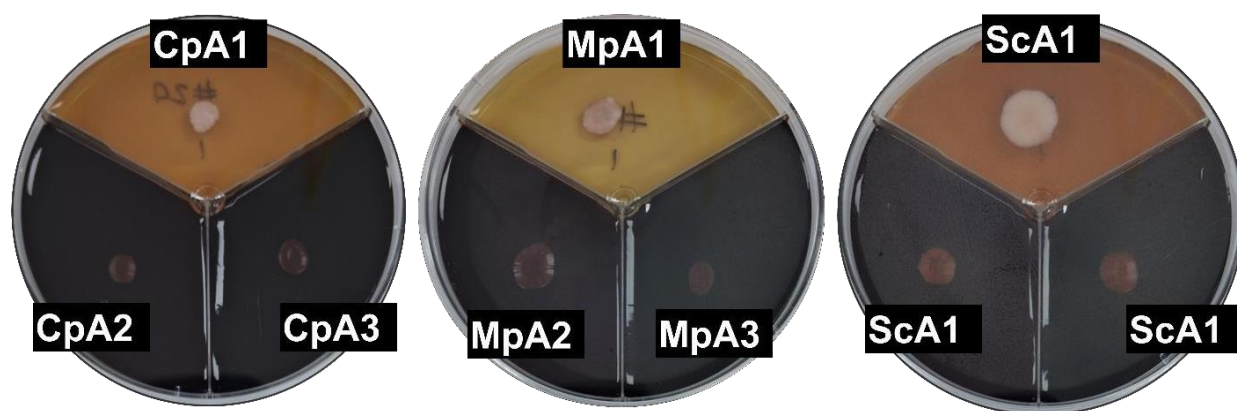


Figura 8. Producción de aminas biógenas, CpA1, cepa *Candida sp.* con adición de púrpura de bromocresol al 0.0015%; CpA2, cepa *Candida sp.* con adición de púrpura de bromocresol al 1%; CpA3, cepa *Candida sp.* con adición de púrpura de bromocresol al 2%. MpA1, cepa *M. pulcherrima* con adición de púrpura de bromocresol al 0.0015%; MpA2, cepa *M. pulcherrima* con adición de púrpura de bromocresol al 1%; MpA3, cepa *M. pulcherrima* con adición de púrpura de bromocresol al 2%. ScA1, cepa de *S. cerevisiae* con adición de púrpura de bromocresol al 0.0015%; ScA2, cepa de *S. cerevisiae* con adición de púrpura de bromocresol al 1%; ScA3, cepa de *S. cerevisiae* con adición de púrpura de bromocresol al 2%.

## 6. Discusión

### 6.1 Identificación morfológica y molecular

En el presente estudio se identificaron cepas de levaduras pertenecientes al género *Candida sp.* y *Metschnikowia sp.* en ambos puntos de muestreo, demostrando así la presencia de otras especies Ns en los viñedos de la región. Asimismo, el aislamiento e identificación de *Saccharomices sp.* en el viñedo de Viñas del Tigre sugiere la posible

presencia de levaduras de este género adaptadas a esta zona vitivinícola. Estos resultados concuerdan con un estudio hecho por Sánchez (2008), en el que se aislaron levaduras de fermentaciones espontáneas de uva Carignan procedente del valle de Guadalupe, logrando identificar molecularmente a dos cepas de *Saccharomices* sp. y la presencia del género *Metschnikowia*.

En un estudio realizado por Rangel y Suarez (2022) se observó la existencia de cepas del género *Candida* que presentaban diferentes formas unicelulares, esféricas, ovoides, elipsoidales e incluso alargadas, sin embargo, todas presentaban una coloración blanca. En el caso del presente estudio se encontraron cepas que presentaban formas elongadas, ovaladas, apiculadas y esféricas, por lo que sí existe variedad morfológica a nivel unicelular; no obstante, las levaduras no presentaron coloración blanca, pero sí de tonos variados como las cepas Cp-T4, Cp-T5, Cp-E1, Cp-E2, Cp-E3 y Cp-E4 que presentaban tonos combinados de azul y rosa pálido y otras tornaron color crema-verdoso como Cp-T1 y Cp-T6; Cp-T3, que presentó un centro más oscuro con bordes claros de tonos verdes y Cp-T2 con una coloración completa de un tono verde oscuro. Las cepas de *M. pulcherrima* de Tecate presentaron la misma coloración, de color rosado, con la diferencia de parte de la cepa Mp-T1 al presentar un borde más claro y visible que las demás, y aunque la mayoría mostró una forma unicelular esférica, la Mp-T2 fue la excepción con una forma ovalada. En Ensenada se encontró una cepa con el mismo morfotipo que en Tecate y otra diferente que presentaba una coloración verde y con células en forma ovalada y apiculada (Mp-E2); sin embargo, en el estudio de Testa et al. (2024), se aislaron en medio WL obteniendo colonias de un tono azul cielo, característica muy diferente a lo encontrado. Mientras que Vicente et al. (2020) menciona

que estas levaduras tienen forma ovoidal y presentan pseudohifa en condiciones anaeróbicas, de igual manera, en el estudio hecho por Sidari et al. (2021) se obtuvieron resultados similares con células elongadas y agrupadas.

Las cepas de *S. cerevisiae* también presentaron diferente morfotipo, pudiendo observar que solo tres de las cuatro cepas mostraron la característica de ser color azul-rosado, pero con forma esférica Sc-E1, Sc-E2, y con forma elongada y esférica Sc-E3, la cepa Sc-E4 tenía una coloración verde-blanquecino con levaduras en forma esférica; sin embargo, como menciona Ochoa et al. (2019) el color y forma de *S. cerevisiae* cambia dependiendo del medio. Bajo un crecimiento en medio WL generalmente esta especie presenta una coloración blanca, lisa y cremosa, mientras que su forma se presenta de forma elipsoidal o alargadas. Contrario a esto, en un estudio realizado por Sun et al. (2024) se aislaron levaduras de esta especie en medio WL y se observó que las colonias presentaban color azul-verdoso con superficie lisa y bordes suaves y forma unicelular esféricas u ovaladas, presentando semejanzas a nivel unicelular con las cepas de este estudio, y con los descriptores de la morfología de las colonias, exceptuando su color.

## **6.2 Tolerancia a diferentes factores de estrés**

Todas las cepas de los tres géneros de levaduras aislados presentaron osmotolerancia hasta 50% de glucosa, equivalente a 50 °Brix, lo que permite que las levaduras puedan seguir sobreviviendo a medios altos en azúcares. En un estudio hecho por Tofalo et al. (2009) se demostró que especies del género *Candida*, tales como *Candida apicola* y *Candida zemplinina* son altamente osmotolerantes, presentando crecimiento de algunas de sus cepas hasta en 60% glucosa. Además, Lanieva y Podgorsky (2020) estudiaron una cepa de *Metschnikowia pulcherrima*, observando su crecimiento en medio con

concentraciones de hasta 50% de glucosa. Estos resultados apuntan a que las cepas *Ns* presentan mayor disponibilidad a crecer en medios con alto contenido de sólidos solubles.

En el caso de las cepas estudiadas de *S. cerevisiae*, se demostró su alta tolerancia en el estudio de Zhang *et al.* (2024) al sobrevivir en medios fermentativos en concentraciones de 370 mg/L y 450 mg/L. En el caso de 500 y 550 g/L, las fermentaciones fueron más lentas, pero de igual manera sobrevivieron, existiendo correlación con lo obtenido en el estudio, ya que todas las cepas de *S. cerevisiae* sobrevivieron en 50% glucosa.

La tolerancia que presentan las levaduras del género *Candida* al etanol en general es alta, en valores del 16%, aunque se observó una gran diversidad entre cepas del mismo género, en función del pH del medio. Se ha demostrado la tolerancia de especies como *Candida ethanolica* y *Candida intermedia* hasta en 12% de etanol, seguido de *Candida glabrata* con 11% (Mukherjee *et al.*, 2017). En concordancia, las especies del género *Candida* identificadas en la región presentan de mediana a una alta tolerancia al etanol, asemejándose a las condiciones de etanol del producto final de los vinos.

La especie *M. pulcherrima* es conocida por su baja tolerancia al etanol, soportando 4% a 4.8% de etanol durante una fermentación a pH de 3.35 (Testa *et al.*, 2024). Este comportamiento se observó también en el presente trabajo, con dos cepas de *M. pulcherrima* tolerantes a 6% de etanol con pH 3.5. En contraste, tres de las cepas de esta misma especie tuvieron un crecimiento a 12% de etanol, lo que concuerda con lo obtenido por Barbosa *et al.* (2018), en el que se obtuvo una levadura *M. pulcherrima* capaz de sobrevivir hasta 12% de etanol, que hasta ese momento era la única de esta

especie en sobrevivir tal concentración de etanol. Aunado a lo anterior, en este estudio se encontró una cepa más tolerante a 16% de etanol a pH 3.5, lo que demuestra que, dentro de la misma especie, existen diferentes niveles de tolerancia en medios muy similares a los de una fermentación.

Aunque *S. cerevisiae* puede tolerar hasta 15% de etanol (Abdulla *et al.*, 2022) en este estudio se obtuvieron resultados contrastantes. Por un lado, una cepa tolero 16% de etanol con un buen crecimiento; y, por otro lado, tres cepas crecieron idóneamente, pero hasta 9% de etanol. Estos resultados indican que existen cepas que pueden tolerar altas concentraciones de etanol, pero también existen cepas de *S. cerevisiae* que no son altamente tolerantes.

Con relación a la tolerancia al cobre, Grazia *et al.* (2019) demostró que cepas de *M. pulcherrima* crecían hasta en 400 mM de  $\text{CuSO}_4$ , tanto a pH 6 como pH 3.5. En esta misma investigación se evaluó la tolerancia a la oxidación, identificando cepas con tolerancia de hasta 250 mM de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Por su parte, Lanieva y Podgorsky (2020) determinaron que la cepa de *M. pulcherrima* fue la única en presentar un alto crecimiento bajo estas condiciones, mostrando inhibición hasta 1 M de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

En cuanto a la tolerancia al cobre de las cepas *S. cerevisiae*, se demostró que las levaduras de esta especie en el presente estudio son más resistentes, ya que el total de las levaduras sobrevivieron hasta en 400  $\mu\text{M}$  de  $\text{CuSO}_4$ ; mientras que las del estudio de Capece *et al.* (2018) sólo unas pocas cepas sobrevivieron en estas concentraciones. Además, en un estudio realizado a cepas de *S. cerevisiae* se demostró que el cambio de coloración de los cultivos es debido a la oxidación de los azúcares reductores, funcionando como indicador ante la presencia de grandes depósitos de cobre en la pared

celular de las levaduras (Ruta y Farcasanu, 2021), aspecto de importancia para el conocimiento de la resistencia de las levaduras a las diferentes concentraciones de cobre recibidas durante el crecimiento vegetativo de la uva.

Las cepas de *S. cerevisiae*, al igual que las otras levaduras, presentaron alta tolerancia a la oxidación, incluso a 1 M. Este mecanismo de resistencia frente a las especies reactivas del oxígeno se ha relacionado con otras características celulares, como la permeabilidad de membrana, y con la producción de etanol (Landolfo *et al.*, 2008).

Las levaduras del género *Candida* lograron presentar el mismo grado de tolerancia al cobre en ambos pH, tal y como describieron Lanieva y Podgorsky (2020). Sin embargo, en este mismo estudio se obtuvieron datos opuestos en la tolerancia a la oxidación, presentando una gran tolerancia las levaduras estudiadas de la región.

### **6.3 Potencial en la producción y asimilación de compuestos.**

De todas las cepas estudiadas, sólo cinco presentaron producción de ácidos. En este sentido, hay una correlación con las observaciones de Lanieva y Podgorsky (2020), ya que, aunque ellos sólo estudiaron una cepa de *M. pulcherrima*, esta presentó asimilación de ácido málico, no produjo ácidos a partir de glucosa y tampoco asimiló ácido acético, teniendo similitud al estudio con lo obtenido en cuanto a la asimilación de ácido málico. Sin embargo, si hubo asimilación del ácido acético y producción solo por una cepa. Se ha comprobado que la asimilación de ácidos como el málico y acético por parte de la especie puede influir en la producción de la acidez volátil en fermentaciones secuenciales (Vicente *et al.*, 2020).

Las cepas de *Candida spp.* de este estudio mostraron diferentes grados de asimilación del ácido málico, ácido acético y de su producción de ácidos, lo que se correlaciona con lo obtenido por Lanieva y Podgorsky (2020), donde cepas de la misma especie presentaban variabilidad. Esto demuestra que la capacidad de metabolizar los compuestos anteriormente mencionados está directamente relacionada a la cepa y no a la especie.

Por otro lado, ninguna de las cepas presentó producción de aminas biógenas. No hubo producción de aminas biógenas por parte de las cepas de *M. pulcherrima*, lo que se correlaciona con lo obtenido por Lanieva y Podgorsky (2020). Aun cuando se tiene registrado producción de aminas biógenas por parte de la especie *S. cerevisiae* de hasta 12.14 mg L (Guo *et al.*, 2015), en el presente estudio no hubo producción de aminas biógenas.

En cuanto a la asimilación y producción de ácidos, las levaduras *Saccharomyces* pueden producir y metabolizar el ácido acético durante la fermentación alcohólica (Vasserot, 2010); sin embargo, solo una de las cuatro cepas produjo ácidos. Por otro lado, tres de las cuatro cepas asimilaron el ácido acético, demostrando que hay variabilidad de metabolización entre cepas. De igual manera, el ácido málico puede ser producido y asimilado por *S. cerevisiae* durante la fermentación alcohólica, y depende de las condiciones del medio para que estos procesos sucedan (Pinu, 2014); no obstante, la asimilación del ácido málico por parte de las cepas fue débil.

## Conclusión

El objetivo de este trabajo fue evaluar las características enológicas de las levaduras silvestre de diferentes regiones de Baja California, obteniendo resultados favorables y de interés para la producción de vinos y el desarrollo de la fermentación alcohólica. Con este estudio se logró descubrir que las levaduras son capaces de sobrevivir a condiciones desfavorables, y aunque solo siete cepas lograron sobrevivir a 16% de etanol a 3.5 de pH, todas lograron hacer frente a la osmotolerancia con cantidades iguales a 50 °brix e incluso a condiciones adversas de concentraciones de oxidación y sulfato de cobre. En cuanto a la producción y asimilación de compuestos, fue favorable obtener respuesta negativa a la producción de aminas biógenas por parte del total de levaduras. Además, todas las cepas pudieron asimilar, aunque sea mínimamente el ácido málico, y por otro lado, fueron pocas las levaduras que presentaron producción de ácidos, el cual se relaciona más con la producción de ácido acético, y también, fueron pocas las que lograron asimilar el ácido acético.

Así mismo, el objetivo de este trabajo fue evaluar comparando entre especies obtenidas, mostrando así que, en número de cepas por especie, predominó el género *Candida spp.*, siendo la mitad de cepas de este género, las capaces de sobrevivir hasta 16% de etanol, y también la mitad de este género presentó mayor capacidad de asimilar óptima o medianamente el ácido acético, por otro lado, se ha de destacar la capacidad de una cepa *M. pulcherrima* por sobrevivir hasta 16% de etanol, y por presentar solo en una cepa la capacidad de producir ácidos, por otro lado, contrario a lo esperado, sólo una cepa de *S. cerevisiae* fue capaz de sobrevivir a 16% de etanol. El estudio de estas levaduras se puede ampliar para posteriores estudios que ayuden a caracterizar mejor

las levaduras y su capacidad para llevar a cabo fermentaciones de diferentes estilos de vino y poder fungir como inóculo sustituyente de LSA.

## Literatura citada

Abdulla, R., Ahmad, N. H., Sabullah, M. K., & Gansau, J. A. (2022, November). Characterization of wild type yeast isolated from Sabah soil for environmental friendly biofuel production. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1103, No. 1, p. 012024). IOP Publishing.

Agarbati, A., Canonico, L., Comitini, F., & Ciani, M. (2022). Ecological distribution and oenological characterization of native *Saccharomices cerevisiae* in an organic winery. *Fermentation*, 8(5), 224.

Aguilar, I. B., Cordón, E. N. L., Alonso, A., Díaz, D. M., & Santos, A. (2015). Levaduras no-*Saccharomices* y su interés enológico. *Enoviticultura*, (37), 30-33.

Aslankoochi, E., Herrera-Malaver, B., Rezaei, M. N., Steensels, J., Courtin, C. M., & Verstrepen, K. J. (2016). Non-conventional yeast strains increase the aroma complexity of bread. *PLoS One*, 11(10), e0165126.

Barbosa, C., Lage, P., Esteves, M., Chambel, L., Mendes-Faia, A., & Mendes-Ferreira, A. (2018). Molecular and phenotypic characterization of *Metschnikowia pulcherrima* strains from Douro wine region. *Fermentation*, 4(1), 8.

Capece, A., Romaniello, R., Scrano, L., Siesto, G., & Romano, P. (2018). Yeast starter as a biotechnological tool for reducing copper content in wine. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2632.

Chen, Y., Jiang, J., Song, Y., Zang, X., Wang, G., Pei, Y., ... & Liu, Y. (2022). Yeast diversity during spontaneous fermentations and oenological characterisation of indigenous *Saccharomices cerevisiae* for potential as wine starter cultures. *Microorganisms*, 10(7), 1455.

Dequin, S., & Casaregola, S. (2011). The genomes of fermentative *Saccharomices*. *Comptes rendus biologies*, 334(8-9), 687-693.

Fazio, N. A., Russo, N., Foti, P., Pino, A., Caggia, C., & Randazzo, C. L. (2023). Inside current winemaking challenges: Exploiting the potential of conventional and unconventional yeasts. *Microorganisms*, 11(5), 1338.

Fernández, J. M. C., & Rodríguez, M. E. J. (2010). El singular mundo de las levaduras enológicas. *Actualidad SEM*, 49, 35-40.

- Fleet, G. H. (2008). Wine yeasts for the future. *FEMS yeast research*, 8(7), 979-995.
- Guo, Y. Y., Yang, Y. P., Peng, Q., & Han, Y. (2015). Biogenic amines in wine: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(7), 1523-1532.
- Grazia, A., Pietrafesa, A., Capece, A., Pietrafesa, R., Siesto, G., & Romano, P. (2019). Exploitation of technological variability among wild non-*Saccharomices* yeasts to select mixed starters for the production of low alcohol wines. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 15, p. 02031). EDP Sciences.
- Hidalgo, T. J. (2003). Capítulo IX Transformaciones microbianas. Levaduras, bacterias y virus. *Tratado de Enología* (pp. 477-577). Editorial Mundi-Prensa.
- Hranilovic, A., Albertin, W., Capone, D. L., Gallo, A., Grbin, P. R., Danner, L., ... & Jiranek, V. (2021). Impact of *Lachancea thermotolerans* on chemical composition and sensory profiles of Merlot wines. *Food chemistry*, 349, 129015.
- Jolly, N. P., Augustyn, O. P. H., & Pretorius, I. S. (2006). The role and use of non-*Saccharomices* yeasts in wine production. *South African Journal of enology and viticulture*, 27 (1), 17-39.
- Kurtzman, C. P., Fell, J. W., Boekhout, T., y Robert, V. (2011). Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeasts. *The yeasts* (pp. 87 110). Elsevier.
- Landolfo, S., Politi, H., Angelozzi, D., & Mannazzu, I. (2008). ROS accumulation and oxidative damage to cell structures in *Saccharomices cerevisiae* wine strains during fermentation of high-sugar-containing medium. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1780(6), 892-898.
- Lanieva, O., & Podgorsky, V. (2021). Enological potential of non-*Saccharomices* yeast strains of enological and brewery origin from Ukrainian Collection of Microorganisms. *Mycology*, 12(3), 203-215.
- Meier-Dörnberg, T., Hutzler, M., Michel, M., Methner, F. J., & Jacob, F. (2017). The importance of a comparative characterization of and *Saccharomices pastorianus* strains for brewing. *Fermentation*, 3(3), 41.
- Mesas, J.M. & Alegre, M.T. (1999). El papel de los microorganismos en la elaboración del vino. *Ciencia y tecnología alimentaria*, 2:4, 174-183.

Mestre Furlani, M. V., Maturano, Y. P., Combina, M., Mercado, L. A., Toro, M. E., & Vazquez, F. (2017). Selection of non-*Saccharomices* yeasts to be used in grape musts with high alcoholic potential: A strategy to obtain wines with reduced ethanol content. *FEMS Yeast Research*, 17(2), fox010.

Mukherjee, V., Radecka, D., Aerts, G., Verstrepen, K. J., Lievens, B., & Thevelein, J. M. (2017). Phenotypic landscape of non-conventional yeast species for different stress tolerance traits desirable in bioethanol fermentation. *Biotechnology for biofuels*, 10, 1-19.

Ochoa, A. A., Rodríguez, A. B., Cavanzo, E. S., & Santamaría, S. T. (2019). Identificación morfológica, fisiológica y molecular de levaduras del género *Saccharomices* para la elaboración de cerveza. *Mente Joven*, 8, 55-64.

Organización Internacional de la viña y el vino (OIV). (2017) Resolución OIV-OENO 576A-2017. Disponible online: <https://www.oiv.int/public/medias/5370/oiv-oeno-576a-2017-en.pdf> (Recuperado el 18 de agosto del 2024).

Pinu, F. R., Edwards, P. J., Gardner, R. C., & Villas-Boas, S. G. (2014). Nitrogen and carbon assimilation by *Saccharomices cerevisiae* during Sauvignon blanc juice fermentation. *FEMS yeast research*, 14(8), 1206-1222.

Rangel Riaño, A. L., & Suárez Contreras, L. Y. (2022). Potencial biotecnológico de levaduras identificadas en Norte de Santander. *Prospectiva (1692-8261)*, 20(1).

Ruta, L. L., & Farcasanu, I. C. (2021). *Saccharomices cerevisiae* concentrates subtoxic copper onto cell wall from solid media containing reducing sugars as carbon source. *Bioengineering*, 8(3), 36.

Sanchez, C. L. E. (2008). *Aislamiento e identificación de levaduras de la vid Vitis vinifera: (var. Carignane), cultivada en el Valle de Guadalupe, B.C., México* /. [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California].

Santamaría, P., Garijo, P., Tenorio, C., López, R., & Gutiérrez, A. R. (2007). Presencia de levaduras autóctonas en bodegas que practican la inoculación reiterada con Levaduras Secas Activas. *Tecnología del vino: Tratamientos y equipos para viticultura y enología*, 18, 40-47.

Sidari, R., Ženišová, K., Tobolková, B., Belajová, E., Cabicarová, T., Bučková, M., ... & Pangallo, D. (2021). Wine yeasts selection: Laboratory characterization and protocol review. *Microorganisms*, 9(11), 2223.

Siesto, G., Corbo, M. R., Pietrafesa, R., Sinigaglia, M., Romano, P., & Bevilacqua, A.

(2022). Screening of *Saccharomices* and Non-*Saccharomices* wine yeasts for their decarboxylase activity of amino acids. *Foods*, 11(22), 3587.

Sun, Q., Ma, J., Basit, R. A., Fu, Z., Liu, X., & Fan, G. (2024). Screening of a *Saccharomices cerevisiae* strain with high 3-methylthio-1-propanol yield and optimization of its fermentation conditions. *Foods*, 13(9), 1296.

Šuranska, H., Vránová, D., & Omelková, J. (2016). Isolation, identification and characterization of regional indigenous *Saccharomices cerevisiae* strains. *Brazilian journal of microbiology*, 47, 181- 90.

Tofalo, R., Chaves-López, C., Di Fabio, F., Schirone, M., Felis, G. E., Torriani, S., ... & Suzzi, G. (2009). Molecular identification and osmotolerant profile of wine yeasts that ferment a high sugar grape must. *International journal of food microbiology*, 130(3), 179-187.

Testa, B., Coppola, F., Iorizzo, M., Di Renzo, M., Coppola, R., & Succi, M. (2024). Preliminary characterisation of *Metschnikowia pulcherrima* to be used as a starter culture in red winemaking. *Beverages*, 10(3), 88.

Van Breda, V., Jolly, N., & van Wyk, J. (2013). Characterisation of commercial and natural *Torulaspora delbrueckii* wine yeast strains. *International Journal of Food Microbiology*, 163(2-3), 80-88.

Vasserot, Y., Mornet, F., & Jeandet, P. (2010). Acetic acid removal by *Saccharomices cerevisiae* during fermentation in oenological conditions. Metabolic consequences. *Food Chemistry*, 119(3), 1220-1223.

Vejarano, R., & Gil-Calderón, A. (2021). Commercially available non-*Saccharomices* yeasts for winemaking: Current market, advantages over *Saccharomices*, biocompatibility, and safety. *Fermentation*, 7(3), 171.

Vicente, J., Ruiz, J., Belda, I., Benito-Vázquez, I., Marquina, D., Calderón, F., ... & Benito, S. (2020). The genus *Metschnikowia* in enology. *Microorganisms*, 8(7), 1038.

Xu, W., Liu, B., Wang, C., & Kong, X. (2020). Organic cultivation of grape affects yeast succession and wine sensory quality during spontaneous fermentation. *Lwt*, 120, 108894.

Zamora, F. (2009). Biochemistry of alcoholic fermentation. *Wine chemistry and biochemistry* (pp. 3-26). New York, NY: Springer New York.

Zhang, Y., Chang, C. H., Fan, X. H., Zuo, T. T., & Jiao, Z. (2024). Effect of the initial glucose concentration on the performance of ice wine fermentation of Vidal grape juice. *Scientific Reports*, 14(1), 31341.