

CULTIVO DE CEPAS DE LEVADURAS DE SUELO TRUMAO EN «VINAZA»

(Cultivation of yeast strains of the trumao soil in «vinasse»)

Eduardo Valenzuela, F^{1*}, Paola Díaz, N¹., Camila Aranda, G¹.,
Osar Martínez, V¹. Roberto Godoy B²

1. Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Casilla 167. Fono 63 2221296.
2. Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

*Autor para correspondencia:evalenzu@uach.cl

RECIBIDO: 31 de Octubre de 2014

APROBADO: 26 de Noviembre de 2014

LOS AUTORES DECLARAN NO TENER CONFLICTO DE INTERESES

Palabras claves: «vinaza», levaduras de suelo trumao, fosforo, proteínas, lípidos, peso seco.

Key Word: «vinasse», yeast volcanic ash soil (Hapludans), phosphorus, proteins, fat, dry weigh.

RESUMEN

30 cepas de levaduras aisladas desde un suelo trumao (Hapludans) usado como pradera en rotación, se cultivaron individualmente ($100 \mu\text{l} = 10^2$ ufc de levaduras/mL) en matraces con 50 mL de «vinaza», estos fueron incubados en un agitador orbital a 150 rpm, 23 °C por 5 días, luego de la incubación el contenido de cada matraz se centrifugo a 3.500 rpm por 20 min., a los pellet obtenidos se les determino: el peso seco (PS); fosforo total (FT) por digestión ácida y posterior lectura a 400 nm; proteínas totales (PT) por colorimetría Biuret a 595 nm y lípidos totales (LT) mediante el método colorimétrico de la sulfo-fosfo vainillina a 520 nm. Las 30 cepas de levaduras crecieron en la vinaza. El mayor PS lo registro la cepa 25 (331 g de levadura L⁻¹ de «vinaza»). FT lo registro la cepa 28 (4,8 mg g⁻¹ de levadura seca). PT lo registro la cepa 24 (25,90 mg g⁻¹ de levadura seca) y LT lo registro la cepa 18 (287,4 mg g⁻¹ de levadura seca).

INTRODUCCIÓN

Las levaduras son hongos pertenecientes al Reino Fungi, abundantes en la naturaleza que viven

ABSTRACT

Thirty strains of yeast isolated from a volcanic ash soil (Hapludans), used as pasture rotation, were individually cultured ($100 \mu\text{l} = 10^2$ cfu of yeast cells mL⁻¹) in flasks with 50 mL of «vinasse», these were incubated at 23 °C for 5 day, after incubation the contents of each flask was centrifuged at 3500 rpm for 20 min, the pellet obtained was determined: dry weight (DW); total phosphorus (FT) by acid digestion and later reading at 400 nm; total protein (TP) by Biuret at 595 nm and total lipid (TL) by the colorimetric method of the sulfo-phospho-vanillin at 520 nm. The Thirty strains of yeast grown on vinasse. The best DW, was determined for strain 25 (331 g yeast L⁻¹ «vinasse»). FT was determined for strain 28 (4,8 mg g⁻¹ dry yeast). TP was determined for strain 24 (25,90 mg g⁻¹ dry yeast) and TL was determined for strain 18 (287,4 mg g⁻¹ dry yeast).

en una serie de reservorios (agua, suelo, hojas, flores, frutos, piel, insectos, etc.). El suelo es el último reservorio para el desarrollo de ciertas especies de levaduras (Wuczkowski y Prillinger., 2004),

encontrándose una amplia diversidad de levaduras filogenéticamente no relacionadas, incluyendo especies como *Saccharomyces cerevisiae* (asociada a bebidas fermentadas), y que forman parte de la comunidad microbiana del suelo. La diversidad de levaduras en el suelo ha sido examinada en diferentes partes del mundo, desde suelos tropicales hasta antárticos (Slavikova y Vadkertiova., 2000). La presencia de las levaduras en el suelo está dado por diversas características tales como: tipo de suelo, régimen de lluvias, clima y perturbación antrópica. Con respecto a este último, existen estudios que demuestran como la actividad humana influye sobre la diversidad y estructuras comunitarias de las levaduras en el suelo, así Slavikova y Vadkertiova (2003), evaluaron la ocurrencia de levaduras en suelo con distintos tipos de cultivo (maíz, remolacha y papas) y los compararon con suelos no labrados, determinaron que en suelos labrados existe una disminución de la población de levaduras y asocian este fenómeno al uso de pesticidas y fungicidas. De manera similar Yurkov *et al.*, (2012), analizaron la respuesta en lo que respecta a la diversidad de levaduras en suelos con diferentes tipos de manejo, el análisis de abundancia de especie y estructura de las comunidades reveló un fuerte efecto a largo plazo, en el cambio de bosque por pastizales se determinó que en suelos de pastizales albergan predominantemente levaduras Ascomycetes a diferencia de los suelos de bosque en donde la estructura de las comunidades de levaduras es más heterogénea.

En el sur de Chile, los suelos trumaos constituyen cerca del 60% de los suelos arables del país, se encuentran bajo un amplio rango de usos, desde sistemas prístinos hasta uso intensivo (Dörner *et al.*, 2009). Se sabe que el tipo de manejo que se le da al suelo repercute de algún modo sobre las comunidades microbianas, así, el estudio realizado por Huygens *et al.*, (2011) en suelos de la zona centro sur de Chile, sobre cómo influye la intensidad del manejo del suelo sobre las comunidades microbianas (bacterianas y fúngicas), se determinó que existe una variación de estas comunidades en eventos de secado y humectación del suelo, indicando que los hongos presentan mayor tolerancia al estrés hídrico. Zagal (2002) por su parte evaluó las comunidades microbianas en suelo de origen volcánico bajo distinto

manejo agronómico, determinó que el índice de actividad microbiana fue uno de los parámetro más sensible al manejo agronómico *versus* la variación del carbono orgánico.

Con respecto a comunidades de levaduras en suelos, Mestre *et al.*, (2011), sugieren que la participación de las levaduras en el ciclo de Carbono esta dado por su relación en la degradación de la hemicelulosa y que también pueden estar asociadas a procesos de agregación del suelo, por la abundante recuperación de levaduras encapsuladas que tuvieron en sus experimentos. Además, encontraron que las levaduras Basidiomycetes fueron las predominantes en todas las fracciones de suelo recuperadas (Noreste de la Patagonia Argentina). En Chile existe escasa información acerca de las comunidades de levaduras de suelo trumao, sin embargo existen algunos referentes a hongos filamentosos, como el de Valenzuela *et al.*, (2000) donde se identificaron y determinaron sus potenciales enzimáticos en suelos trumaos sometidos a diversos tipos de manejo agroforestales en la X Región y otro de Valenzuela y Martínez (2007), sobre actualización del registro de levaduras citadas en Chile.

Por otra parte, la identificación de desechos industriales con potencialidad de ser utilizado como sustrato para el cultivo de levaduras es primordial a la hora de querer masificarlas con distintos fines, tales como: alimenticios, abonos orgánicos agrícolas o forestales, bioremediación, etc. (Fathi *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2012). En este sentido, en Valdivia – Chile, una industria genera un potencial desecho que denominan localmente «vinaza» (luego del cultivo de la levadura *Sacharomyces*) la evaluación química ha revelado que posee distintos azúcares y fuentes de nitrógeno, esta «vinasa» fue utilizado con éxito por Hott (2012), para cultivar levaduras de pino y palmera con la finalidad de obtener etanol, la presente propuesta es utilizar la «vinaza» para cultivar levaduras aisladas desde una pradera permanente de suelo trumao, con la finalidad de formular un biofertilizante a base de levaduras.

MATERIAL Y MÉTODOS

a) *Características químicas de la «vinaza»*: el sustrato

«vinaza» utilizado para cultivar las levaduras fue proporcionada por la empresa de Levaduras Collico, Valdivia – Chile, mediante métodos estandarizados de la empresa se determinaron los siguientes parámetros: contenido de agua; sólidos solubles totales; densidad; pH; proteína total; materia grasa; carbohidratos solubles; glucosa; fructosa y sacarosa.

b) Recolección de muestras de suelo: tres muestras de suelo trumao (Hapludand), cada una de ellas de 200 g, fueron recolectadas desde una pradera en rotación (profundidad de 0-20 cm), ubicada en la comuna de San José de la Mariquina en el predio de Don Klaus Prehn (UTM: 673,75 E; 56625,5 N., Cuadrante H18).

c) Aislamiento y cultivo de cepas de levaduras: 10 g de la muestra de suelo a analizar se depositaron en un matraz de 300 mL, se agregaron 100 mL de agua destilada estéril, la mezcla obtenida se homogeneizó mecánicamente en un agitador orbital a 150 rpm por 20 min., luego se realizaron diluciones seriadas hasta 10^6 , cada dilución se sembró independientemente, para ello 1 mL de la dilución respectiva fue depositado en una placa Petri estéril y vacía, a la placa se le agregaron 0,3 mL de una mezcla de antibióticos (penicilina y estreptomycin 1:1) y 15 mL de agar Sabouraud, la placa se roto para mezclar, se dejó solidificar y finalmente se incubó a 23 °C por 5 días. Las colonias de levaduras que se formaron fueron repicadas en placas con agar Sabouraud sin antibióticos e incubadas a 23 °C por 5 días, tras lo cual se realizaron preparaciones en fresco (usando agua destilada como líquido de montaje) para corroborar que se tratara de levaduras y determinar su pureza. Así se lograron rescatar 30 cepas de levaduras.

d) Cultivo de cepas de levaduras en «vinaza»: cada cepa de levadura se cultivo por triplicado, para ello se procedió de la siguiente forma. En un matraz que contenía 50 mL de «vinaza» previamente esterilizada en autoclave (121 °C por 15 min.) se inocularon 100 μ l (= a 10^2 ufc de levaduras/mL) de la cepa de levadura en estudio, los matraces se incubaron en un agitador orbital a 150 rpm, 23 °C por 5 días.

e) Determinación de parámetros de crecimiento: como medidas del crecimiento de las levaduras cultivadas

en la «vinaza» se determinaron: (1) el Peso Seco (PS), cumplido los 5 días de agitación el contenido del matraz se depositó en tubos centrifugas, se centrifugaron a 3.500 rpm por 20 min., los pellet obtenidos se rescataron del tubo, se depositaron en un papel aluminio (previamente pesado) y se pesaron en una balanza analítica, obteniendo así el peso fresco, luego se secaron en un horno a 70 °C, hasta obtener peso constante (aprox. 48 horas), el PS se calculó, restando el seco obtenido al peso fresco inicial del pellet. (2) Fósforo Total (FT) se determinó por digestión ácida y lectura de la absorbancia (A) a 400 nm. (3) Proteínas Totales (PT), por colorimetría Biuret lectura de (A) a 595 nm y Lípidos Totales (LT), mediante el método colorimétrico de la sulfo-fosfo vainillina lectura de (A) a 520 nm. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

f) Análisis estadístico: a los valores matemáticos de los diferentes parámetros se les determinó la media y desviación estándar. Posteriormente se evaluaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad de varianza. Para el tratamiento estadístico se realizó un análisis de varianza (ANDEVA), aplicando test de Tukey ($P \leq 0,05$). El tratamiento estadístico fue realizado con el programa Statistica 7.0.

RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo a Lezcano y Mora (2005), se define vinaza como «Líquido espeso que queda después de la fermentación y/o destilación con un color café oscuro», el residuo utilizado comparte el color oscuro pero no proviene de la destilación o fermentación, proviene del cultivo de levadura para panificación. En la Tabla 1, se muestran los principales parámetros químicos determinados en la «vinaza» utilizada para el cultivo de cepas de levaduras, destacan, la cantidad de carbohidratos solubles 8%, la proteína total 2,6 % y la ausencia de sacarosa 0,0 %. Respecto a los constituyentes de la vinaza según Silva *et al.*, (2011) estos varían en gran proporción, pues depende del origen de la vinaza, así por ejemplo la vinaza obtenida después de la producción de bioetanol y cachaza que fue usada posteriormente en sus experimentos, contenía: 0,18 % de azúcares totales, proteínas 0,33 % y sacarosa 0,04%, los dos primeros parámetros son inferiores a los determinados en la vinaza utilizada en

la presente investigación y la presencia de sacarosa supera ampliamente este parámetro, pues no fue registrada en la «vinaza» de la presente investigación. Por su parte García y Rojas (2006), señalan que la vinaza de la caña de azúcar contiene una variedad de nutrientes vegetales, así, posee un 18% de carbono oxidable, un 5,9 % de proteína totales, una serie de ácidos orgánicos y azúcares entre ellas sacarosa 0,21 %, los dos primeros parámetros son superiores a los determinados en la vinaza utilizada en la presente investigación y la presencia de sacarosa difiere pues la vinaza de la presente investigación carece de ella. Como se puede deducir de los trabajos antes citados la vinaza va a depender de la materia prima que la origina y la concentración de sólidos totales que contenga. En la presente investigación se utilizó el residuo que queda después del cultivo de levadura comercial, denominado «vinaza», esta por poseer sólidos totales 10 ° Brix, correspondería a una vinaza diluida.

Tabla 1. Caracterización química de «vinaza» de la empresa Levaduras Collico Valdivia – Chile

Parámetros determinados en «vinaza»	Cantidad
Contenido de agua	94,1 g L ⁻¹
Sólidos solubles totales	10 ° Brix
Densidad	1,047 g cc ⁻¹
pH	6,6
Proteína total	2,6 %
Materia grasa	0,004 %
Carbohidratos solubles	8,0 %
Glucosa	1,8 %
Fructosa	1,8 %
Sacarosa	0,0 %

En la Tabla 2, se muestran los resultados promedios de los parámetros evaluados: Peso Seco (PS), Fósforo Total (FT), Proteínas Totales (PT) y Lípidos Totales (LT), de las levaduras cultivadas en «vinaza». Con respecto a el PS, este varió entre 168 (cepa 7) a 3314 mg de levadura L⁻¹ de «vinaza», este último valor fue obtenido con la cepa 25, el análisis estadístico indica que existen diferencias significativas (P > 0,05) entre algunas cepas de levaduras. En lo que respecta

a FT, este varió entre 0,3 (cepa 29) a 4,8 mg g⁻¹ de levadura seca, este último valor fue determinado para la cepa 28, el análisis estadístico indica que existen diferencias significativas (P > 0,05) entre algunas cepas de levaduras. Referente a PT, estas variaron entre 7,80 (cepa 12) a 25,90 mg g⁻¹ de levadura seca, este último valor fue determinado para la cepa 24, el análisis estadístico indica que existen diferencias significativas (P > 0,05) entre algunas cepas de levaduras. Finalmente los LT variaron entre 63,9 (cepa 16) a 287,4 mg g⁻¹ de levadura seca, este último valor fue determinado para la cepa 18, el análisis estadístico indica que existen diferencias significativas (P > 0,05) entre algunas cepas de levaduras.

Tauk (1982), utilizó vinaza y melaza sin y con modificaciones químicas para el cultivo de especies de *Candida*, la autora propuso 13 medios de cultivos, algunos modificados con distintas fuentes de nitrógeno, fósforo, sales minerales y pH, en cada medio cultivo una especie distinta de levadura del género *Candida* (en total 7 especies) y se midieron distintos parámetros. En el medio de cultivo denominado vinaza sola a pH 5.0 todas las cepas de *Candida* crecieron (al igual que en la presente investigación) y el mayor peso seco obtenido fue 4,6 g/L para *Candida utilis* y el menor peso seco fue 1,4 g/L para *Candida guilliermondii*, en la presente investigación el mayor peso seco fue de 3314 mg/L (= 3,314 g/L) y el menor 168 mg/L (= 0,168 g/L), siendo inferior al obtenido por Tauk (1982), esta misma autora señala que el peso seco más alto fue registrado para *Candida krusei* con 8,3 g/L en vinaza adicionada al 0,03 % de K₂SO₄ a pH 5.0 y no se registró crecimiento para *Candida tropicalis* en vinaza más 0,05 % (NH₄)₂SO₄ y vinaza más 0,03% K₂SO₄. En lo que respecta a producción de proteína en vinaza sola Tauk (1982), determinó un máximo de 45,8 % para *C. utilis* y un mínimo de 20,1 % para *C. guilliermondii*, Por su parte Silva *et al.*, (2011) determinaron diversos parámetros químicos en cultivos de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida parapsilosis* realizados en vinaza luego de la obtención de bioetanol y la elaboración de cachaza, los autores señalan que la biomasa obtenida varió entre 0.7 y 15.0 g L⁻¹, ambos valores obtenidos para cepas de *S. cerevisiae*, en lo que respecta a proteínas determinaron como promedio un 56,25 %, siendo el porcentaje menor 44,68%

Tabla 2. Resultados promedios de peso seco, fosforo total, proteínas totales y lípidos totales determinados en cepas de levaduras cultivadas en «vinaza» de la empresa Levaduras Collico Valdivia - Chile.

CEPA DE LEVADURA	PARAMETROS (mg g ⁻¹ de levadura seca)			
	PESO SECO (mg L ⁻¹ de melaza)	FOSFORO TOTAL	PROTEINAS TOTALES	LIPIDOS TOTALES
1	1926c	3,6b	8,80c	161,0b
2	439d	1,0d	15,80b	256,8a
3	1680c	1,7d	20,50a	199,4b
4	1485c	2,7c	10,80b	158,2b
5	439d	2,9c	12,10b	114,1b
6	1633c	1,7d	12,20b	258,9a
7	168d	1,3d	12,10b	261,0a
8	1540c	2,4c	9,20c	128,5b
9	346d	1,6d	17,80b	217,2a
10	1566c	3,2b	13,50b	240,0a
11	2175b	2,3c	10,60b	130,7b
12	2425b	2,6c	7,80c	248,7a
13	1967c	2,1c	17,60b	160,6b
14	841d	3,9b	17,60b	261,0a
15	994d	3,4b	8,10c	148,7b
16	1311c	1,1d	11,00b	63,9c
17	1844c	1,0d	10,70b	211,0a
18	2065b	2,4c	16,40b	287,4a
19	1945c	2,5c	14,20b	131,7b
20	1566c	2,0c	15,20b	187,5b
21	2237b	3,1b	23,20a	72,70
22	2357b	1,3d	16,60b	132,9b
23	2782b	1,0d	23,00a	143,1b
24	1831c	0,9e	25,90a	176,2b
25	3314a	0,4e	13,40b	97,3c
26	2042b	0,8e	20,80a	162,6b
27	2067b	2,3c	13,20b	187,9b
28	2261b	4,8a	12,50b	128,8b
29	2858b	0,3e	22,60a	212,6a
30	2170b	1,6d	17,40b	127,0b

Valores con letras minúsculas distintas en la misma columna difieren estadísticamente en forma significativa ($P < 0,05$).

y el mayor 68,43 % ambos determinados para *S. cerevisiae* cepa UFLA CA271. Por otra parte, Ferrer *et al.*, (2004) determinaron la producción de proteínas usando la cepa de *C. utilis* (ATCC 9256) y *S. cerevisiae* (ATCC 26603) cultivadas en melaza de caña de azúcar, determinaron un 53,0 y un 47,8 % respectivamente. Gutiérrez y Gómez (2008), determinaron la producción

de proteína total para cepas distintas de *S. cerevisiae* y *C. utilis* también en bagazo de caña (melaza), la cual fue de 45 y 49% respectivamente. En la presente investigación el máximo de proteína registrado fue de 25,90 mg g⁻¹ de levadura seca (= 25,9 %) para la cepa 24 y el mínimo fue de 7,8 mg g⁻¹ de levadura seca (= 7,8 %) para la cepa 12, estos valores son

inferiores a los señalados por los autores anteriormente citados y consideramos se deben a la composición química de la «vinaza» usada, autores como García y Rojas (2006), señalan crítica la relación carbono : nitrógeno (C:N), esta debe ser idealmente de 10 : 1.

Referente al fósforo Tauk (1982), señala que obtuvo un 5,1 % para *Candida membranaefaciens* y un 1,5 % para *C. utilis*, por su parte Ferrer *et al.*, (2004) determinaron un 1,6 % y un 1,8 % de fósforo para *S. cerevisiae* *C. utilis*, en la presente investigación la cepa 29 registro la menor cantidad de fósforo 0,3 mg g⁻¹ de levadura seca (= 0,3%), por su parte, la cepa 28 registro la mayor cantidad de fósforo 4,8 mg g⁻¹ de levadura seca (= 4,8 %), este último valor se asemeja más al obtenido por Tauk (1982) y es superior a los determinados por Ferrer *et al.*, (2004). Finalmente en lo que respecta a los lípidos totales Rodríguez *et al.*, (2011) usaron destilados de vinaza para cultivar *C. utilis* para ser utilizada como alimento para aves de corral, señalan que *C. utilis* contiene un 22,33 g/kg de lípidos totales. Rodríguez *et al.*, (2012), al realizar el cultivo de *C. utilis* en destilados de vinaza obtenida del destilado de caña de azúcar registraron 23.66 g/kg de lípidos totales y 729 mg/100 g ácido linoleico. Además señalan que el 35,24% son ácidos grasos saturados, un 29,68 % son ácidos grasos monoinsaturados y 35,08% son ácidos grasos poliinsaturados. Por su parte Harder *et al.*, (2013) utilizaron diversos residuos mezclados con vinaza para cultivar cepas de levaduras (*Cryptococcus laurentii* 11; *Cryptococcus sp.nov3*; *Lipomyces starkeyi* JAL 425; *Lipomyces starkeyi* JAL572; *Lipomyces starkeyi* JAL 576; *Lipomyces starkeyi* JAL 581; *Rhodotorula graminis* CBS 2826; *Tricosporon sp.nov.1* y *Yarrowia*

lipolytica) con la finalidad de obtener lípidos para ser utilizados en la producción de biofuels. El mayor porcentaje de lípidos totales fue 29,69 % para la cepa de *R. graminis* CBS 2826 y el menos porcentaje de lípidos totales fue 5,36% para *Y. lipolytica*, en la presente investigación las cantidades de lípidos totales caen dentro de los rangos señalados por este último autor, aun más la menor cantidad (63,9 mg g⁻¹ de levadura seca determinada en la cepa 16) es superior a la determinada por Harder *et al.* (2013) para *Y. lipolytica*. Pero difieren de los valores determinados por Rodríguez *et al.*, (2012), estas diferencias se deberían a la composición química de la «vinaza» utilizada en la presente investigación.

CONCLUSIONES

La «vinaza» generada por la planta de Levaduras - Collico, puede ser utilizada como un sustrato aceptable para el cultivo de levaduras aisladas desde una pradera en rotación de un suelo trumao y los resultados de los distintos parámetros utilizados como medida de crecimiento, son similares a los indicados en la literatura para otras levaduras cultivadas en residuos similares.

Las levaduras cultivadas en la «vinaza» ensayada, por poseer una buena cantidad de proteínas, fósforo y lípidos podrían ser utilizadas para distintos fines, tales como: suplemento proteico para alimentos, obtención de lípidos y formulación de biofertilizantes.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto FONDECYT 1141066.

REFERENCIAS

Dörner, J., Dec, D., Peng, X. y Horn, R. (2009). Efecto del cambio de uso en la estabilidad de la estructura y la función de los poros de un andisol (typic hapludand) del sur de Chile. Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal, 9:190-209.

Fatih, M. y Balat M. Biowastes-to-biofuels. (2011). Energy Conversion and Management, 52:1815–1828.

Ferrer, J., Davalillo, Y., Chandler, C., Páez, Z y Ramones, E. (2004). Producción de proteína microbiana a partir de los desechos del procesamiento de la caña de azúcar (bagacillo). Arch. Latinoam. Prod. Anim. 12(2): 59-65.

García, A. y Rojas, C. (2006). Posibilidades de uso de la vinaza en la Agricultura de acuerdo con su modo de acción en los suelos. www.tecnica.org/pdf/2006/

tec_v10_no17_2006_p3-13.pdf

Gutiérrez, L. y Gómez, A. (2008). Determinación de proteína total de *Candida utilis* y *Sacharomyces cerevisiae* en bagazo de caña. Revista Lasallista de Investigación, 5 (1): 61-64.

Harder, M., Delabio, A., Cazassa, S., Remedio, R., Pires, J., Monteiro, T. y Arthur, V. (2013). Lipid production by *Yarrowia lipolytica* for biofuels. Materials and processes for energy: communicating current research and technological developments. Ed. A. Mendez-Vilas. Publisher: Formatex Research Center, USA. 274 – 278 pp.

Hott, E. (2012). Obtención de etanol, producido por levaduras de pino y palmera. Tesis de Químico Farmacéutico, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Valdivia 37 p.

Huygens, D., Schoupe, J., Roobroeck D., Alvarez, M., Balocchie, O., Valenzuela, E., Pinochet, D. y Boeck, P. (2011). Drying–rewetting effects on N cycling in grassland soils of varying microbial community composition and management intensity in south central Chile. Applied Soil Ecology, 48:270–279.

Lezcano, P. y Mora, L. (2005). Las vinazas de destilería de alcohol. Contaminación ambiental o tratamiento para evitarlo. Conferencia 7. VIII encuentro de nutrición y producción de animales monogástricos. www.avpa.ula.ve/eventos/viii_encuentro.../conferencia-7.pdf

Liu, W., Wang, Y., Yu, Z. y Bao, J. (2012). Simultaneous saccharification and microbial lipid fermentation of corn stover by oleaginous yeast *Trichosporon cutaneum*. Bioresource Technology, 118: 13–18.

Mestre, M., Rosa, C., Safar, S., Libkind D. y Fontenla S. (2011). Yeast communities associated with the bulk-soil, rhizosphere and ectomycorrhizosphere of a *Nothofagus pumilio* forest in northwestern Patagonia, Argentina. Microbiology ecology, 78: 531–541.

Rodríguez, B., Mora, L., Oliveira, D., Euler, A., Lara, L. y Lezcano, P. (2011). Chemical composition and

nutritive value of torula yeast (*Candida utilis*), grown on distiller's vinasse, for poultry feeding. Cuban J. Agric. Sci. 45:261- 265.

Rodríguez, B., Iben, Ch., Valdivié, M. y Martínez, M. (2012). Profile of fatty acids from torula yeast (*Candida utilis*) grown on distiller's vinasse. Technical note. Cuban Journal of Agricultural Science, 46:199 – 201.

Silva, C., Arcuri, S., Campos, C., Vilela, D., Alves, J. y Schwan, R. (2011). Using the residue of spirit production and bio-ethanol for protein production by yeasts. Waste Management 31: 108–114.

Slavikova, E. y Vadkertiova, R. (2000). The occurrence of yeasts in the forest soils. J. Basic Microbiol, 40: 207–212.

Slavikova, E. y Vadkertiova, R. (2003). The diversity of yeasts in the agricultural soil. J. Basic Microbiol, 43:430–436.

Valenzuela, E., Carias P., Pinochet, D. y Polette, M. (2000). Nuevas citas de hongos aislados de suelo trumao sometido a diferentes manejos agro-forestales en la X Región de Chile. Boletín Micológico 15: 107-111.

Valenzuela, E. & Martinez, O. 2007. Actualización del registro de levaduras citadas en Chile. Boletín Micológico 22: 81 – 93.

Wuczkowski M. y Prillinger H. (2004). Molecular identification of yeasts from soils of the alluvial forest national park along the river Danube downstream of Vienna, Austria (“National park donauauen”). Microbiological Research, 159: 263–275.

Yurkov A., Kemler M. y Begerow D. (2012). Assessment of yeast diversity in soils under different management regimes. Fungal ecology, 5: 24-35

Zagal, E., Vidal, I., Rodríguez, N. y Quezada, L. (2002). Actividad microbiana en un suelo de origen volcánico bajo distinto manejo agronómico. Agricultura Técnica, 62(2): 297-309.