

Caracterización de la diversidad microbiana presente en el proceso de fermentación de *Coffea arabica* L. y su influencia en la calidad sensorial de la bebida en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)

Rosmery Katherine Cruz O'Byrne



Facultad de Ingeniería
Maestría en Ingeniería
2021

**Caracterización de la diversidad microbiana presente en el proceso de fermentación de
Coffea arabica L. y su influencia en la calidad sensorial de la bebida en la Sierra Nevada de
Santa Marta (SNSM)**

Rosmery Katherine Cruz O'Byrne

Trabajo de grado para optar al título de magíster en ingeniería

Director

NELSON VIRGILIO PIRANEQUE GAMBASICA

Doctor en Ciencias Agropecuarias

Codirector

LYDA RAQUEL CASTRO GARCÍA

Doctor en Evolución Molecular y Filogenética



Facultad de Ingeniería
Maestría en Ingeniería
2021

Nota de aceptación

Una vez atendida la sustentación pública y evaluados los productos derivados de la investigación, se ha decidido asignar la calificación definitiva de **LAUREADO**

Ana Cruz Morillo Coronado, PhD

Jurado Evaluador Externo
Comité de evaluación

Jorge Gómez Rojas, PhD

Director Académico
Comité de evaluación

Declaratoria de originalidad

Yo, **ROSMERY KATHERINE CRUZ O'BYRNE** declaro que este trabajo de grado para optar al título de magíster de la Universidad del Magdalena no ha sido presentado para optar a un título, ya sea en igual forma o con variaciones, en esta o cualquier otra universidad.

Firma

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Rosmery C.", written in a cursive style.

Dedicatoria

A mis padres biológicos, **Ance O'Byrne** y **Mauricio Cruz** por todo el amor, la paciencia y la humildad que me han transferido desde siempre, y por brindarme su apoyo desmedido y las bases para una vida en la academia como parte primordial de mi existencia, donde los frutos no son míos sino de ellos.

A mis padres académicos, Dres **Sonia Aguirre** y **Nelson Piraneque** por todo el conocimiento compartido, la confianza brindada y por ser mi guía en el maravilloso camino de la ciencia.

Agradecimientos

A la **Universidad del Magdalena** por contribuir a mi formación académica y profesional, especialmente por la beca de matrícula para estudios de maestría (Resolución rectoral 325/2019) y la financiación de mi proyecto de grado a través de la convocatoria interna FONCIENCIAS como parte del macroproyecto “Caracterización de la diversidad microbiana en diferentes procesos de fermentación de café en el departamento del Magdalena” (Código VIN2020018).

Al programa de **Maestría en Ingeniería** y mis docentes por los conocimientos impartidos, en especial a la **Dra. Mayda González Zabala** por el apoyo en la formulación de la propuesta de investigación y a **mis compañeros de las cohortes 2019-I y 2019-II** por sus críticas y aportes.

Al **Dr. Nelson Piraneque Gambasica**, director de mi tesis y del Grupo de Investigación Suelo, Ambiente y Sociedad (GISAS) que me ha cobijado desde 2015, por el apoyo activo y constante durante todo el proceso de investigación, por el conocimiento compartido, la confianza brindada y por creer en mis capacidades como investigador. A mi codirector, la **Dra. Lyda Castro García**, quien, a través de sus conocimientos científicos, contribuyó en la planeación, el análisis de información y la redacción. A la coinvestigadora, la **Dra. Sonia Aguirre Forero** por sus aportes científicos y operativos durante todo el proceso de planeación y ejecución.

Al personal de la **Finca Barlovento** y su **planta de beneficio La María** en la vereda La Tagua - Sierra Nevada de Santa Marta, en especial al propietario **Francisco Aguilar** por permitirme realizar la investigación en sus instalaciones y a **Luz Aide Serrano**; agrónoma y administradora de la finca por todo el soporte técnico y logístico brindado para la toma de muestras y procesamiento del fruto de café.

A mi colega, compañero y amigo **Ing. José Villa Parejo** por su acompañamiento y soporte permanente, quien en esta ocasión fue mi apoyo en la toma de las muestras de café.

Al **laboratorio de Biología Molecular** de la Universidad del Magdalena y el **Centro Nacional de Secuenciación Genómica (CNSG)** de la Universidad de Antioquia por el apoyo en el análisis y secuenciación de ADN de las muestras de café fermentado para realizar la aproximación de diversidad microbiana del proceso de fermentación.

Al Director Ejecutivo **Ing. Esp. Edgar Ramírez Perdomo** y al Coordinador de Programa **Ing. Alexander Saurith Santodomingo** del Comité de Cafeteros del Magdalena de la **Federación Nacional de Cafeteros de Colombia** (FNC), quienes brindaron soporte técnico y logístico para el desarrollo de la investigación.

A los laboratorios de **Almacafé**, **RedEcolsierra** y **Caficosta**, quienes, a través de su personal calificado, apoyaron el análisis sensorial de las bebidas obtenidas.

Resumen

La fermentación de café (*Coffea arabica* L.) envuelve la acción de microorganismos, cuyo metabolismo posee una gran influencia en la composición de los granos y, por consiguiente, en la calidad de la bebida. A pesar de ser reconocida por la producción de café de alta calidad, la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM) carece de investigaciones relacionadas con los procesos de fermentación llevados a cabo en la región, los microorganismos asociados y su influencia en los atributos sensoriales de la bebida producida. En el presente estudio, se evaluaron las características fisicoquímicas y microbiológicas durante el proceso de fermentación de *C. arabica* L. en la SNSM, así como las características sensoriales de la bebida, con el fin de establecer la diversidad microbiana presente y la influencia de las variables estudiadas sobre los atributos sensoriales y la calidad de la bebida. El pH, la temperatura y los grados Brix fueron medidos *in situ*, las comunidades microbianas fueron analizadas mediante secuenciamiento de los genes 16S e ITS, y la calidad sensorial de la bebida fue establecida mediante el protocolo de catación de la SCA. El proceso se caracterizó por el descenso del pH y los grados Brix, fluctuaciones de temperatura y el predominio de las bacterias. Se identificaron un total de 695 géneros bacterianos y 156 fúngicos, siendo los más abundantes *Leuconostoc*, *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Kazachstania* y dos hongos no clasificados. Las bebidas producidas se clasificaron como cafés especiales, y su puntaje se vio influenciado positivamente por la riqueza de hongos y la abundancia de levaduras del género *Pichia*. Esta investigación se constituye como el primer esfuerzo por entender la dinámica del proceso de fermentación en la SNSM, siendo necesaria para la generación de nuevo conocimiento científico en la región y representa una herramienta para futuras investigaciones. Los hallazgos obtenidos muestran la riqueza y diversidad microbiana que posee la SNSM y sirven como insumo para el establecimiento de cultivos iniciadores en el procesamiento del café, que garanticen a los caficultores la generación de bebidas de alta calidad, la estandarización de los procesos, la reducción de las pérdidas económicas y un valor agregado de los productos para un mejor aprovechamiento del mercado.

Palabras clave: Bacterias ácido lácticas, bacterias del ácido acético, café especial, fermentación en húmedo, levaduras, metagenómica.

Abstract

Coffee (*Coffea arabica* L.) fermentation involves the action of microorganisms, whose metabolism has a significant influence on the composition of the beans and, consequently, on the beverage quality. Despite being recognized for the high-quality coffee production, the Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM) lacks research involving the fermentation processes carried out in the region, associated microorganisms, and their influence on sensory attributes of the beverage produced. In the present study, the physicochemical and microbiological characteristics during the fermentation process of *C. arabica* L. in the SNSM, as well as the sensory characteristics of the beverage, were evaluated to establish the microbial diversity present and the influence of the variables studied on the sensory attributes and quality of the beverage. The pH, temperature, and Brix degrees were measured *in situ*, the microbial communities were analyzed by sequencing the 16S and ITS genes, and the sensory quality of the beverage was established using the SCA cupping protocol. The process was characterized by a decrease in pH and Brix degrees, temperature fluctuations, and the predominance of bacteria. A total of 695 bacterial and 156 fungal genera were identified, being the most abundant *Leuconostoc*, *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Kazachstania*, and two unclassified fungi. The beverages produced were classified as specialty coffees, and their score was positively influenced by the fungi richness and the abundance of yeasts of the genus *Pichia*. This research constitutes the first effort to understand the dynamics of the fermentation process in the SNSM, being necessary for the generation of new scientific knowledge in the region and represents a tool for future research. The findings obtained show the richness and microbial diversity that the SNSM has and serve as input for the establishment of starter cultures in coffee processing, which guarantee coffee growers the generation of high-quality beverages, the standardization of processes, the reduction of economic losses, and an added value of the products for better use of the market.

Keywords: Lactic acid bacteria, acetic acid bacteria, specialty coffee, wet fermentation, yeasts, metagenomics.

Tabla de Contenido

1. INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN	3
3. OBJETIVOS	5
3.1. Objetivo general	5
3.2. Objetivos específicos	5
4. MARCO TEÓRICO.....	6
4.1. <i>Coffea</i>	6
4.2. Fruto del café	6
4.2.1. Procesamiento o beneficio del fruto	7
4.2.1.1. Método húmedo o sumergido	7
4.3. Fermentación del café y actividad microbiana	7
4.3.1. Métodos para el estudio de la diversidad microbiana	9
4.3.1.1. Secuenciación de ADN	9
4.3.1.2. Análisis de rarefacción.....	10
4.3.1.3. Índices de α diversidad	11
4.4. Calidad de la bebida de café y cafés especiales	13
5. ESTADO DEL ARTE.....	15
5.1. Estudios relacionados con la diversidad microbiana en el proceso de fermentación de café y su influencia en la calidad sensorial de la bebida	16
5.2. Principales microorganismos encontrados en el proceso de fermentación de café y su influencia en la calidad sensorial de la bebida.....	16
6. MATERIALES Y MÉTODOS	19
6.1. Descripción del área de estudio y el procesamiento del café.....	19
6.2. Muestreo	21
6.3. Análisis fisicoquímico	22
6.4. Análisis microbiológico por método independiente de cultivo	22
6.4.1. Extracción de ADN total.....	22
6.4.2. Cuantificación de ADN total	24
6.4.3. Secuenciamiento de bacterias y hongos.....	26
6.5. Análisis sensorial	26
6.6. Análisis bioinformático.....	27
6.6.1. Bacterias.....	28
6.6.2. Hongos	28
6.7 Análisis estadístico.....	29
7. RESULTADOS.....	30
7.1. Análisis fisicoquímico	30
7.2. Análisis microbiológico.....	30
7.2.1. Generalidades del secuenciamiento profundo	30
7.2.2. Abundancia, riqueza y diversidad microbiana.....	34
7.2.3. Abundancia relativa de géneros microbianos	36
7.3. Análisis sensorial	38
7.4. Influencia de las variables estudiadas sobre la calidad sensorial de la bebida	38
8. DISCUSIÓN	42
8.1. Análisis fisicoquímico	42
8.2. Análisis microbiológico.....	43

8.2.1. Abundancia, riqueza y diversidad microbiana.....	43
8.2.2. Abundancia relativa de géneros microbianos	43
8.2.2.1. Bacterias.....	44
8.2.2.2. Hongos	46
8.3. Influencia de las variables estudiadas sobre la calidad sensorial de la bebida	48
9. CONCLUSIÓN.....	50
BIBLIOGRAFÍA	51
ANEXOS	62

Lista de tablas

Tabla 1. Condiciones ambientales durante el muestreo del café en fermentación en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM).....	22
Tabla 2. Concentración de ADN obtenido de las muestras tomadas durante el proceso de fermentación de <i>C. arabica</i> L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM).....	25
Tabla 3. Clasificación de la calidad de la bebida de café de acuerdo con el puntaje final del protocolo de catación.	27
Tabla 4. Características fisicoquímicas durante el proceso de fermentación de <i>C. arabica</i> L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)	30
Tabla 5. Resultados generales del secuenciamiento profundo de muestras obtenidas del proceso de fermentación de <i>C. arabica</i> L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)	33
Tabla 6. Índices de riqueza y diversidad de poblaciones microbianas de las secuencias de genes de rRNA 16S (Bacterias) y rRNA ITS (Hongos) de muestras obtenidas del proceso de fermentación de <i>C. arabica</i> L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM).....	35
Tabla 7. Características sensoriales y clasificación de calidad de bebidas obtenidas de <i>C. arabica</i> L. fermentado en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM).....	39

Lista de figuras

Figura 1. Anatomía del fruto del café.....	6
Figura 2. Procesamiento del fruto de café por método húmedo.....	8
Figura 3. Metodología aplicada en el estudio de caracterización de la diversidad microbiana presente en el proceso de fermentación de <i>Coffea arabica</i> L. y su influencia en la calidad sensorial de la bebida en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM).....	19
Figura 4. Ubicación de la finca <i>Barlovento</i> y la planta de beneficio <i>La María</i> , SNSM.....	20
Figura 5. Plantación de café en la finca <i>Barlovento</i> , SNSM.	20
Figura 6. Procesamiento de café por método húmedo en la planta de beneficio <i>La María</i> , SNSM.....	21
Figura 7. Procedimiento de extracción de ADN usando DNeasy® PowerLyzer® PowerSoil®	23
Figura 8. Curva de cuantificación de ADN usando dsDNA Quant-iT™ PicoGreen®	25
Figura 9. Abundancia de poblaciones microbianas durante el proceso de fermentación de <i>C. arabica</i> L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)	34
Figura 10. Top 15 de géneros microbianos presentes durante el proceso de fermentación de <i>C. arabica</i> L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM). A) Bacterias; B) Hongos.....	37
Figura 11. Relaciones de co-ocurrencia y co-exclusión entre las características fisicoquímicas, la abundancia microbiana, la riqueza microbiana, la diversidad microbiana y la calidad sensorial de la bebida obtenidos de la fermentación de <i>C. arabica</i> L. por 18, 24, 30 y 36 horas en la SNSM	40
Figura 12. Relaciones de co-ocurrencia y co-exclusión entre las características fisicoquímicas, el top 15 de géneros microbianos y la calidad sensorial de la bebida obtenidos de la fermentación de <i>C. arabica</i> L. por 18, 24, 30 y 36 horas en la SNSM.....	41

1. INTRODUCCIÓN

El café es una de las bebidas más consumidas y comercializadas en el mundo, siendo el principal producto de exportación de alrededor de 60 países tropicales y subtropicales (Sakiyama & Ferrao, 2015); donde la especie *Coffea arabica* L. representa alrededor del 70-75% del total comercializado (Aristizábal-Marulanda et al., 2017; Waters et al., 2017). Después de Brasil y Vietnam, Colombia ocupa el tercer lugar en la lista de mayores productores de café con una producción de 855.840 t en 2018 con un área de 742.373 ha (FAO, 2018; MinAgricultura, 2018), siendo su industria una de las más importantes para el desarrollo económico del país y reconocida por su larga trayectoria en generación de tecnologías y conocimientos llegando a ser reconocido a nivel mundial al obtener protección de denominación de origen “Café de Colombia” (SIC, 2005).

En esta industria, el mercado de los cafés especiales ha cobrado importancia a través de los denominados “coffee shops” donde el consumidor está dispuesto a pagar precios más altos por bebidas con atributos muy marcados. Este mercado, mundialmente representó un ingreso de 35,9 mil millones de dólares en 2018, siendo predominante el “café especial muy bueno” con el 75% de los ingresos generales, y se espera que para el año 2025 se alcance 83,6 mil millones de dólares (Adroit market research, 2019). En Colombia, se ha incrementado pasando de representar un 22% del café exportado en 2007 a un 45% en 2017, evidenciando un ingreso mayor en comparación con los cafés tradicionales (Velásquez & Trávez, 2019). En el departamento del Magdalena, el cultivo de *C. arabica* L. se produce en las estribaciones de la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM) representando el 1,26% de la producción nacional (FNC, 2011; MinAgricultura, 2018) y se caracteriza por ser una región con oferta ambiental ideal para la producción de cafés especiales. En la producción de este tipo de cafés, la fermentación del mucílago del fruto juega un papel importante al influir directamente en los atributos del grano y de la bebida producida (Haile & Kang, 2019a; Pereira et al., 2016a).

A pesar de la importancia que posee el cultivo de café en el departamento del Magdalena y la influencia del procesamiento del fruto para obtener bebidas de calidad, no existen estudios que involucren el proceso de fermentación de café realizado en la región.

Por lo anterior, se hace necesario entender los aspectos involucrados en la fermentación del mucílago del fruto de café, donde el papel de los microorganismos es esencial debido a su participación en degradaciones bioquímicas y enzimáticas, lo que influye en la calidad de la bebida.

En esta investigación se realiza un análisis de características fisicoquímicas (pH, °Brix y temperatura) y microbiológicas (Bacterias, hongos y levaduras) a través de métodos independientes de cultivo en el proceso de fermentación, así como un análisis sensorial (atributos, puntaje y clasificación de calidad) de la bebida producida en la Finca Barlovento, SNSM, con el fin de caracterizar la diversidad microbiana en el proceso de fermentación y su influencia en la calidad de la bebida en la SNSM contribuyendo así a la generación de nuevo conocimiento. Además de servir como base para desarrollar herramientas que permitan llevar a cabo un proceso de fermentación controlado y estandarizado, que garantice a los caficultores de la SNSM un valor agregado a la producción de café, una alta calidad de la bebida y una reducción en el riesgo de ofrecer granos con características indeseables que afecten directamente su comercialización.

2. JUSTIFICACIÓN

El departamento del Magdalena representa el 1,26% del total de café producido en Colombia y el 2,35% del área nacional cosechada (MinAgricultura, 2018). La zona cafetera del Magdalena se sitúa en las estribaciones Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM) y sus cultivos están distribuidos entre los municipios de Santa Marta, Ciénaga, Aracataca y Fundación (FNC, 2011). Debido a las características propias de la Sierra Nevada y de su café, la Superintendencia de Industria y Comercio en 2017 declaró la protección de denominación de origen “Café de la Sierra Nevada” (SIC, 2017). Así mismo, en 2019 se firma un acuerdo de competitividad para cadena productiva de cafés especiales del departamento en el cual participan todos los miembros de la cadena, incluyendo además a otros actores como la Universidad del Magdalena (Bustamante, 2019).

La caficultura Magdalenense se caracteriza por un sistema de siembra bajo sombrío con una concentración de la cosecha entre octubre y febrero debido a las condiciones climáticas, y como consecuencia de las precipitaciones que se presentan entre la floración y maduración de los frutos, se generan granos de gran tamaño con un porcentaje de almendra con mayor peso (FNC, 2011). Esto garantiza una gran biodiversidad y un ecosistema con la oferta ambiental ideal para la producción de cafés especiales (FNC, 2009a).

En la producción de cafés especiales, la fermentación se constituye como un proceso esencial, donde los microorganismos (Bacterias, hongos y levaduras) degradan el mucílago del fruto y producen alcoholes, ácidos, ésteres y cetonas (Puerta, 2012; Puerta & Echeverry, 2015). Estos compuestos resultantes, influyen directamente en la composición del grano y por consiguiente en los atributos sensoriales de la bebida (Haile & Kang, 2019a; Lee et al., 2015). Por ello, el control de este proceso es necesario para garantizar el desarrollo de microorganismos beneficiosos que producen una bebida de alta calidad. Cuando la fermentación falla, da como resultado el desarrollo de microorganismos que afectan negativamente los atributos sensoriales de la bebida por la producción de granos con compuestos químicos indeseables, en particular los ácidos propiónico y butírico, que confieren sabores extraños (Haile & Kang, 2019a).

Adicionalmente, puede influir en la presencia de hongos como *Aspergillus* y *Penicillium*, los cuales son productores de Ocratoxina A (OTA) (Masoud & Kaltoft, 2006; Massawe & Lifa, 2010; Souza et al., 2017), una micotoxina clasificada como posible carcinogénica en humanos (IARC, 1993) y que ha sido reportada en muestras de café de diferentes orígenes cuya contaminación influye directamente en la seguridad alimentaria (FAO, 2006).

A pesar de la potencialidad que tiene el departamento para la producción de cafés especiales y el conocimiento que se tiene sobre la importancia del proceso de fermentación para la producción de ellos, hay un vacío de estudios que involucren la fermentación realizada en fincas de la SNSM y, por lo tanto, un desconocimiento sobre los microorganismos involucrados en el proceso y cómo ésta microbiota puede relacionarse con los atributos específicos de la calidad sensorial de la bebida. Si bien en otros países y en otras regiones de Colombia se han realizado estudios que involucran la microbiología de la fermentación de café, éstos no son aplicables a regiones diferentes debido a que la diversidad microbiana es específica de cada espacio y nicho geográfico; razón por la cual cada región posee cafés de sabores distintivos (De Oliveira et al., 2019).

Considerando lo anterior surge la necesidad de caracterizar la diversidad microbiana específica de la fermentación de *Coffea arabica* L. en la Sierra Nevada de Santa Marta a través de métodos independientes de cultivo y la influencia que ésta tiene en los atributos sensoriales de la bebida producida.

Los resultados obtenidos en la presente investigación proporcionan nuevos conocimientos que garantizan el entendimiento del proceso de fermentación en la SNSM y la riqueza genética de la región con relación a la diversidad microbiana que puede incluir especies autóctonas. Además de información que ayuda al desarrollo agronómico y económico de la región al proporcionar bases para futuras investigaciones y para la toma de decisiones con relación al control de la fermentación que garantice a los caficultores del Magdalena un valor agregado de su producto y reducir las pérdidas económicas, así como un mejor aprovechamiento del mercado al contribuir con la producción de cafés especiales.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Caracterizar la diversidad microbiana presente en el proceso de fermentación de *Coffea arabica* L. y su influencia en la calidad sensorial de la bebida en la finca Barlovento, Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM).

3.2. Objetivos específicos

- Realizar el análisis fisicoquímico del proceso de fermentación de *C. arabica* L. en muestras obtenidas a las 0h, 6h, 12h, 18h, 24h, 30h y 36h en la zona de estudio.
- Efectuar una aproximación de la diversidad microbiana (Bacterias y hongos) a través de secuenciación genética e índices de α diversidad del proceso de fermentación de *C. arabica* L. en la SNSM a partir de las muestras obtenidas.
- Analizar las diferencias en la calidad sensorial de la bebida de *C. arabica* L. mediante el protocolo de catación de la Asociación de Cafés Especiales (SCA) de muestras de café fermentado por 18h, 24h, 30h y 36h.
- Identificar la influencia de la diversidad microbiana presente durante la fermentación de *Coffea arabica* L. sobre la calidad sensorial de la bebida producida.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. *Coffea*

El género *Coffea* pertenece a la familia Rubiaceae y comprende 103 especies provenientes de América Latina, África y Asia (Simon-Gruita et al., 2019). *Coffea arabica* L. y *C. canephora* L. son las especies de mayor importancia económica e industrial cultivadas para la producción de bebidas, donde *C. arabica* representa alrededor del 70-75% del café total comercializado en el mundo (Aristizábal-Marulanda et al., 2017; Waters et al., 2017), y la totalidad del café sembrado en Colombia (Velásquez & Trávez, 2019).

4.2. Fruto del café

Los árboles de café producen frutos llamados drupas, los cuales son indehiscentes, comestibles y de color rojo o morado cuando están maduros por lo que se les denomina “cereza” (Simon-Gruita et al., 2019). Consiste en una capa externa de piel (exocarpio), seguida del mesocarpio (pulpa) y el mucílago (capa de pectina) firmemente adheridos a una capa rígida llamada pergamino (endocarpio). El endocarpio protege el endospermo por una película delgada (tegumento) (Evangelista et al., 2015; Huch & Franz, 2015). El endospermo es la parte más interna del fruto y comprende los llamados “granos de café”; parte usada para la producción de la bebida (Figura 1).

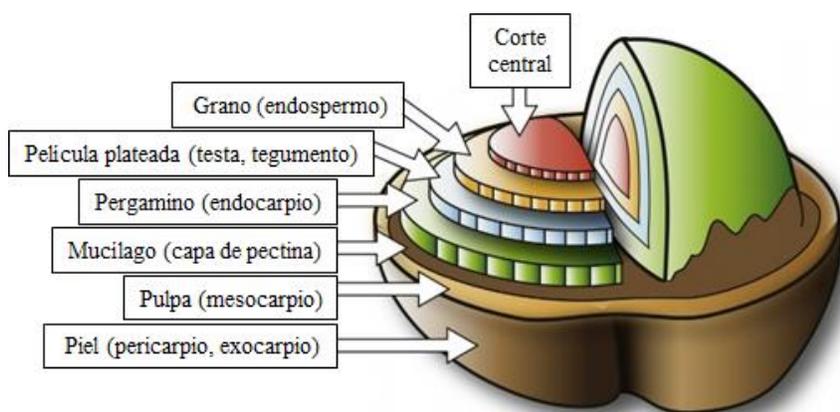


Figura 1. Anatomía del fruto del café
Modificado de Gibson & Newsham (2018)

4.2.1. Procesamiento o beneficio del fruto

El procesamiento o beneficio es una actividad importante en la industria del café que convierte la fruta en café líquido (Murthy & Madhava Naidu, 2012). Una vez recolectadas las cerezas de café, hay que procesarlas para eliminar el exocarpio, mesocarpio y la capa de pectina. Esto se puede realizar mediante tres métodos diferentes (seco, húmedo o semisecco) que permiten que se produzca la fermentación y obtener los granos (semillas) de café (Huch & Franz, 2015). El método húmedo, se aplica principalmente para el procesamiento de *C. arabica* y es el de mayor uso en Colombia (Aristizábal-Marulanda et al., 2017; Lee et al., 2015; Pereira et al., 2016a).

4.2.1.1. Método húmedo o sumergido

Los frutos de café procesados en húmedo se denominan “café lavado” y producen bebidas de mayor calidad (De Melo Pereira et al., 2020; Huch & Franz, 2015). En este método, primero las cerezas se clasifican vertiéndolas en agua, donde los frutos inmaduros flotan y se retiran mientras que los maduros se hunden quedando en el fondo. Luego, mecánicamente se retira el exocarpio del fruto y mediante fermentación sumergida, se elimina el mesocarpio y la capa de pectina durante 12-36 horas, seguido de lavado y secado durante 5-10 días, dependiendo de las condiciones climáticas (Batista et al., 2009; Sakwari et al., 2013).

Una vez el café se ha secado se le conoce como “café pergamino” puesto que lo cubre el endocarpio, éste se somete a proceso de trilla donde se obtiene el “café verde” que luego se tuesta para la elaboración de la bebida (Figura 2) (FNC, 2020b).

4.3. Fermentación del café y actividad microbiana

La fermentación es un proceso metabólico crítico para la remoción del mucílago del fruto del café (Haile & Kang, 2019a). Consiste en una combinación de reacciones biológicas y químicas donde moléculas complejas del mucílago son degradados por bacterias, hongos y levaduras en moléculas más simples produciendo productos líquidos y volátiles, los cuales tienen un impacto en los atributos sensoriales de la bebida (Haile & Kang, 2019a; Pereira et al., 2016a; Silva et al., 2008).



Figura 2. Procesamiento del fruto de café por método húmedo

Fuente: Autor

Dichos microorganismos mediante sus enzimas oxidan los azúcares, lípidos y proteínas presentes en el mucílago produciendo energía en forma de ATP, alcoholes, ácidos, ésteres y cetonas (Puerta, 2012; Puerta & Echeverry, 2015). Estas sustancias formadas cambian las características de olor, color, pH, la densidad, los sólidos solubles, la temperatura y la composición del sustrato y de los granos de café (Puerta, 2010).

Los factores que influyen en el proceso de fermentación de café es el tiempo (duración), condiciones externas (Temperatura y calidad del aire, calidad del agua e higiene), sistema de fermentación (Abierto – cerrado, sólido – sumergido, estático – agitado, continuo – discontinuo) y el sustrato (Calidad del café baba despulpado, variedad, madurez, selección, composición química y microbiana) (Puerta, 2010). A su vez, la microbiota presente durante el proceso de fermentación del mucílago depende de la variedad de café y la humedad del grano, el método de procesamiento, la competencia de los sustratos, la capacidad enzimática de las especies colonizadoras, su actividad

antimicrobiana y los factores ambientales como la humedad y la temperatura (Batista et al., 2009; C. Silva et al., 2008; Vilela et al., 2010).

4.3.1. Métodos para el estudio de la diversidad microbiana

En el proceso de fermentación se crean interacciones microbianas complejas que deben entenderse profundamente pero la microbiología tradicional basada en el aislamiento y el cultivo de microorganismos (**métodos dependientes**) ha mostrado fuertes limitaciones en la comprensión de la biodiversidad del ecosistema (Dolci et al., 2015). Se ha demostrado que las condiciones de cultivo en medios sintéticos no representan correctamente la estructura de la comunidad y por lo tanto la diversidad microbiana real es malinterpretada (Temmerman et al., 2004), pues la falta de conocimiento sobre las condiciones reales de la mayoría de microorganismos en su hábitat natural dificulta desarrollar medios de cultivo que asemejen con precisión éstas condiciones. Adicionalmente, algunas especies son superadas por otras numéricamente más abundantes (De Oliveira et al., 2019) y las condiciones adversas en el ecosistema alimentario podrían inducir a las células microbianas a un estado estresado caracterizado por la incapacidad de producir colonias en los medios de cultivo (Fleet, 1999). Por estas razones, la tendencia actual es hacia métodos independientes del cultivo, porque se cree que superan los problemas asociados con el cultivo selectivo y el aislamiento de microorganismos de las muestras de alimentos (Dolci et al., 2015).

Los **métodos independientes** de cultivo consisten en nuevas técnicas que se basan en el análisis directo de ADN para investigar la presencia de microorganismos sin distinguir entre células viables y muertas, debido a la estabilidad de la molécula (Dolci et al., 2015).

4.3.1.1. Secuenciación de ADN

En los últimos años, la biología molecular ha abarcado una amplia gama de tecnologías basadas en el ADN, como es el caso de la secuenciación genética que permite, en una sola ejecución, determinar la secuencia de nucleótidos de miles a millones de fragmentos de ADN. Esto ha revolucionado la forma en la que se estudian los

microorganismos y su aplicación a la microbiología de los alimentos está dando lugar a nuevos e importantes conocimientos sobre este complejo ecosistema microbiano (Dolci et al., 2015).

Las bacterias se identifican mediante la secuenciación del ARN ribosomal 16S que codifica el componente de rRNA 30S del ribosoma bacteriano (Kothari et al., 2018; X. Wang et al., 2015). Este ARN está presente en todas las especies bacterianas con una similitud del 98,65%; actualmente reconocido como el límite para delinear especies (Kim & Chun, 2014). Los hongos pueden ser identificados a través de la secuenciación del rRNA 18S o la región Espaciadora Transcrita Interna (ITS) de ARN ribosomal (rRNA). El rRNA 18S es uno de los componentes básicos de las células fúngicas y comprende regiones conservadas e hipervariables. La ITS se encuentra entre los genes de rRNA 18S y 5.8S y tiene un alto grado de variación de secuencia. El rRNA 18S se usa principalmente para estudios taxonómicos de alta resolución de hongos mientras que la región ITS se usa ampliamente para analizar la diversidad de hongos en muestras ambientales (Bromberg et al., 2015).

4.3.1.2. Análisis de rarefacción

El análisis de rarefacción (Sanders, 1968) es una técnica estadística utilizada para aproximar el número de unidades taxonómicas operacionales (Operational Taxonomic Units-OTUs) esperadas en una muestra aleatoria de individuos tomados de una colección de muestras (Kim et al., 2017). Permite hacer comparaciones de números de especies entre comunidades cuando el tamaño de las muestras no es igual. Calcula el número esperado de especies de cada muestra si todas éstas fueran reducidas a un tamaño estándar, es decir, si la muestra fuera considerada de n individuos ($n < N$) (C. E. Moreno, 2001). El número de especies que se habrían registrado dentro de las muestras esta denotada por:

$$E(S) = \sum 1 - \frac{(N - N_i)/n}{N/n}$$

Donde: $E(S)$ = Número esperado de Especies; N = Número total de individuos en la muestra; N_i = Número de individuos en la especie i ; n = Tamaño de la muestra estandarizado. En este caso, las muestras son secuencias por muestra.

4.3.1.3. Índices de α diversidad

El término diversidad alfa (α diversidad) fue introducido por Whittaker (1972) y se refiere a la riqueza de especies de una comunidad; es decir, dentro de un mismo hábitat. La diversidad alfa incluye tanto el número de especies (riqueza) como la forma en que se proporciona la importancia entre ellas (uniformidad). La importancia de una especie es una medida de su actividad biológica y de la cantidad de recursos de la comunidad que utiliza (Whittaker, 1972).

Los índices de α diversidad engloban estimadores de riqueza R (Especies Observadas, Chao1 y ACE) y estimadores de diversidad (Shannon e InvSimpson).

4.3.1.3.1. Especies Observadas (S_{obs})

Las Especies Observadas (S_{obs}) es un estimador de riqueza R y se refiere al conteo del número de OTUs individuales en una muestra.

4.3.1.3.2. Chao1

El índice Chao1 es un estimador de R basado en la abundancia. El primer método es el estimador simple de Chao (1984) del número absoluto de especies en un ensamblaje, el cual se basa en el número de especies raras de una muestra (especies que sólo están representadas por pocos individuos). Colwell & Coddington (1994) llaman a esta medida Chao1 y Chazdon et al. (1998) la describe mediante la ecuación:

$$S_{Chao1} = S_{obs} + \frac{F_1^2}{2F_2}$$

Donde: S_{obs} = El número de especies en una muestra; F_1 = El número de especies observadas representadas por un solo individuo (singletons); F_2 = El número de especies observadas representadas por dos individuos (doubletons).

La estimación de la riqueza de especies producida por Chao1 es una función de la razón de singletons y doubletons, y excederá la riqueza de Especies Observada (S_{obs}) por márgenes cada vez mayores a medida que aumenta la frecuencia relativa de singletons (Coddington et al., 1996).

4.3.1.3.3. ACE

El índice ACE (Estimador de cobertura basado en abundancia), también es usado para estimar la riqueza de especies (Magurran, 2004). ACE se basa en la abundancia de especies con entre uno y diez individuos; límite que se seleccionó sobre la base de datos empíricos (Chao & Yang, 1993). La estimación se completa sumando el número de especies abundantes, es decir las representadas por > 10 individuos. Siguiendo a Chazdon et al. (1998), la estimación de cobertura basada en abundancia (ACE) es:

$$S_{ACE} = S_{abund} + \frac{S_{rare}}{C_{ACE}} + \frac{F_1}{C_{ACE}} Y^2_{ACE}$$

Donde: S_{abund} = El número de especies abundantes en una muestra (> 10 individuos); S_{rare} = El número de especies raras en una muestra (≤ 10 individuos); F_i = El número de especies con i individuos (F_1 = Número de singletons); N_{rare} = El número total de individuos en especies raras; Y^2_{ACE} = Estimador del coeficiente de variación de los F_i

$$C_{ACE} = \frac{1 - F_1}{N_{rare}}$$

$$Y^2_{ACE} = \max \left(\frac{S_{rare}}{C_{ACE}} \frac{\sum_{i=1}^{10} i(i-1)F_i}{(N_{rare})(N_{rare}-1)} - 1, 0 \right)$$

4.3.1.3.4. Shannon (H')

El índice Shannon también se le conoce como índice de diversidad de Shannon, índice de Shannon-Wiener, índice de Shannon-Weaver y entropía de Shannon (Spellerberg & Fedor, 2003). La medida fue propuesta originalmente por Claude Shannon para cuantificar la entropía (incertidumbre o contenido de información) en cadenas de texto (Shannon, 1948).

El índice Shannon da el contenido de la información por individuo dentro de una población infinita:

$$H' = - \sum_{i=1}^s P_i \ln P_i$$

Donde: P_i = La proporción de individuos en la especie i .

Como medida de heterogeneidad, el índice H' toma en cuenta el grado de uniformidad en la abundancia de especies (Magurran, 2004). Significa el grado de inseguridad asociado a la identidad específica de cualquier individuo seleccionado al azar. Cuanto mayor sea el número de especies y cuanto más iguales sean sus proporciones, mayor será la incertidumbre y, por tanto, la diversidad. Debido a que el contenido de la información es una medida de incertidumbre, es una medida válida de diversidad (Pielou, 1966).

4.3.1.3.5. Inverso de Simpson (1/D)

El índice Simpson (D) es un índice de dominancia que mide la probabilidad de que dos individuos seleccionados al azar de una muestra pertenezcan a la misma especie (Simpson, 1949). En su forma más simple, el cálculo para una muestra infinita es:

$$D = \sum_{i=1}^s P_i^2$$

Donde: P_i = La proporción de individuos en la especie i .

A medida que aumenta D , la diversidad disminuye. Por lo tanto, el índice de Simpson generalmente se expresa como el inverso ($1-D$ o $1/D$) y se considera como un buen indicador de diversidad (Feinsinger, 2001; Magurran, 2004).

4.4. Calidad de la bebida de café y cafés especiales

Cuando se habla de calidad en la bebida de café se hace referencia a los atributos sensoriales de la misma. La Asociación de Cafés Especiales (SCA), por medio de su Comité de Estadísticas y Estándares, establece un protocolo para la evaluación de la bebida que comprende el equipo necesario, la preparación de la muestra, la evaluación de la muestra, puntajes de componentes individuales y puntuación final (SCA, 2015).

La SCA recomienda estándares en la evaluación de la muestra con el que se analiza la calidad de los atributos de sabor específicos y luego, basándose en la experiencia previa del catador, las muestras se clasifican en una escala numérica. La forma de catación proporciona un medio para registrar importantes atributos para el café: fragancia/aroma, sabor, retrogusto, acidez, cuerpo, equilibrio, dulzura, uniformidad, taza limpia, defectos e impresión general (SCA, 2015).

El término *Café especial* se refiere a un café de buena preparación, de un origen único y sabor distintivo, que no tiene defectos y tiene un carácter distintivo en la taza, con un puntaje de 80 puntos o más cuando se clasifica de acuerdo con los estándares de la SCA (Cague et al., 2002; SCA, 2015). Este concepto hace alusión a la geografía y a los microclimas, que permiten la producción de granos de café con sabor único y de características particulares que preservan su identidad (Arcila et al., 2007).

A su vez, la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (FNC) define los *café especiales* como “*aquellos valorados por los consumidores por sus atributos consistentes, verificables y sostenibles y por los cuales están dispuestos a pagar precios superiores que se traducen en un mayor bienestar de los productores. Estas características están dadas por el origen del café (categoría origen), por su producción en armonía con el medio ambiente (categoría sostenibles) y su compromiso con el desarrollo social de las comunidades (categoría social)*” (FNC, 2020a).

5. ESTADO DEL ARTE

Para el análisis del estado del arte relacionado con la diversidad microbiana en procesos de fermentación de café y su influencia en la calidad sensorial de la bebida se adoptó un método bibliométrico con enfoque cuantitativo y cualitativo según la metodología propuesta por Cruz-O'Byrne et al. (2020) con base a Angulo Cuentas et al. (2018), Bidosola et al. (2017) y Fahimnia et al. (2015).

Primero, se definió la ecuación de búsqueda inicial, se descargaron los datos y se refinaron los resultados. Para la búsqueda se seleccionó la base de datos Scopus de Elsevier y se consultaron los artículos relacionados con el objeto de estudio mediante la ecuación: *TITLE-ABS-KEY (coffee AND fermentation AND (microb* OR microorganism OR fungi OR bacter* OR yeast)) AND DOCTYPE ("ar")*.

Esta ecuación inicial proporcionó 287 resultados los cuales fueron descargados para realizar una limpieza de datos y una evaluación de la calidad de estos según el objeto de estudio. Todos los resúmenes fueron leídos para identificar aquellos artículos cuyos estudios corresponden a diversidad microbiana en procesos de fermentación de café y fueron descartados aquellos artículos no relacionados.

Luego, teniendo en cuenta las palabras clave de los artículos descartados, se creó una nueva ecuación de búsqueda para excluir esos artículos obteniendo la siguiente: *TITLE-ABS-KEY (coffee AND fermentation AND (microb* OR microorganism OR fungi OR bacter* OR yeast) ANDNOT (review OR husk OR waste OR residue OR spent OR spoilage OR by-product OR silverskin OR skin OR "pulp extract" OR "level of caffeine" OR "value of coffee pulp" OR "coffee bean extract" OR "I. green coffee" OR "II. roasted coffee" OR "plant tissue" OR "fermentation extract" OR "Solid-state fermentation of coffee pulp" OR "cocoa fermentation" OR theobromine OR bread OR milk OR beer OR cheese OR rice OR wheat OR kombucha OR kefir OR noni OR mutation OR "gut microbiota" OR intestin* OR disease OR decolour* OR pancar OR oak OR silage OR weevil OR chitin OR insecticidal OR acrylamide OR "production of 5-hydroxy" OR "ethanol production" OR "production of ethanol" OR oil OR biogas OR desempenho OR ohmic)) AND DOCTYPE ("ar")*.

De dicha ecuación se obtuvo una lista de 76 artículos. Los artículos fueron leídos en su totalidad con el propósito de seleccionar aquellos que estudian diversidad microbiana en el proceso de fermentación de café.

5.1. Estudios relacionados con la diversidad microbiana en el proceso de fermentación de café y su influencia en la calidad sensorial de la bebida

Un total de 38 artículos científicos fueron identificados en los cuales se realiza estudio de la diversidad microbiana en el proceso de fermentación de café ya sea por métodos dependientes o independientes de cultivo. De dichos artículos, 23 investigaciones fueron realizadas mediante métodos independientes de cultivo y sólo 9 incluyen el análisis sensorial de la bebida aplicando el protocolo de catación de la Asociación de Cafés Especiales (SCA, 2015).

En Brasil se ha estudiado ampliamente la diversidad microbiana en procesos de fermentación de *Coffea arabica* L. a través de biología molecular. Diversidad de bacterias y hongos (y/o levaduras) en general han sido determinados en dicho país (De Melo Pereira et al., 2015; Evangelista et al., 2015; Martins et al., 2020; Vilela et al., 2010), en China (Feng et al., 2016; Zhang et al., 2019b), en Camerún (Hamdouche et al., 2016), en Ecuador (De Bruyn et al., 2016; Pothakos et al., 2020), en Australia (Elhalis et al., 2020) y en Colombia en el departamento de Nariño (De Oliveira et al., 2019).

Se han realizado investigaciones en Brasil de sólo bacterias (De Carvalho Neto et al., 2018a) y de sólo levaduras en el mismo país (De Carvalho Neto et al., 2017; De Melo Pereira et al., 2014) y en Tanzania (Masoud et al., 2004). De levaduras específicas en Brasil (Bressani et al., 2020) y en Corea (Haile & Kang, 2019b). De determinadas bacterias y/u hongos en Brasil (De Carvalho Neto et al., 2018b; Evangelista et al., 2014a, 2014b; Martinez et al., 2017; Ribeiro et al., 2018) y en Ecuador (Zhang et al., 2019a).

De los estudios anteriormente mencionados, el análisis sensorial de la bebida han sido incluidos en las investigaciones realizadas por Bressani et al. (2020), De Carvalho Neto et al. (2018a), De Melo Pereira et al. (2014, 2015), Evangelista et al. (2014a, 2014b), Martinez et al. (2017), Martins et al. (2020) y Ribeiro et al. (2018).

5.2. Principales microorganismos encontrados en el proceso de fermentación de café y su influencia en la calidad sensorial de la bebida

Las bacterias acidolácticas (BAL) han sido reconocidas como un componente integral del procesamiento del café (De Melo Pereira et al., 2020). De este tipo de

bacterias, se han identificado diferentes géneros como *Weissella*, *Lactococcus*, *Lactobacillus* y *Leuconostoc* en el departamento de Nariño en Colombia por De Oliveira et al. (2019), en China por Zhang et al. (2019b), en Ecuador por Pothakos et al. (2020) y en Brasil por De Carvalho Neto et al. (2018b), Martins et al. (2020) y Ribeiro et al. (2018). El género *Leuconostoc* ha sido reconocido como grupo microbiano dominante en la fermentación del café en Brasil, Colombia y Ecuador, siendo considerado como una bacteria central en la fermentación del grano de café a nivel mundial (De Carvalho Neto et al., 2018b; De Melo Pereira et al., 2020; De Oliveira et al., 2019; Pothakos et al., 2020).

Las BAL son un grupo microbiano de sustancial importancia económica que ha sido ampliamente utilizado como cultivo iniciador en la producción de alimentos fermentados (De Melo Pereira et al., 2020). En el café, se asocian con la generación de compuestos aromáticos volátiles que influyen en la calidad de la bebida proporcionando atributos sensoriales florales y frutales (Wang et al., 2019).

Las levaduras también juegan un papel importante en el proceso de fermentación y se ha demostrado que promueven la producción de bebidas de café de alta calidad (Haile & Kang, 2019). Entre los géneros de levaduras más reportados se encuentran *Pichia*, *Candida*, *Saccharomyces* y *Hanseniaspora* (De Oliveira et al., 2019; Martins et al., 2020; Pothakos et al., 2020; Zhang et al., 2019b). Mientras que el género *Saccharomyces* ha sido identificado como dominante en Brasil (De Carvalho Neto et al., 2017) y *Hanseniaspora* en Ecuador (Pothakos et al., 2020), *Pichia* fue reportado como microorganismo líder de la fermentación de café en Colombia (De Oliveira et al., 2019). Este género ha sido reconocido por su importancia económica al influir en la producción de bebidas con atributos dulces, florales y frutales (De Melo Pereira et al., 2014, 2015; Evangelista et al., 2014a, 2014b).

Cabe resaltar que las BAL y las levaduras presentan un sinergismo como consecuencia de sus metabolismos. Por un lado, la acción de las levaduras en la autólisis provoca la liberación de nutrientes que favorecen el crecimiento bacteriano (Fleet, 2003). Por otro lado, la acidificación resultante de la fermentación por LAB crea un ambiente óptimo para el desarrollo de las levaduras (De Melo Pereira et al., 2017). Estas

interacciones positivas han sido reportadas como promotoras de características sensoriales en vino, masa madre y yogurt. Sin embargo, la información sobre estos mecanismos en la fermentación del café es escasa (De Melo Pereira et al., 2020).

Considerando los diferentes estudios de diversidad microbiana en la fermentación de café llevados a cabo en distintas partes del mundo y la diferencia entre los microorganismos reportados en cada uno de ellos, se concluye que cada diversidad es específica del nicho donde se presenta (De Oliveira et al., 2019). Estos microorganismos forman microbiomas concretos, produciendo durante el proceso de fermentación metabolitos diferenciales que influyen directamente en la composición de los granos de café y que conlleva a producir bebidas con sabores distintivos en cada zona cafetera. Por ello, nace la necesidad de conocer la diversidad microbiana presente en el proceso de fermentación de café en la Sierra Nevada de Santa Marta, siendo este proyecto la primera investigación realizada en la región, la cual es reconocida por ser la montaña costera más alta del mundo y por su café de alta calidad. Los datos obtenidos contribuyen a una mayor comprensión de la riqueza y diversidad microbiana de la región, abriendo así las posibilidades de aplicación de cultivos iniciadores que conlleven a mejorar y estandarizar los procesos de fermentación de café que garanticen la producción de granos con características deseables.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación consistió en tres análisis principales: Un análisis fisicoquímico y uno microbiológico realizado a partir de muestras obtenidas directamente de la fase de fermentación de *C. arabica* L. y un análisis sensorial llevado a cabo al final de proceso de beneficio con el fin de establecer la relación existente entre las variables estudiadas durante el proceso de fermentación y la calidad final de la bebida. La metodología usada en el presente proyecto se resume en la Figura 3, la cual está enlazada con los objetivos específicos.

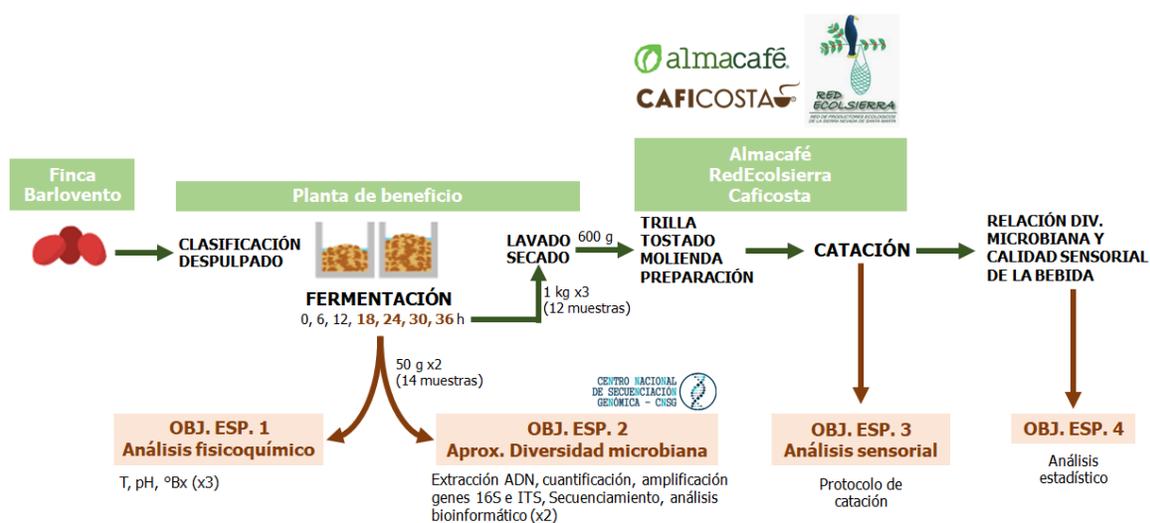


Figura 3. Metodología aplicada en el estudio de caracterización de la diversidad microbiana presente en el proceso de fermentación de *Coffea arabica* L. y su influencia en la calidad sensorial de la bebida en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)

6.1. Descripción del área de estudio y el procesamiento del café

El estudio se llevó a cabo en la planta de beneficio *La María* de la finca *Barlovento* ubicada en la vereda La Tagua, Corregimiento Minca, Municipio Santa Marta, en las estribaciones de la Sierra Nevada (Figura 4).

La finca *Barlovento* se sitúa a una altura entre los 1593 y 1759 msnm (11°04'45,91"N - 74°02'18,87"O). Posee un cultivo de *C. arabica* L. bajo sol y semisombra, intercalado con aguacate Hass en un área de 4 ha. Los frutos de café maduros producidos en la finca son cosechados de forma manual, empacados en sacos de yute y enviados en mulas hasta la planta de beneficio ubicada a pocos kilómetros de distancia (Figura 5).

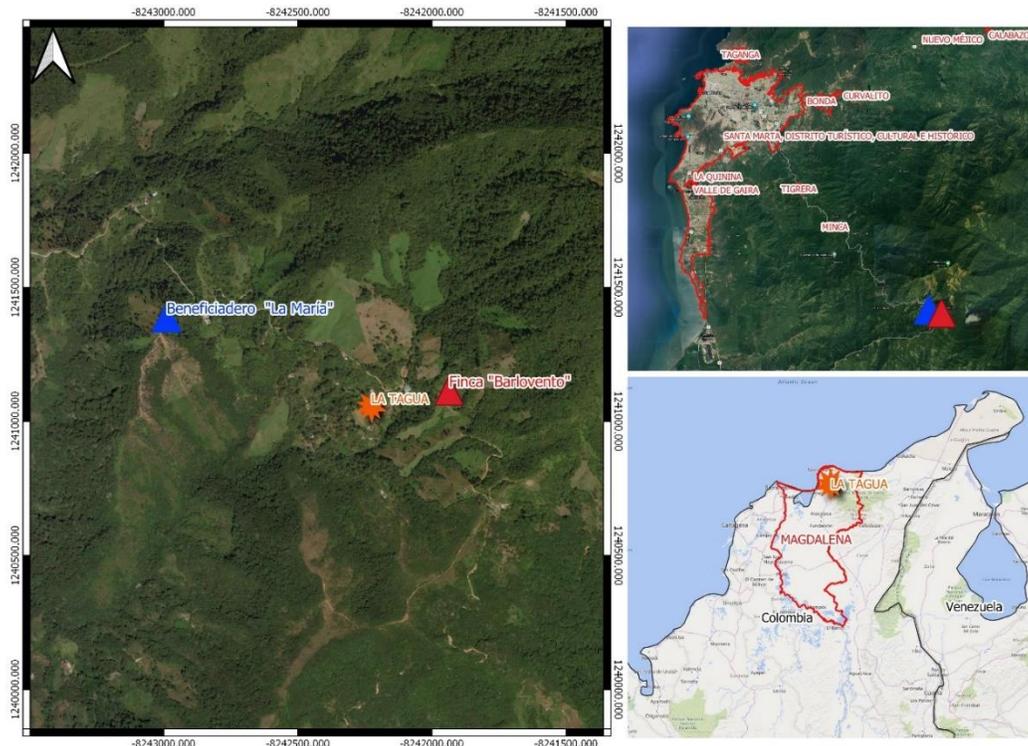


Figura 4. Ubicación de la finca *Barlovento* y la planta de beneficio *La María*, SNSM



Figura 5. Plantación de café en la finca *Barlovento*, SNSM.

A) Frutos maduros (cerezas); B) Empaque de las cerezas cosechadas; C) Transporte de las cerezas a la planta de beneficio

La planta de beneficio *La María* está ubicada a una altura de aproximadamente 1618 msnm ($11^{\circ}04'54,58''\text{N}$ - $74^{\circ}02'52,91''\text{O}$) y las cerezas son procesadas mediante método húmedo. Una vez los frutos frescos son recibidos se someten a selección vertiéndolos en agua para después ser despulpados mecánicamente (Estrella #6; JM Estrada, Antioquia, Colombia). Las cerezas despulpadas son sumergidas en agua en

tanques de cemento (1,65 m x 3,50 m x 0,80 m) para que se desarrolle la fermentación por 36 horas. Luego, la masa fermentada se lava y se deja secar al sol por 5 días (Figura 6). Ya secos los frutos, el café pergamino es empacado en sacos de yute y llevados a laboratorios de la ciudad de Santa Marta para proseguir con su procesamiento que engloba la trilla, el tostado y la molienda.



Figura 6. Procesamiento de café por método húmedo en la planta de beneficio *La María*, SNSM

6.2. Muestreo

El muestreo del café en fermentación se llevó a cabo en febrero de 2020. El ambiente exterior se caracterizó por poseer una temperatura entre los 14 y 19 °C y una humedad relativa entre 69 y 87% (Tabla 1). Muestras de 50 g de masa de café fueron recolectadas por duplicado cada 6 horas (0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 h) en tubos Falcon estériles y almacenadas en hielo seco durante su transporte al laboratorio de Biología Molecular de la Universidad del Magdalena donde fueron finalmente almacenadas a -80°C hasta su análisis molecular para establecer la diversidad microbiana presente. Las características fisicoquímicas fueron analizadas por triplicado *in situ* al momento de tomar las muestras anteriormente mencionadas.

Tabla 1. Condiciones ambientales durante el muestreo del café en fermentación en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)

Tiempo de fermentación (h)	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)
0	17	81
6	15	83
12	14	79
18	19	72
24	19	69
30	16	87
36	14	84

Adicionalmente, se tomaron por triplicado muestras de 1 kg de café fermentado a las 18, 24, 30 y 36 horas. Dichas muestras fueron lavadas y secadas durante 5 días bajo el sol. Una vez secas, de cada una de las muestras se tomaron 600 g de café pergamino los cuales fueron empacados en sacos de yute para ser transportadas a los laboratorios de Almacafé, Caficosta y RedEcolsierra en la ciudad de Santa Marta para continuar con su procesamiento de trilla, tostado y molienda para finalmente ser preparados y catados de acuerdo al protocolo de la Asociación de Cafés Especiales (SCA, 2015), y así establecer la calidad de la bebida para cada una de las muestras.

6.3. Análisis fisicoquímico

El análisis fisicoquímico incluyó la medición del pH, los grados Brix (°Bx) y la temperatura del café en fermentación a las 0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 h. El pH y la temperatura fueron determinadas usando un pHmetro multiparámetro HI2020 edge® (Hanna Instruments, Woonsocket, Estados Unidos), y los grados Brix con un refractómetro Abbe-2WAJ (PCE Instruments, Southampton, Reino Unido).

6.4. Análisis microbiológico por método independiente de cultivo

6.4.1. Extracción de ADN total

Para la extracción de ADN total de las muestras de mucílago de café tomadas por duplicado a las 0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 h, fue usado un kit de extracción

DNeasy® PowerLyzer® PowerSoil® (Qiagen, Hilden, Alemania) siguiendo el protocolo establecido por el fabricante (Figura 7) (Qiagen, 2020). El ADN obtenido fue almacenado a -80°C para aplicaciones posteriores.



Figura 7. Procedimiento de extracción de ADN usando DNeasy® PowerLyzer® PowerSoil® Modificado de Qiagen (2020)

6.4.2. Cuantificación de ADN total

La cuantificación de ADN total de doble cadena (dsADN) de las 14 muestras obtenidas se realizó mediante el método de fluorescencia usando el kit de ensayo de dsDNA Quant-iT™ PicoGreen® (Invitrogen, California, Estados Unidos) siguiendo el protocolo establecido por los productores (Invitrogen, 2008). Este método al usar reactivos fluorescentes es más específico que el método por espectrofotometría UV basado en la determinación de la absorbancia a 260 nm. Esto se debe a que los métodos basados en fluorescencia utilizan tintes que cuantifican de manera específica y precisa el dsDNA incluso en presencia de contaminantes.

Inicialmente se preparó la solución tampón TE con el componente B (20X TE) que contiene Trisaminometano (Tris-HCl) 200 mM, Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 20 nM a pH de 7. Dicha preparación consistió en la obtención de una solución 1X TE mediante una dilución 1:20 del tampón concentrado en agua destilada.

Pocas horas antes de realizar la cuantificación, se preparó el reactivo con el componente A (dsDNA Quant-iT™ PicoGreen®) que contiene Dimetilsulfóxido (DMSO), el cual es un tinte. En dicha preparación se realizó una solución acuosa que consiste en una dilución 1:200 de la solución concentrada de DMSO en TE en un recipiente de plástico, ya que el reactivo puede absorberse en las superficies de vidrio. La solución tampón TE se utiliza para diluir el tinte Quant-iT™ PicoGreen® y debido a que es un reactivo de detección extremadamente sensible para dsADN, es imperativo que la solución de TE utilizada esté libre de ácidos nucleicos contaminantes. El tampón 20X incluido en el kit está certificado como libre de ácido nucleico y libre de Actividad Desoxirribonucleasa (ADNasa) (Invitrogen, 2008). Una vez obtenido el reactivo, se cubrió con papel aluminio y se mantuvo en la oscuridad debido a que el tinte es susceptible a la fotodegradación.

Se diluyó cada solución de ADN extraído en la solución TE hasta un volumen final de 1 mL en tubos Eppendorf de 2 mL. Se añadió 1 mL de la solución acuosa del reactivo Quant-iT™ PicoGreen® a cada muestra y se incubaron entre 2-5 min a temperatura ambiente protegido de la luz. Pasado el tiempo de incubación, se midió la fluorescencia de las muestras utilizando un fluorómetro Qubit™ (Invitrogen, California,

Estados Unidos), se restó el valor de fluorescencia del blanco de reactivo del de cada una de las muestras y se determinó la concentración de ADN de cada muestra a partir de la curva estándar (Figura 8) generada de acuerdo con las especificaciones del fabricante usando el componente C (Estándar de ADN Lambda) (Invitrogen, 2008). Los resultados obtenidos de la cuantificación del ADN se presentan en la Tabla 2.

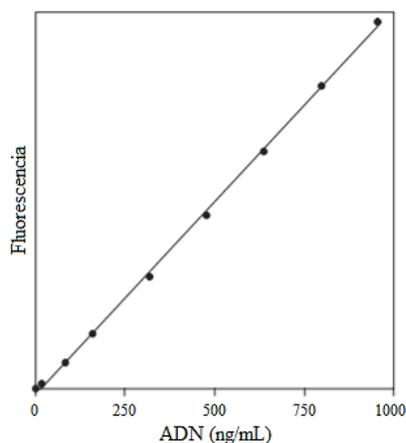


Figura 8. Curva de cuantificación de ADN usando dsDNA Quant-iT™ PicoGreen® Modificado de Invitrogen (2008)

Tabla 2. Concentración de ADN obtenido de las muestras tomadas durante el proceso de fermentación de *C. arabica* L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)

Tiempo de fermentación (h)	Réplica	Concentración de ADN	
		$\mu\text{g}/\mu\text{L}$	$\text{ng}/\mu\text{L}$
0	1	0,003	3
	2	0,004	4
6	1	0,010	10
	2	0,005	5
12	1	0,006	6
	2	0,007	7
18	1	0,013	13
	2	0,021	21
24	1	0,002	2
	2	0,007	7
30	1	0,003	3
	2	0,002	2
36	1	0,043	43
	2	0,019	19

6.4.3. Secuenciamiento de bacterias y hongos

El ADN genómico extraído de cada una de las muestras fue normalizado (diluido) con solución TE a una concentración de 10 ng/μL. Esto se realiza debido a que concentraciones desiguales de bibliotecas de diferentes tipos y calidades de muestra pueden dar lugar a inconsistencias en la calidad de los datos. Unificar estas bibliotecas mediante la normalización ayuda a producir datos de secuenciación consistentes y confiables (Tessin, 2019). Posteriormente para cada muestra, se prepararon y secuenciaron librerías pareadas de 300bp de la plataforma Illumina Miseq (Macrogen Inc, Seoul, Republica de Korea).

Las regiones hipervariables V3-V4 del gen bacteriano rRNA 16S fueron amplificadas usando los cebadores (primers) Bakt_341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') y Bakt_805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') (Herlemann et al., 2011). La región intergénica ribosomal (ITS) del rRNA eucariota (hongos), fue amplificada usando los cebadores (primers) ITS3F (5'- GCATCGATGAAGAACGCAGC-3') y ITS4R (5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Shen et al., 2020; White et al., 1990). El programa de amplificación consistió en un 1 ciclo de desnaturalización a 95°C por 3 min, 25 ciclos de 95°C por 30 s, 55°C por 30 s, 72°C por 30 s, seguido de una extensión final a 72°C por 5 min y finalmente almacenado a 4°C (Illumina, 2013). Los fragmentos obtenidos para 16S tuvieron un tamaño entre 440 - 465 pb y para ITS entre 316 - 420 pb. Los primers forward y reverse contenían las secuencias de los adaptadores.

6.5. Análisis sensorial

Las muestras de café tomadas por triplicado a las 18, 24, 30 y 36 h, y posteriormente secadas, fueron sometidas a trilla, tostado, molienda y preparación en los laboratorios de Almacafé, Caficosta y Red Ecolsierra teniendo en cuenta el protocolo de catación establecido por la Asociación de Cafés Especiales (SCA, 2015). La calidad de la bebida de cada una de las 12 muestras fue establecida por un panel de catadores entrenados con certificado Q-Grader (Evangelista et al., 2014a) pertenecientes a los laboratorios anteriormente mencionados. Los atributos sensoriales evaluados

corresponden a fragancia/aroma, sabor, retrogusto, acidez, cuerpo, equilibrio, dulzura, uniformidad, taza limpia, defectos e impresión general (SCA, 2015).

Los atributos específicos son puntuaciones positivas de calidad que reflejan una calificación de juicio por parte del catador, los defectos son puntuaciones negativas que denotan sensaciones de sabor desagradables y el puntaje general se basa en la experiencia de sabor del catador individual como una evaluación personal. Los puntajes de cada atributo se registraron en el cuadro correspondiente en el formulario de catación.

El puntaje final se calculó sumando primero los puntajes individuales dados para cada uno de los atributos principales en la casilla marcada “puntaje total”. Los defectos se restaron del “Puntaje total” para llegar a un “Puntaje final” comprendido entre 0 y 100 puntos. Adicionalmente, los catadores proporcionaron una descripción de las características sensoriales de cada bebida. La Tabla 3 muestra la clave de puntuación que ha demostrado ser una forma significativa de describir el rango de calidad del café para el puntaje final.

Tabla 3. Clasificación de la calidad de la bebida de café de acuerdo con el puntaje final del protocolo de catación

Puntaje	Calidad de café
< 80,00	Café no especial
80,00 - 84,99	Café especial muy bueno
85,00 - 89,99	Café especial excelente
90,00 - 100,00	Café especial excepcional

Fuente: SCA (2015)

6.6. Análisis bioinformático

Los reads crudos (secuencias inferidas de pares base) obtenidos de la secuenciación de las muestras fueron analizadas usando la plataforma MOTHUR v1.39.5 y se siguió el protocolo estándar para librerías de Illumina Miseq (SOP) (Schloss et al., 2009).

6.6.1. Bacterias

Los reads pareados o paired-end (PE) reads, fueron ensamblados usando la herramienta *make.contigs* de MOTHUR v1.39.5 y alineados a la base de datos de referencia del 16S Silva (Silva.nr v138). Posteriormente se utilizó el algoritmo *VSEARCH* para remover las secuencias quiméricas. Las secuencias de linajes no bacterianos (Secuencias de origen mitocondrial, cloroplasto, de arqueas y de eucariotas) fueron removidas para los análisis posteriores.

Se utilizó la rutina *dist.seqs* para agrupar los reads en unidades taxonómicas operacionales (Operational Taxonomic Units-OTUs), considerando una distancia límite entre secuencias de 0,03. Los datos fueron normalizados con el método *totalgroup*. La clasificación filogenética de los OTUS fue realizada con la herramienta *Clasiffier* de la base de datos del RDP (Ribosomal Database Project-RDP) con un umbral de 80 (80 Bootstrap threshold) (Cole et al., 2014).

La diversidad microbiana para cada muestra fue calculada con el paquete *Phyloseq* del software R (R v3.6.3). Además, se realizó un análisis de rarefacción y se calcularon los índices de diversidad alfa incluyendo: Especies Observadas, Chao1, ACE, Shannon e InvSimpson.

6.6.2. Hongos

Los reads pareados o paired-end (PE) reads, fueron ensamblados usando la herramienta *make.contigs* de MOTHUR v1.39.5 y alineados a la base de datos de referencia del UNITE versión 04.02.2020. Posteriormente se utilizó el algoritmo *VSEARCH* para remover las secuencias quiméricas. Las secuencias de linajes no fúngicos (Secuencias de origen desconocido y de protistas y plantas -unknown-Plantae-Protista-) fueron removidas para los análisis posteriores.

Se utilizó la rutina *dist.seqs* para agrupar los reads en unidades taxonómicas operacionales (Operational taxonomic units-OTUs), considerando una distancia límite entre secuencias de 0,03. Los datos fueron normalizados con el método *totalgroup*. La clasificación de los OTUs fue realizada con la herramienta *classify.seqs* del programa

MOTHUR con el método *k-nearest neighbor* con un valor cutoff de 80. Para cada muestra realizó análisis de rarefacción y se calcularon los índices de diversidad alfa incluyendo: Especies Observadas, Chao1, ACE, Shannon e InvSimpson.

6.7 Análisis estadístico

Los datos generados en las variables estudiadas fueron tabulados en Microsoft Excel v.2104. A los valores obtenidos del análisis fisicoquímico, microbiológico y sensorial se les calculó la media, la desviación estándar y fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de $p = 0.05$ en el software estadístico InfoStat v.2020 con el fin de establecer diferencias significativas en las características evaluadas, además se les aplicó el método de comparación de LSD Fisher para establecer si los resultados a las distintas horas de muestreo de cada variable son significativamente diferentes.

Los valores obtenidos para cada variable también fueron sometidos a una correlación de Spearman para evaluar la dependencia entre ellos en el software estadístico R v4.0.3 y fueron graficados usando la librería *corrplot*.

7. RESULTADOS

7.1. Análisis fisicoquímico

Los resultados de las características fisicoquímicas (pH, temperatura y Grados Brix) durante el proceso de fermentación de café en la SNSM se encuentran consignados en la Tabla 4. Se presentó una disminución del pH pasando de 5,37 a 3,96 y los Grados Brix de 6,53 °Bx a 4,30 °Bx a través de las 36 horas de fermentación, evidenciando una correlación positiva entre ellos ($\rho = 0,88$) (ANEXO A). Respecto a la temperatura de la masa del café, ésta se situó entre los 17,30°C y 22,57°C y fue superior a la temperatura ambiental en las horas muestreadas (Tabla 1 y Tabla 4).

Tabla 4. Características fisicoquímicas durante el proceso de fermentación de *C. arabica* L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)

Tiempo de Fermentación (h)	Características fisicoquímicas		
	pH	Temperatura (°C)	Grados Brix (°Bx)
0	5,37 ± 0,16 D	22,50 ± 0,26 D	6,53 ± 0,12 C
6	5,17 ± 0,12 D	19,47 ± 0,12 B	6,40 ± 0,17 C
12	4,75 ± 0,14 C	19,13 ± 0,60 B	5,00 ± 0,00 B
18	4,31 ± 0,11 B	20,87 ± 0,25 C	4,93 ± 0,06 B
24	4,10 ± 0,11 AB	22,57 ± 0,31 D	4,27 ± 0,65 A
30	4,07 ± 0,12 A	19,27 ± 0,40 B	4,30 ± 0,00 A
36	3,96 ± 0,09 A	17,30 ± 0,26 A	4,30 ± 0,00 A

Medias con una letra común (columnas) no son significativamente diferentes en prueba LSD de Fisher ($p > 0,05$)

7.2. Análisis microbiológico

7.2.1. Generalidades del secuenciamiento profundo

Los resultados generales del secuenciamiento de los genes 16S e ITS se encuentran consignados en la Tabla 5. De las secuencias crudas generadas, se asignaron OTUs a nivel de género alrededor de 21.000 para 16S y de 41.000 para ITS. El análisis de rarefacción mostró un valor de cobertura >99% (>0,99) en el caso de las bacterias y >98% (>0,98) en el de hongos, indicando que el muestreo fue suficiente y presenta las características apropiadas para estudiar la diversidad en las muestras de interés.

Tabla 5. Resultados generales del secuenciamiento profundo de muestras obtenidas del proceso de fermentación de *C. arabica* L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)

Tiempo de fermentación (h)	Réplica	16S				ITS			
		Lecturas crudas	Puntuaciones de calidad (Q30)	Lecturas asignadas	Cobertura	Lecturas crudas	Puntuaciones de calidad (Q30)	Lecturas asignadas	Cobertura
0	1	218778	81,70	21058	0,997911	156680	72,55	41041	0,996979
	2	191614	81,95	21074	0,999098	265918	75,07	41208	0,989953
6	1	211402	84,43	21045	0,992682	235050	80,82	41154	0,988507
	2	160450	85,21	21020	0,993245	212824	80,74	41106	0,990926
12	1	165160	84,62	21028	0,996814	230084	79,57	41091	0,994865
	2	201656	84,50	21046	0,995058	237428	80,02	41095	0,995693
18	1	179950	85,05	21036	0,996292	231448	79,41	41074	0,995666
	2	174162	84,32	21030	0,996053	234616	78,45	41063	0,995519
24	1	244624	84,21	21019	0,996765	209872	79,50	41065	0,997127
	2	881762	84,99	21004	0,997239	205440	80,20	41091	0,995449
30	1	203898	84,96	21041	0,996578	230342	79,86	41076	0,996567
	2	209004	84,20	21057	0,996248	240226	79,03	41062	0,997175
36	1	232694	84,51	21057	0,995726	244706	79,28	41077	0,995155
	2	189208	84,51	21038	0,996578	241996	79,56	41081	0,996422

7.2.2. Abundancia, riqueza y diversidad microbiana

La abundancia de las poblaciones microbianas durante el proceso de fermentación de café en la SNSM se puede observar en la Figura 9. A nivel general, durante el proceso de fermentación, las bacterias fueron más abundantes que los hongos.

Las bacterias evidencian su menor abundancia al inicio del proceso, aumentando hasta las 24 horas donde alcanzan su mayor valor y posteriormente disminuyen. Los hongos no muestran fluctuaciones significativas en su abundancia, sin embargo, a las 0 horas presenta su mayor población y a las 6 horas la menor.

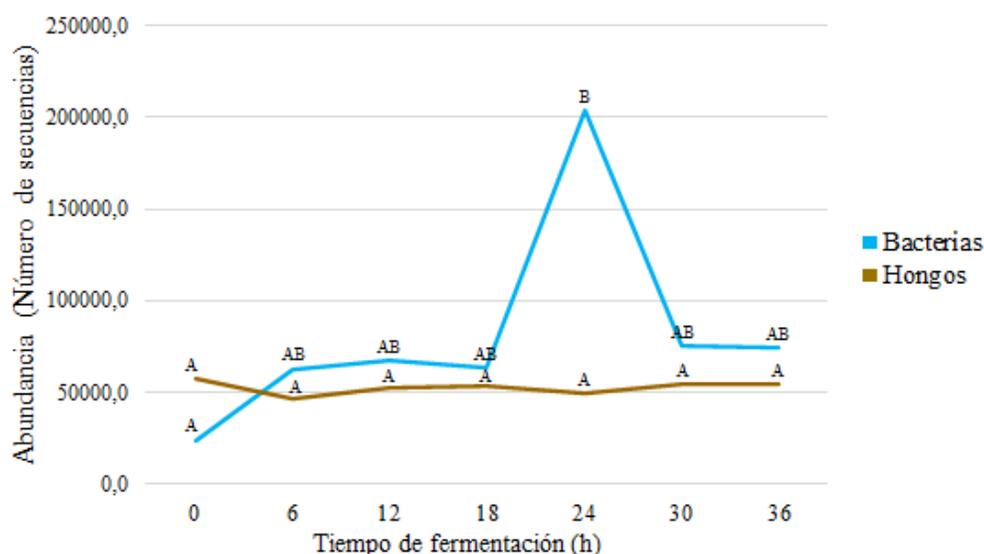


Figura 9. Abundancia de poblaciones microbianas durante el proceso de fermentación de *C. arabica* L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)
Medias con una letra común (columnas) no son significativamente diferentes en prueba LSD de Fisher ($p > 0,05$)

Los resultados obtenidos de los índices de diversidad alfa (α diversidad) se encuentran en la Tabla 6. Por un lado, un mayor valor en los índices de especies observadas, Chao1 y ACE indica una mayor riqueza. Por otro lado, un mayor valor en los índices Shannon e Inverso de Simpson indican una mayor diversidad de especies en función de la riqueza de especies y su abundancia relativa. En general se evidencia que, durante el proceso de fermentación de café en la SNSM, la riqueza de hongos (ITS) es superior a la de bacterias (16S). Sin embargo, la población bacteriana presenta mayor diversidad que la de hongos.

Tabla 6. Índices de riqueza y diversidad de poblaciones microbianas de las secuencias de genes de rRNA 16S (Bacterias) y rRNA ITS (Hongos) de muestras obtenidas del proceso de fermentación de *C. arabica* L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)

Tiempo de fermentación (h)	Especies Observadas		Chao1		ACE	
	16S	ITS	16S	ITS	16S	ITS
0	393,50 ± 75,66 C	416,00 ± 197,99 B	415,97 ± 95,34 AB	1546,26 ± 1411,25 A	405,12 ± 82,53 AB	1575,09 ± 1571,14 A
6	270,50 ± 16,26 B	707,00 ± 59,40 C	602,31 ± 2,69 B	1740,48 ± 477,18 A	580,95 ± 2,70 B	1676,02 ± 386,30 A
12	154,50 ± 24,75 A	374,50 ± 9,19 AB	367,30 ± 169,36 A	644,81 ± 101,64 A	399,63 ± 166,98 AB	761,42 ± 145,14 A
18	151,00 ± 2,83 A	322,00 ± 18,38 AB	307,38 ± 25,83 A	783,95 ± 244,07 A	327,98 ± 48,48 A	768,41 ± 59,93 A
24	128,00 ± 11,31 A	255,00 ± 60,81 AB	250,31 ± 17,31 A	602,06 ± 272,70 A	264,69 ± 36,62 A	650,91 ± 241,14 A
30	134,00 ± 1,41 A	204,00 ± 24,04 A	327,99 ± 17,56 A	1117,75 ± 570,28 A	334,25 ± 39,99 A	594,28 ± 30,46 A
36	148,00 ± 5,66 A	259,50 ± 30,41 AB	306,64 ± 79,40 A	928,69 ± 631,88 A	353,92 ± 87,27 A	871,29 ± 302,83 A

Continuación...

Tiempo de fermentación (h)	Shannon		InvSimpson	
	16S	ITS	16S	ITS
0	3,90 ± 0,10 D	1,74 ± 0,49 CD	17,10 ± 2,27 C	2,56 ± 0,88 AB
6	2,12 ± 0,07 C	2,25 ± 0,28 D	4,37 ± 0,54 B	3,28 ± 0,89 B
12	1,54 ± 0,06 A	1,53 ± 0,02 ABC	2,38 ± 0,13 AB	2,05 ± 0,35 A
18	1,48 ± 0,01 A	1,55 ± 0,11 BC	2,24 ± 0,04 A	2,30 ± 0,06 AB
24	1,81 ± 0,04 B	1,00 ± 0,07 A	3,54 ± 0,31 AB	1,65 ± 0,17 A
30	1,76 ± 0,05 B	1,03 ± 0,14 AB	3,77 ± 0,02 AB	1,81 ± 0,20 A
36	1,68 ± 0,04 B	1,13 ± 0,07 AB	3,38 ± 0,06 AB	1,91 ± 0,16 A

Medias con una letra común (columnas) no son significativamente diferentes en prueba LSD de Fisher ($p > 0,05$)

La mayor riqueza de bacterias representada por las Especies Observadas se presentó al inicio de fermentación, mientras que los índices Chao1 y ACE mostraron la mayor riqueza a las 6 horas de fermentación. En los tres índices de riqueza, se identifica el menor valor a las 24 horas. Respecto a los hongos, los tres índices de riqueza mostraron un mayor valor a las 6 horas de fermentación. Los índices de Especies Observadas y ACE sugirieron la menor riqueza de hongos a las 30 horas, mientras que el índice Chao1 presentó el menor valor a las 24 horas de fermentación.

En el caso de los indicadores de diversidad (Shannon e InvSimpson), ambos mostraron la mayor diversidad de bacterias al inicio de la fermentación y su menor diversidad a las 18 horas. Por otro lado, ambos índices presentaron la mayor diversidad de hongos a las 6 horas de fermentación y la menor diversidad a las 24 horas.

7.2.3. Abundancia relativa de géneros microbianos

La Figura 10 muestra el top 15 de géneros bacterianos y fúngicos identificados durante el proceso de fermentación de café en la SNSM de un total de 695 géneros de bacterias y 156 de hongos (ANEXO B y ANEXO C). Los géneros bacterianos relacionadas engloban el 97,65% del total de las secuencias del gen rRNA 16S del conjunto de muestras, donde el género *Leuconostoc* es predominante con el 43,77%, seguido de *Acetobacter* (22,08%), *Lactobacillus* (11,36%) y *Weissella* (11,27%). Respecto a los géneros fúngicos relacionados, éstos comprenden el 99,10% de las secuencias del gen rRNA ITS y son liderados por *Kazachstania* (51,53%), Hongo no clasificado 1 (21,94%), Hongo no clasificado 2 (10,84%) y *Hanseniaspora* (3,32%).

Las bacterias del género *Leuconostoc* presenta su menor población al inicio del proceso de fermentación, aumentando hasta las 18 horas donde se posiciona como el género predominante con el 65,47% de la abundancia relativa y vuelve a disminuir hasta el final del proceso. *Acetobacter* muestra su menor abundancia a las 18 horas y aumenta hasta el final del proceso donde representa el género con mayor número de individuos con el 42,91% de la abundancia. *Lactobacillus* evidencia su mayor abundancia a las 6 horas, la cual disminuye hasta las 30 horas alcanzando su menor valor y vuelve a aumentar en pequeña proporción a las 36 horas. *Weissella* presenta el menor número de

individuos al inicio de fermentación, el cual asciende hasta las 30 horas alcanzando su valor máximo y vuelve a disminuir al final del proceso. Los demás géneros bacterianos relacionados en la Figura 10A evidencian poblaciones significativamente inferiores a los predominantes.

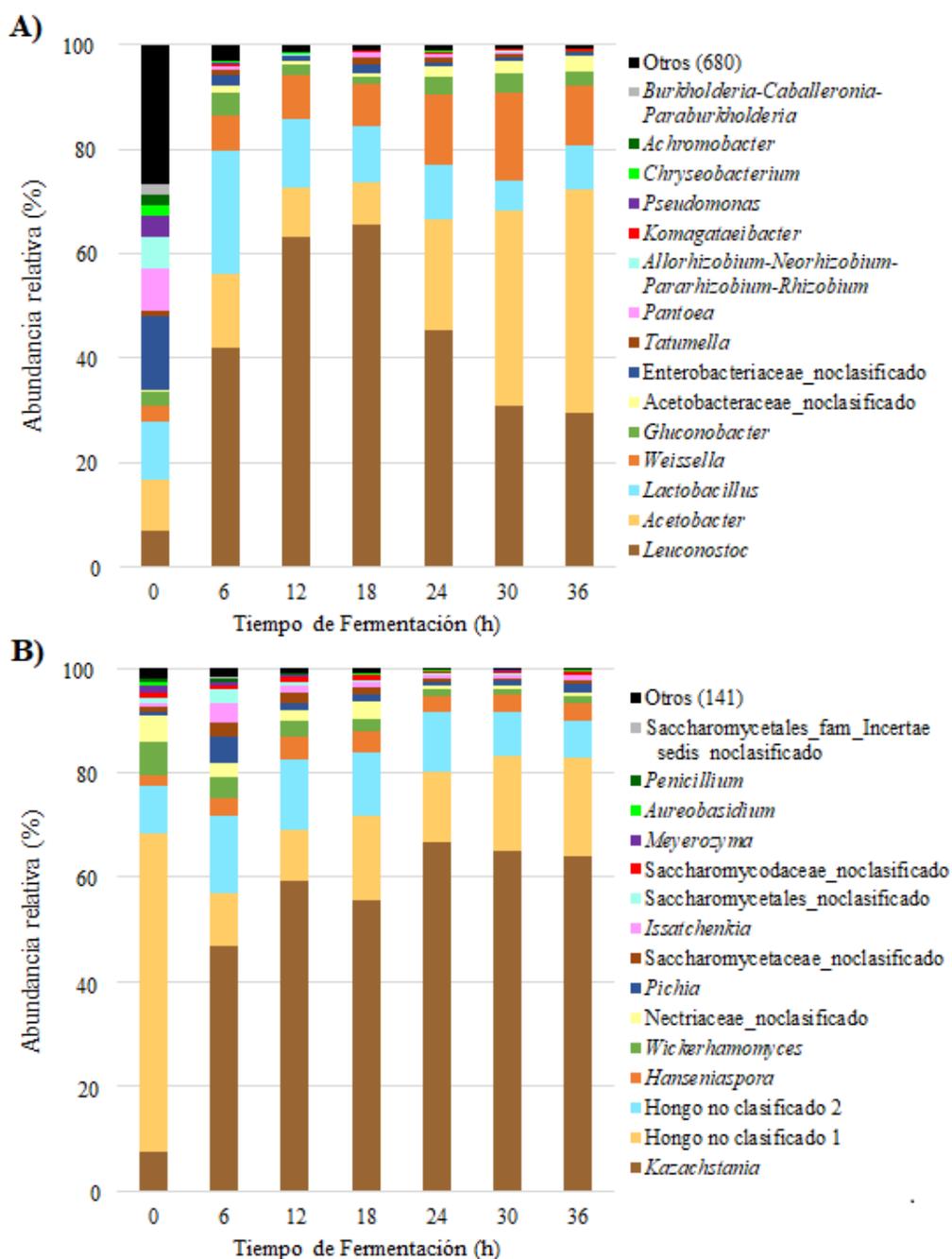


Figura 10. Top 15 de géneros microbianos presentes durante el proceso de fermentación de *C. arabica* L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM). A) Bacterias; B) Hongos

En cuanto a los géneros fúngicos, *Kazachstania* presenta su menor población al inicio de la fermentación y alcanza su mayor abundancia a las 24 horas, siendo el género predominante el resto del proceso con el 66,57% a las 24 h, 64,97% a las 30 h y 63,85% a las 36 h. Seguido se encuentra el género del Hongo no clasificado 1 que se posiciona como el más abundante al inicio del proceso con el 60,99% y muestra su menor población a las 12 h aumentando hasta finalizar el proceso. El género del Hongo no clasificado 2 evidencia su mayor número de individuos a las 6 h y disminuye hasta las 36 h donde alcanza su punto mínimo. El resto de los géneros de hongos relacionados en la Figura 10B poseen su mayor población en las primeras 12 horas de fermentación con abundancias relativas significativamente menores a los tres géneros líderes.

7.3. Análisis sensorial

Los resultados obtenidos de la calidad sensorial de las bebidas obtenidas de los granos de *C. arabica* L. fermentados en la SNSM por 18, 24, 30 y 36 h se encuentran en la Tabla 7. De manera general, se obtuvieron puntajes superiores a 80 puntos clasificándolos como café especial, sin embargo, la bebida preparada con los granos fermentados por 36 h alcanzó el mayor puntaje promedio clasificado como café especial excelente; caracterizado por poseer sabor dulce (panela, miel, caramelo, crema), acidez media-alta, notas de chocolate, frutales (durazno, naranja, frutos secos, drupas, maracuyá) y florales (Rosas, Limoncillo).

7.4. Influencia de las variables estudiadas sobre la calidad sensorial de la bebida

En la Figura 11 se muestra de manera gráfica las correlaciones existentes entre las características fisicoquímicas, los índices de diversidad alfa y la calidad sensorial de las bebidas obtenidas de la fermentación de café en la SNSM. La calidad sensorial de la bebida posee una correlación positiva perfecta ($\rho = 1$) con la riqueza de hongos ACE (H), una dependencia positiva ($\rho = 0,80$) con las especies observadas de hongos y una asociación negativa ($\rho = -0,80$) con la diversidad de bacterias InvSimpson (B).

Tabla 7. Características sensoriales y clasificación de calidad de bebidas obtenidas de *C. arabica* L. fermentado en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)

Tiempo de fermentación (h)	Lab	Puntaje final	Descriptor	Clasificación de calidad	Puntaje promedio	Calificación de calidad promedio
18	A	82,25	CARAMELO, VAINILLA, MANDARINA	Café especial muy bueno	84,92 ± 3,22 A	Café especial muy bueno
	B	88,50	DULCE, ACIDEZ ALTA, LIMONCILLO, CARDAMOMO, FLORAL	Café especial excelente		
	C	84,00	DULCE (Crema, Miel), FLORAL (Rosas, Limoncillo), FRUTAL (Mandarina, Maracuyá), CHOCOLATE	Café especial muy bueno		
24	A	83,25	CHOCOLATE, PANELA, MIEL	Café especial muy bueno	84,67 ± 2,04 A	Café especial muy bueno
	B	87,00	DULCE, ACIDEZ MEDIA ALTA, LIMONCILLO, CARDAMOMO	Café especial excelente		
	C	83,75	DULCE (Miel, Caramelo), CHOCOLATE, FLORAL (Rosas, Limoncillo), FRUTAL (Cítrico), TERROSO (Champiñón)	Café especial muy bueno		
30	A	83,50	MIEL, FLOR DE CAFÉ, LIMON	Café especial muy bueno	84,00 ± 0,50 A	Café especial muy bueno
	B	84,00	DULCE, BALANCEADA, ACIDEZ MEDIA, CREMOSA, LIGERAMENTE CÍTRICA	Café especial muy bueno		
	C	84,50	DULCE, CHOCOLATE, FLORAL (Rosas), FRUTAL (Frutos del bosque, Maracuyá)	Café especial muy bueno		
36	A	84,25	DURAZNO, NARANJA, PANELA	Café especial muy bueno	85,00 ± 0,66 A	Café especial excelente
	B	85,50	DULCE, BALANCEADA, ACIDEZ MEDIA ALTA, NOTAS A LIMONCILLO	Café especial excelente		
	C	85,25	DULCE (Crema, Miel, Caramelo), CHOCOLATE, FLORAL (Rosas), FRUTAL (Frutos secos, Drupas, Maracuyá)	Café especial excelente		

Lab: Laboratorio; A: Caficosta, B: Almacafé, C: Red Ecolsierra.

Medias con una letra común (columnas) no son significativamente diferentes en prueba LSD de Fisher ($p > 0,05$)

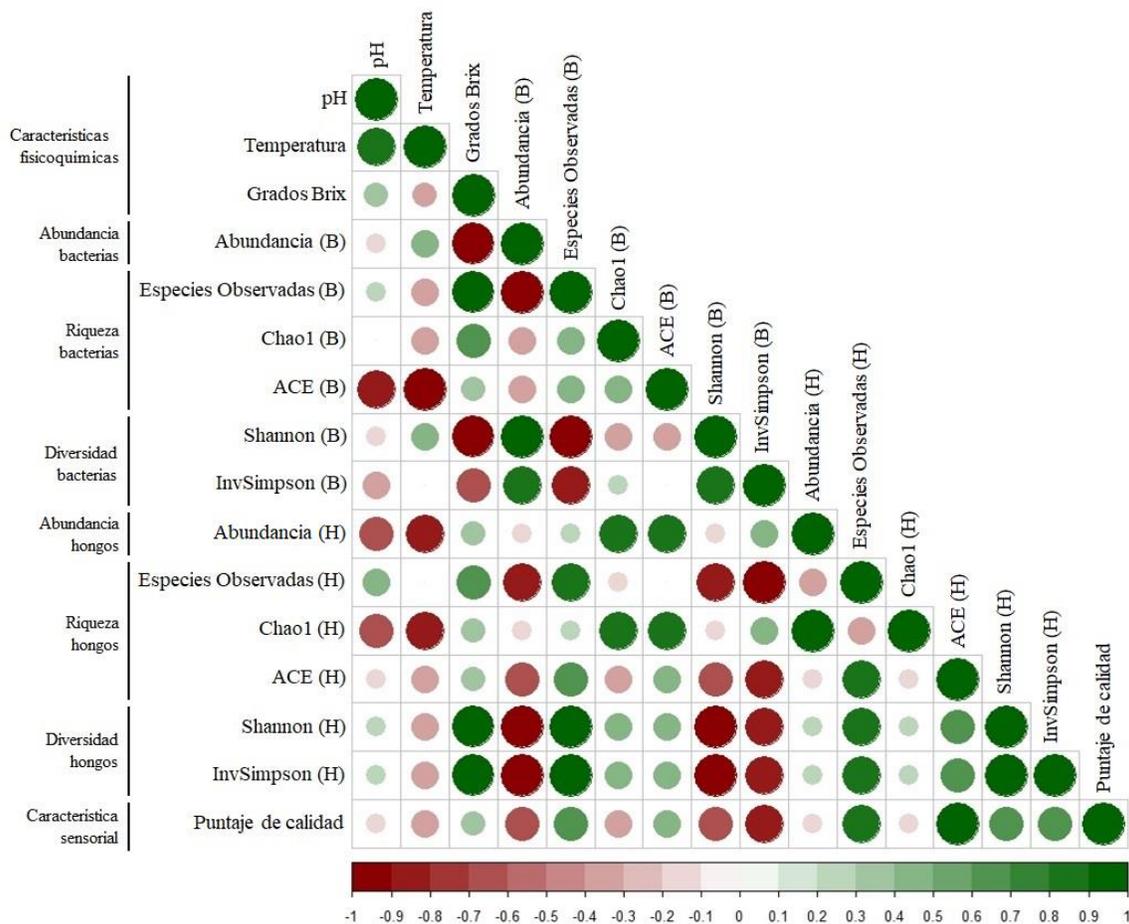


Figura 11. Relaciones de co-ocurrencia y co-exclusión entre las características físico-químicas, la abundancia microbiana, la riqueza microbiana, la diversidad microbiana y la calidad sensorial de la bebida obtenidos de la fermentación de *C. arabica* L. por 18, 24, 30 y 36 horas en la SNSM

Las correlaciones fuertes se indican mediante círculos grandes, mientras que las correlaciones débiles se indican mediante círculos pequeños. Los colores de la barra de escala denotan la naturaleza de la correlación, donde el verde oscuro ($\rho = 1$) indica una correlación positiva perfecta (co-ocurrencia) y el rojo oscuro ($\rho = -1$) indica una correlación negativa perfecta (co-exclusión). B = Bacterias; H = Hongos.

Las correlaciones entre las características físico-químicas, los géneros microbianos y la calidad sensorial de la bebida obtenidos de la fermentación de café en la SNSM están representadas en la Figura 12. La calidad de la bebida presenta una correlación negativa perfecta ($\rho = -1$) con el género bacteriano *Achromobacter*, asociaciones negativas ($\rho = -0,80$) con las bacterias de los géneros *Weissella*, *Gluconobacter* y *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*, y correlación negativa ($\rho = -0,74$) con la bacteria del género *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*. Se identifican

correlaciones positivas de la calidad de la bebida con las levaduras del género *Pichia* y del género no clasificado de la familia Saccharomycodaceae ($\rho = 0,80$), y con bacterias del género *Pseudomonas* ($\rho = 0,74$).

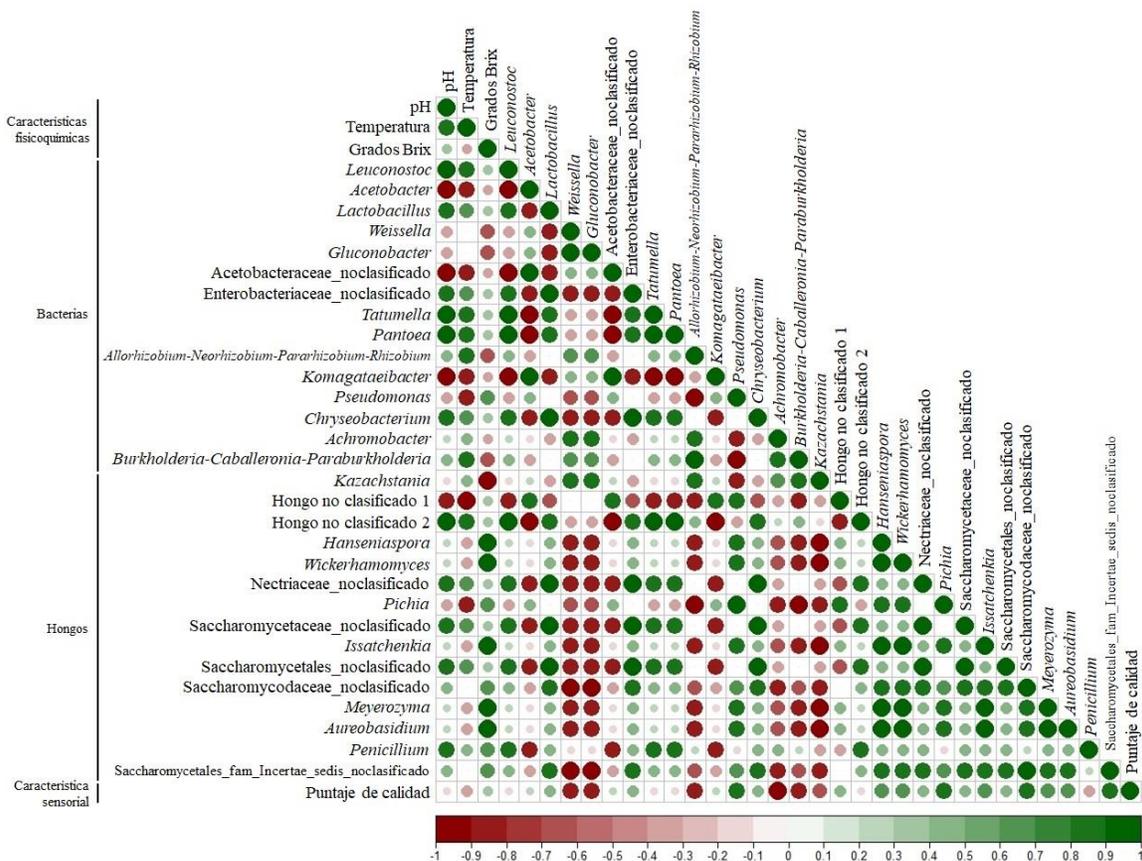


Figura 12. Relaciones de co-ocurrencia y co-exclusión entre las características fisicoquímicas, el top 15 de géneros microbianos y la calidad sensorial de la bebida obtenidos de la fermentación de *C. arabica* L. por 18, 24, 30 y 36 horas en la SNSM

Las correlaciones fuertes se indican mediante círculos grandes, mientras que las correlaciones débiles se indican mediante círculos pequeños. Los colores de la barra de escala denotan la naturaleza de la correlación, donde el verde oscuro ($\rho = 1$) indica una correlación positiva perfecta (co-ocurrencia) y el rojo oscuro ($\rho = -1$) indica una correlación negativa perfecta (co-exclusión). B = Bacterias; H = Hongos.

8. DISCUSIÓN

8.1. Análisis fisicoquímico

La disminución del pH durante la fermentación de *C. arabica* L. mediante método húmedo ha sido reportado en estudios realizados en Brasil y China (De Carvalho Neto et al., 2018b; Zhang et al., 2019b). Este comportamiento se debe al metabolismo microbiano durante la fermentación donde se producen ácidos orgánicos al descomponer el mucílago del café ocasionando un decrecimiento en el valor del pH (De Carvalho Neto et al., 2017; Evangelista et al., 2015; Martins et al., 2019). La disminución de los grados Brix, que se refiere al contenido de azúcares (sólidos disueltos), también se puede explicar por la acción de los microorganismos en el proceso de fermentación ya que utilizan los azúcares como fuente de carbono para su crecimiento (Elhalis et al., 2020).

Se ha demostrado de que la reducción de azúcares durante la fermentación se acompaña de la acumulación de ácidos como láctico, acético y succínico (De Carvalho Neto et al., 2017; De Carvalho Neto et al., 2018b; Elhalis et al., 2020). Lo que también se puede explicar al analizar el coeficiente de correlación donde se evidencia dependencia entre el pH y los grados Brix ($\rho = 0,88$) (ANEXO A).

En cuanto a la temperatura de la masa de café, su ligero aumento en comparación con la temperatura ambiental pudo ser causado por la presencia de microorganismos aeróbicos que generan calor en el metabolismo microbiano (Feng et al., 2016). Sin embargo, también se vio influenciada por la temperatura atmosférica, lo cual es consistente con estudios previos y fue corroborado con la obtención de una correlación positiva entre ellos ($\rho = 0,89$) (ANEXO A) (Nasanit & Satyawut, 2015; Ribeiro et al., 2018).

Durante la fermentación, el pH del mucílago disminuye hasta un valor que depende del sistema y de la temperatura de fermentación. Valores entre 3,7 y 4,1 son adecuados y seguros para interrumpir el proceso (Puerta, 2012), por ello se recomienda realizar un monitoreo de la fermentación para ejercer un control del proceso. En el caso de la finca Barlovento en la SNSM, la fermentación se interrumpe a las 36 horas con un pH de 3,96, demostrando que en el tiempo fijado se encuentran las condiciones de pH requeridas.

8.2. Análisis microbiológico

8.2.1. Abundancia, riqueza y diversidad microbiana

La dominancia de las poblaciones bacterianas sobre las fúngicas durante el proceso de fermentación de café mediante método húmedo en la SNSM concuerda con la información reportada anteriormente en estudios realizados en Brasil y China (Evangelista et al., 2015; Feng et al., 2016; Martins et al., 2020; Zhang et al., 2019b).

La riqueza microbiana de la SNSM representada por las especies observadas, tanto de bacterias como de hongos, es significativamente superior a la encontrada en el municipio de Buesaco en el departamento de Nariño por De Oliveira et al. (2019). Sin embargo, la riqueza bacteriana en la SNSM hallada por el índice Chao1 es notablemente inferior mientras que la riqueza fúngica es significativamente superior. Esto quiere decir que la SNSM, en comparación con Buesaco, posee mayor número de especies de bacterias y menor de hongos representadas por pocos individuos (especies raras).

Respecto a la diversidad microbiana, el índice Shannon demuestra que en la SNSM existe una mayor diversidad de bacterias y hongos en comparación con el municipio de Buesaco. No obstante, el índice InvSimpson sugiere que la diversidad de hongos en la SNSM es inferior después de 12 horas de fermentación.

8.2.2. Abundancia relativa de géneros microbianos

Las secuencias genéticas obtenidas en la presente investigación correspondientes a 695 géneros de bacterias y 156 de hongos, representan una mayor diversidad que las encontradas en las fermentaciones de café realizadas en Brasil, Ecuador y Colombia usando tecnologías basadas en Illumina (De Bruyn et al., 2016; De Carvalho Neto et al., 2018b; De Oliveira et al., 2019). Cuantos más microorganismos participen en una comunidad, más complejas serán las interacciones (De Oliveira et al., 2019). En la fermentación de muchos productos emergen interacciones tanto dentro como entre diferentes grupos microbianos (Por ejemplo, levadura-levadura, levadura-bacteria, bacteria-bacteria e interacciones de hongos filamentosos con otras especies) (De Oliveira et al., 2019; Viljoen, 2006).

La descripción de los microorganismos presentes en la fermentación de café de la SNSM muestra por primera vez la gran diversidad microbiana que alberga este proceso en la región, el cual es responsable de la producción de cafés que son reconocidos por su alta calidad. Estos microbiomas centrales tienen una fuerte influencia en los metabolitos producidos durante la fermentación y pueden afectar la composición química de los cafés colombianos (De Oliveira et al., 2019). La diversidad encontrada además de permitir una mejor comprensión de los microorganismos involucrados, abre la posibilidad de escoger cultivos iniciadores de fermentación que ayuden a optimizar y estandarizar procesos que contribuyan a la producción de café con atributos sensoriales diferenciales a través de la modulación del sabor con grupos microbianos específicos, así como escoger posibles candidatos para los marcadores biológicos de los cafés colombianos (De Oliveira et al., 2019).

8.2.2.1. Bacterias

El género de Bacterias del Ácido Láctico (BAL) *Leuconostoc* también ha sido reportado como el taxón bacterial prevalente durante el proceso de fermentación de café por método húmedo en investigaciones realizadas en el departamento de Nariño en Colombia, Ecuador, China, Brasil y Australia (De Bruyn et al., 2016; De Carvalho Neto et al., 2018b; De Oliveira et al., 2019; Elhalis et al., 2020; Evangelista et al., 2015; Feng et al., 2016; Martins et al., 2020; Pothakos et al., 2020; Zhang et al., 2019b).

La presencia de Bacterias del Ácido acético (BAA) del género *Acetobacter* ha sido identificada en la fermentación del café en diferentes países, sin embargo su abundancia relativa no ha sido reportada como dominante (De Carvalho Neto et al., 2018a; De Oliveira et al., 2019; Elhalis et al., 2020; Pothakos et al., 2020; Ribeiro et al., 2018; Zhang et al., 2019b).

Lactobacillus y *Weissella*, géneros pertenecientes a las BAL, han sido identificados anteriormente en estudios de fermentación de café. En China, al igual que en la SNSM, *Lactobacillus* fue reportado con una abundancia significativa al inicio de la fermentación por Zhang et al. (2019b). No obstante, en el departamento de Nariño en Colombia presentó mayor abundancia al final de la fermentación (De Oliveira et al.,

2019). En Brasil y Ecuador también ha sido reportada como uno de los géneros más abundantes durante el proceso (De Bruyn et al., 2016; Martins et al., 2020; Ribeiro et al., 2018; Vilela et al., 2010).

Respecto a *Weissella*, igualmente se le ha reconocido su presencia en la fermentación de café en África, Brasil, Ecuador y Colombia (De Oliveira et al., 2019; Evangelista et al., 2015; Hamdouche et al., 2016; Pothakos et al., 2020). Su identificación principalmente al inicio del proceso lo reportó también Zhang et al. (2019b) en China y en Brasil se reconoció como un género dominante (De Carvalho Neto et al., 2018a).

Otras BAA de la familia Acetobacteraceae identificadas en la SNSM durante la fermentación de café han sido reconocidas en otros lugares, como por ejemplo *Gluconobacter* y *Acetobacter* (De Carvalho Neto et al., 2018a; De Oliveira et al., 2019; Pothakos et al., 2020; Ribeiro et al., 2018; Zhang et al., 2019b). Así como otras BAL de los géneros *Oenococcus* y *Fructobacillus* pertenecientes a la familia Leuconostocaceae y el género *Pediococcus* de la familia Lactobacillaceae (De Carvalho Neto et al., 2018a; De Oliveira et al., 2019). La presencia de miembros de la familia Enterobacteriaceae también se han identificado en otros estudios, por ejemplo el género *Tatumella* y *Pantoea* (Martins et al., 2020; Pothakos et al., 2020).

Las Bacterias del Ácido Láctico han sido reconocido como un componente integral del procesamiento del café en la mayoría de los países productores. Estas bacterias encuentran en la pulpa de café un ambiente propicio para su desarrollo donde metabolizan los azúcares y otros componentes menores para formar principalmente ácido láctico, lo que resulta en una disminución del pH (De Melo Pereira et al., 2020). Las BAL se han asociado a la generación de compuestos bioactivos como ésteres, cetonas, alcoholes superiores y aldehídos, las cuales influyen en los atributos sensoriales de las bebidas de café (Pereira et al., 2016b; Wang et al., 2019).

En el caso de las Bacterias del Ácido Acético, estas oxidan principalmente el etanol producido por las levaduras y el ácido láctico producido por BAL en ácido acético (Sarbu & Csutak, 2019). Las BAA están muy extendidas en la naturaleza y juegan un papel importante en la producción de alimentos y bebidas, ya sea de manera beneficiosa

(productos de chocolate, café, vinagre y cervezas especiales) o de manera perjudicial (deterioro de cervezas, vinos y sidras) (Xu et al., 2011)

8.2.2.2. Hongos

Kazachstania, el género de levaduras más abundante en la SNSM, no ha sido reportado en otros estudios sobre fermentación del mucílago de café. Sin embargo, se ha identificado en la fermentación de residuos de café (aguas residuales, pulpa y cascarilla) (Pires et al., 2017; Villa et al., 2019, 2020). Este género ha sido reconocido como predominante en la fermentación de masa madre (de Vuyst et al., 2016; Urien et al., 2019) y de cebada (Borling et al., 2015). A demás se ha reportado en la fermentación de la masa de Teff consumida en Etiopía (Tadesse et al., 2019), de cerveza Lambic (de Roos et al., 2018) y de uvas (Wang et al., 2021).

Las secuencias genéticas del segundo y tercer hongo más predominante en la fermentación de café en la SNSM aún no ha sido reportado en las bases de datos UNITE versión 04.02.2020. Esto significa que posiblemente se trate del descubrimiento de hongos que no han sido descritos anteriormente por la ciencia y que probable sean específicos de la región geográfica y el nicho de la SNSM, es decir especies autóctonas.

Las levaduras de los géneros *Hanseniaspora*, *Wickerhamomyces* y *Pichia* también han sido reportadas en la misma comunidad de microorganismos durante la fermentación de café en China, Ecuador y Brasil (Feng et al., 2016; Martins et al., 2020; Pothakos et al., 2020; Zhang et al., 2019b). El género *Pichia* ha sido reportado como una levadura dominante en la fermentación del café en distintos países (De Melo Pereira et al., 2014; De Oliveira et al., 2019; Feng et al., 2016; Masoud et al., 2004; Pereira et al., 2016a), sin embargo, en la presente investigación no fue el género más abundante. Esto demuestra la existencia de microbiomas específicos para cada zona cafetera que resulta en la producción de cafés con sabores distintivos para cada una de ellas.

Respecto a Nectriaceae, familia del género no clasificado posicionado en el top 15 de los hongos presentes en la SNSM, incluye numerosos patógenos vegetales y humanos importantes, así como varias especies que se utilizan ampliamente en aplicaciones industriales y comerciales como biodegradantes y agentes de biocontrol. Además es bien

sabido que los conceptos genéricos de esta familia no están bien definidos, ya que no se dispone de datos de secuencia de ADN para muchos de estos géneros (Lombard et al., 2015). En esta investigación también fue identificado *Fusarium*, miembro de dicha familia, caracterizado por ser un patógeno de importancia agronómica y estar asociado con la producción de micotoxinas (Asam et al., 2017). Sin embargo, su abundancia no es significativa.

El género *Issatchenkia* ha sido reportado sólo en un estudio de fermentación de café llevado a cabo en Arusha, Tanzania (Masoud et al., 2004). No obstante, ha sido identificado en la fermentación de granos de cacao en África (Daniel et al., 2009; Jespersen et al., 2005) y en el licor tradicional chino Daqu (Yan et al., 2019).

El género *Meyerozyma* también fue detectado en procesos de fermentación de café en Australia y Brasil (De Carvalho Neto et al., 2017; Elhalis et al., 2020; Evangelista et al., 2015), y es reconocido como dominante por Evangelista et al. (2015). Sin embargo, en el presente estudio no representa dominancia. Mientras que *Aureobasidium* no ha sido reportado en estudios similares.

Cabe destacar la presencia de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* en baja abundancia relativa en las primeras horas de fermentación, la cual disminuye posteriormente hasta el final del proceso. Estos géneros son reconocidos por producir Ocratoxina A (OTA) (Masoud & Kaltoft, 2006; Massawe & Lifa, 2010; Souza et al., 2017); una micotoxina clasificada como posible carcinogénica en humanos (IARC, 1993) y que ha sido reportada en muestras de café de diferentes orígenes cuya contaminación influye directamente en la seguridad alimentaria (FAO, 2006). El hecho que, una vez terminada la fermentación su abundancia no sea significativa, garantiza que el café proveniente de la SNSM sea inocuo. La reducción de la abundancia de *Penicillium* pudo deberse a la inhibición de su crecimiento por la presencia de la levadura dominante *Kazachstania* o por los géneros *Pichia* y *Hanseniaspora* (Liu et al., 2017). En el caso de *Aspergillus*, su baja abundancia puede ser también consecuencia del biocontrol ejercido por levaduras *Pichia* y *Hanseniaspora* (Masoud & Kaltoft, 2006; Ramos et al., 2010; Souza et al., 2017).

8.3. Influencia de las variables estudiadas sobre la calidad sensorial de la bebida

Los géneros bacterianos que poseen correlaciones negativas significativas con la calidad sensorial de la bebida ($\rho < -0,80$) no han sido reportados anteriormente como factores de deterioro de la calidad de la bebida de café. Sin embargo, la correlación negativa perfecta con el género *Achromobacter* es consistente con estudios realizados en productos de lechería que afirman que estas bacterias producen proteasas y lipasas que hidrolizan las proteínas y grasas presentes, dando como resultado alteraciones en las propiedades fisicoquímicas de estos productos y la generación de sabores desagradables sin afectar el pH (Frazier & Westhoff, 1993; Niamsiri & Batt, 2009).

Se ha demostrado que las BAA del género *Gluconobacter* son agentes causantes del deterioro de bebidas. Las cepas de este género son responsables de un cambio deletéreo en el jugo de naranja caracterizado por un marcado sabor rancio (Hommel, 2014). También se les considera como el agente más dañino del vino; son comunes en las uvas agrias podridas que pueden aumentar el nivel de ácido acético en los jugos de uva, que junto al acetato de etilo, da lugar a la mancha de “vinagre” (Hommel, 2014; Malfeito-Ferreira, 2014).

Aunque generalmente las BAL son beneficiosas para los alimentos y se utilizan para la fermentación donde contribuyen al sabor, la textura y la vida útil, algunas especies pueden desempeñar un papel importante en el deterioro y la descomposición de los alimentos, como en el caso de las pertenecientes al género *Weissella* (Champomier & Zagorec, 2014; Petruzzi et al., 2017; Remenant et al., 2015). Estas bacterias han sido identificadas como responsables del deterioro de ostras (Chen et al., 2013) y carnes (Dušková et al., 2013; Holm et al., 2013; Nieminen et al., 2011).

Las levaduras del género *Pichia*, el cual posee una correlación positiva con la calidad sensorial de la bebida de café de la SNSM ($\rho = 0,80$), han sido reconocidas como levaduras de importancia económica por su efecto en la producción de cafés de alta calidad con características dulces, florales y frutales (De Melo Pereira et al., 2014, 2015; Evangelista et al., 2014a, 2014b; Silva et al., 2013). Este género posee actividad pectinolítica que ayuda en la degradación de la pectina presente en la pulpa y mucílago del café al producir metabolitos que se difunden hacia el interior de los granos de café,

favoreciendo la formación del sabor de la bebida final (Silva et al., 2013). Además son responsables de la producción de compuestos volátiles como el acetaldehído (De Oliveira et al., 2019); molécula aromática que es conocida ampliamente por contribuir a las notas sensoriales afrutadas en las bebidas alcohólicas (Moreno et al., 2005). Sin embargo, aún no se conoce la relación directa entre el acetaldehído y la calidad del café.

El género bacteriano *Pseudomonas* aunque es reconocido como uno de los principales microorganismos responsables del deterioro de los alimentos (Arslan et al., 2011; Raposo et al., 2017), en el presente estudio mostró una dependencia positiva con la calidad sensorial de la bebida ($\rho = 0,74$). También se han reportado como microorganismos degradadores de cafeína, (Arimurti et al., 2018; Gokulakrishnan et al., 2007; Yu et al., 2015).

Si bien los resultados de las correlaciones realizadas en la presente investigación muestran que la calidad sensorial de la bebida posee una dependencia positiva con la riqueza de hongos y una relación negativa con la diversidad de bacterias, así como una relación con algunos géneros microbianos, dichas correlaciones están influenciadas por terceras variables no tenidas en cuenta. Se ha demostrado que la calidad sensorial de la bebida está relacionada principalmente con los metabolitos que producen ciertos microorganismos a través de diferentes rutas metabólicas (Ribeiro et al., 2018).

Por ejemplo, la especie de BAL *Leuconostoc lactis*, miembro del género más abundante durante el proceso de fermentación de café en la SNSM, se caracteriza por producir butirato de etilo y hexanoato de etilo a través de reacciones de esterificación entre alcoholes y ácidos grasos libres produciendo notas frutales en la bebida (De Melo Pereira et al., 2020). La levadura *Pichia fermentans*, miembro del género cuya abundancia tuvo mayor influencia en la calidad sensorial, al usarse como cultivo iniciador aumentó la producción de compuestos aromáticos volátiles específicos como etanol, acetaldehído, acetato de etilo y acetato de isoamilo, y las bebidas obtenidas alcanzaron puntajes sensoriales altos con características frutales y florales (De Melo Pereira et al., 2014, 2015).

9. CONCLUSIÓN

El presente documento representa la primera investigación llevada a cabo en la fermentación de café en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM) y el segundo estudio realizado en Colombia sobre diversidad microbiana en el proceso usando secuenciación de próxima generación (NGS). La SNSM posee la mayor diversidad microbiana reportada en las fermentaciones de café alrededor del mundo y tanto la presencia como la abundancia de hongos no clasificados durante el proceso, muestran la posibilidad del descubrimiento de nuevos microorganismos autóctonos. La población bacteriana fue dominada por los géneros *Leuconostoc*, *Acetobacter* y *Lactobacillus*, mientras que, en la población fúngica el género *Kazachstania* y dos hongos no clasificados fueron los predominantes.

El café de la SNSM se caracterizó por producir bebidas con una clasificación general de cafés especiales, influenciado de forma positiva por la riqueza de hongos y la abundancia de las levaduras del género *Pichia*, y de manera negativa con la diversidad de bacterias. Sin embargo, se hace necesario el estudio de los metabolitos presentes durante el proceso de fermentación para establecer los compuestos responsables de las características sensoriales de la bebida.

La alta diversidad microbiana encontrada durante el proceso de fermentación de *C. arabica* L. en la SNSM proporciona información útil sobre microorganismos que pueden ser usados como cultivos iniciadores de fermentación y como marcadores biológicos de los cafés colombianos. Se espera que los hallazgos reportados en esta investigación se conviertan en una base para futuros estudios y para la toma de decisiones por parte de los caficultores que conlleven a la optimización de sus procesos y así garantizar una alta calidad de la bebida de café.

BIBLIOGRAFÍA

- Adroit market research. (2019). *Global Specialty Coffee Market Size by Grade (80-84.99, 85-89.99, 90-100) by Application (Home, Commercial) by Region and Forecast 2019 to 2025*. Adroit market research. <https://www.adroitmarketresearch.com/industry-reports/specialty-coffee-market>
- Angulo Cuentas, G. L., Galvis Lista, E. A., González Zabala, M. P., & Barrios Vásquez, J. A. (2018). *Ambiente y sostenibilidad: una mirada desde la producción científica*. Universidad del Magdalena. <https://doi.org/10.21676/9789587461626>
- Arcila, J., Farfán, F., Moreno, A., Salazar, L. F., & Hincapié, E. (2007). *Sistemas de producción de café en Colombia*. Cenicafé. <http://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/720>
- Arimurti, S., Ardyati, T., Nurani, Y., Siswoyo, T. A., & Suharjono, S. (2018). Degradation of caffeine by *Pseudomonas monteilii* KRM9. *Malaysian Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.21161/mjm.110217>
- Aristizábal-Marulanda, V., Chacón-Perez, Y., & Cardona Alzate, C. A. (2017). The biorefinery concept for the industrial valorization of coffee processing by-products. In *Handbook of Coffee Processing By-Products* (pp. 63–92). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811290-8.00003-7>
- Arslan, S., Eyi, A., & Özdemir, F. (2011). Spoilage potentials and antimicrobial resistance of *Pseudomonas* spp. isolated from cheeses. *Journal of Dairy Science*, *94*(12), 5851–5856. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4676>
- Asam, S., Habler, K., & Rychlik, M. (2017). *Fusarium* Mycotoxins in Food. In *Chemical Contaminants and Residues in Food* (pp. 295–336). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100674-0.00014-X>
- Batista, L. R., Chalfoun, S. M., Silva, C. F., Cirillo, M., Varga, E. A., & Schwan, R. F. (2009). Ochratoxin A in coffee beans (*Coffea arabica* L.) processed by dry and wet methods. *Food Control*, *20*(9), 784–790. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.10.003>
- Bildosola, I., Rio-Belver, R. M., Garechana, G., & Cilleruelo, E. (2017). TeknoRoadmap, an Approach for Depicting Emerging Technologies. *Technol. Forecast. Soc. Change*, *117*, 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2017.01.015>
- Borling Welin, J., Lyberg, K., Passoth, V., & Olstorpe, M. (2015). Combined moist airtight storage and feed fermentation of barley by the yeast *Wickerhamomyces anomalus* and a lactic acid bacteria consortium. *Frontiers in Plant Science*, *6*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00270>
- Bressani, A. P. P., Martinez, S. J., Sarmiento, A. B. I., Borém, F. M., & Schwan, R. F. (2020). Organic acids produced during fermentation and sensory perception in specialty coffee using yeast starter culture. *Food Research International*, *128*, 108773. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108773>
- Bromberg, J. S., Fricke, W. F., Brinkman, C. C., Simon, T., & Mongodin, E. F. (2015). Microbiota—implications for immunity and transplantation. *Nature Reviews Nephrology*, *11*(6), 342–353. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2015.70>
- Bustamante, E. (2019). Firmado acuerdo de competitividad para cadena productiva de cafés especiales. *Hoy Diario Del Magdalena*.

- <https://www.hoydiariodelmagdalena.com.co/archivos/196283>
- Cague, R., Hube, A., & Gibson, D. (2002). *Beyond the bean: redefining coffee quality. Quick reference guide to standards for sustainable production systems. Environment and Natural Resource Management and Agribusiness Practice Networks*. Chemonics International.
- Champomier-Vergès, M., & Zagorec, M. (2014). Spoilage Microorganisms: Risks and Control. In *Handbook of Fermented Meat and Poultry* (pp. 383–388). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118522653.ch45>
- Chao, A. (1984). Nonparametric Estimation of the Number of Classes in a Population. *Scandinavian Journal of Statistics*, 11(4), 265–270. <http://www.jstor.org/stable/4615964>
- Chao, A., & Yang, M. C. K. (1993). Stopping Rules and Estimation for Recapture Debugging with Unequal Failure Rates. *Biometrika*, 80(1), 193. <https://doi.org/10.2307/2336768>
- Chazdon, R. L., Colwell, R. K., Denslow, J. S., & Guariguata, M. R. (1998). Statistical methods for estimating species richness of woody regeneration in primary and secondary rain forests of Northeastern Costa Rica. In *Forest biodiversity research, monitoring and modeling: conceptual background and old world case studies* (pp. 285–309). Parthenon Publishing. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/17965>
- Chen, H., Liu, Z., Wang, M., Chen, S., & Chen, T. (2013). Characterisation of the spoilage bacterial microbiota in oyster gills during storage at different temperatures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(15), 3748–3754. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6237>
- Coddington, J. A., Young, L. H., & Coyle, F. A. (1996). Stimating spider species richness in a southern Appalachian cove hardwood forest. *Journal of Arachnology*, 24, 111–128. https://repository.si.edu/bitstream/handle/10088/5420/Coddington_et_al_EstSpiSppRich96.pdf
- Cole, J. R., Wang, Q., Fish, J. A., Chai, B., McGarrell, D. M., Sun, Y., Brown, C. T., Porrás-Alfaro, A., Kuske, C. R., & Tiedje, J. M. (2014). Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Research*, 42(D1), D633–D642. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1244>
- Colwell, R. K., & Coddington, J. A. (1994). Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 345(1311), 101–118. <https://doi.org/10.1098/rstb.1994.0091>
- Cruz-O’Byrne, R., Piraneque-Gambasica, N., Aguirre-Forero, S., & Ramirez-Vergara, J. (2020). Microorganisms in coffee fermentation: A bibliometric and systematic literature network analysis related to agriculture and beverage quality (1965-2019). *Coffee Science*, 15, 1–14. <https://doi.org/10.25186/v15i.1773>
- Daniel, H.-M., Vrancken, G., Takrama, J. F., Camu, N., De Vos, P., & De Vuyst, L. (2009). Yeast diversity of Ghanaian cocoa bean heap fermentations. *FEMS Yeast Research*, 9(5), 774–783. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00520.x>
- De Bruyn, F., Zhang, S. J., Pothakos, V., Torres, J., Lambot, C., Moroni, A. V., Callanan, M., Sybesma, W., Weckx, S., & De Vuyst, L. (2016). Exploring the Impacts of

- Postharvest Processing on the Microbiota and Metabolite Profiles during Green Coffee Bean Production. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(1). <https://doi.org/10.1128/AEM.02398-16>
- De Carvalho Neto, D., De Melo Pereira, G., Tanobe, V., Thomaz Soccol, V., G. da Silva, B., Rodrigues, C., & Soccol, C. (2017). Yeast Diversity and Physicochemical Characteristics Associated with Coffee Bean Fermentation from the Brazilian Cerrado Mineiro Region. *Fermentation*, 3(1), 11. <https://doi.org/10.3390/fermentation3010011>
- De Carvalho Neto, D. P., De Melo Pereira, G. V., Finco, A. M. O., Letti, L. A. J., da Silva, B. J. G., Vandenberghe, L. P. S., & Soccol, C. R. (2018a). Efficient coffee beans mucilage layer removal using lactic acid fermentation in a stirred-tank bioreactor: Kinetic, metabolic and sensorial studies. *Food Bioscience*, 26, 80–87. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.10.005>
- De Carvalho Neto, D. P., De Melo Pereira, G. V., De Carvalho, J. C., Soccol, V. T., & Soccol, C. R. (2018b). High-Throughput rRNA Gene Sequencing Reveals High and Complex Bacterial Diversity Associated with Brazilian Coffee Beans Fermentation. *Food Technology and Biotechnology*, 56(1). <https://doi.org/10.17113/ftb.56.01.18.5441>
- De Melo Pereira, G. V., Neto, E., Soccol, V. T., Medeiros, A. B. P., Woiciechowski, A. L., & Soccol, C. R. (2015). Conducting starter culture-controlled fermentations of coffee beans during on-farm wet processing: Growth, metabolic analyses and sensorial effects. *Food Research International*, 75, 348–356. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.027>
- De Melo Pereira, G. V., Soccol, V. T., Brar, S. K., Neto, E., & Soccol, C. R. (2017). Microbial ecology and starter culture technology in coffee processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 2775–2788.
- De Melo Pereira, G. V., Soccol, V. T., Pandey, A., Medeiros, A. B. P., Andrade Lara, J. M. R., Gollo, A. L., & Soccol, C. R. (2014). Isolation, selection and evaluation of yeasts for use in fermentation of coffee beans by the wet process. *International Journal of Food Microbiology*, 188, 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.07.008>
- De Melo Pereira, G. V., da Silva Vale, A., De Carvalho Neto, D. P., Muynarsk, E. S., Soccol, V. T., & Soccol, C. R. (2020). Lactic acid bacteria: what coffee industry should know? *Current Opinion in Food Science*, 31, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.07.004>
- De Oliveira, A. C., De Melo, G. V., Coral, J. D., Alvear, M. C. R., Rosero, R., De Carvalho, D. P., Enríquez, H. G., & Soccol, C. R. (2019). First description of bacterial and fungal communities in Colombian coffee beans fermentation analysed using Illumina-based amplicon sequencing. *Scientific Reports*, 9(1), 8794. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45002-8>
- De Roos, J., Vandamme, P., & De Vuyst, L. (2018). Wort Substrate Consumption and Metabolite Production During Lambic Beer Fermentation and Maturation Explain the Successive Growth of Specific Bacterial and Yeast Species. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02763>

- De Vuyst, L., Harth, H., Van Kerrebroeck, S., & Leroy, F. (2016). Yeast diversity of sourdoughs and associated metabolic properties and functionalities. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.018>
- Dolci, P., Alessandria, V., Rantsiou, K., & Cocolin, L. (2015). Advanced methods for the identification, enumeration, and characterization of microorganisms in fermented foods. In *Advances in Fermented Foods and Beverages* (pp. 157–176). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-015-6.00007-4>
- Dušková, M., Kameník, J., & Karpíšková, R. (2013). *Weissella viridescens* in meat products – a review. *Acta Veterinaria Brno*, 82(3), 237–241. <https://doi.org/10.2754/avb201382030237>
- Elhalis, H., Cox, J., & Zhao, J. (2020). Ecological diversity, evolution and metabolism of microbial communities in the wet fermentation of Australian coffee beans. *International Journal of Food Microbiology*, 321, 108544. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108544>
- Evangelista, S. R., da Cruz Pedrozo, M. G., de Souza Cordeiro, C., Silva, C. F., Marques Pinheiro, A. C., & Schwan, R. F. (2014b). Inoculation of starter cultures in a semi-dry coffee (*Coffea arabica*) fermentation process. *Food Microbiology*, 44, 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.05.013>
- Evangelista, S. R., Miguel, M. G. da C. P., Silva, C. F., Pinheiro, A. C. M., & Schwan, R. F. (2015). Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 210, 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.06.008>
- Evangelista, S. R., Silva, C. F., Miguel, M. G. P. da C., Cordeiro, C. de S., Pinheiro, A. C. M., Duarte, W. F., & Schwan, R. F. (2014a). Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process. *Food Research International*, 61, 183–195. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.033>
- Fahimnia, B., Sarkis, J., & Davarzani, H. (2015). Green supply chain management: A review and bibliometric analysis. *Int. J. Production Economics*, 162, 101–114. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijpe.2015.01.003>
- FAO. (2006). *Enhancement of Coffee Quality through the Prevention of Mould Formation*. FAO.
- FAO. (2018). *Production and imports: countries by commodity*. <http://www.fao.org/faostat/en/#home>
- Feinsinger, P. (2001). *Designing Field Studies for Biodiversity Conservation*. Island Press.
- Feng, X., Dong, H., Yang, P., Yang, R., Lu, J., Lv, J., & Sheng, J. (2016). Culture-Dependent and -Independent Methods to Investigate the Predominant Microorganisms Associated with Wet Processed Coffee. *Current Microbiology*, 73(2), 190–195. <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1047-3>
- Fleet, G. (1999). Microorganisms in food ecosystems. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1–2), 101–117. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00080-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00080-X)
- Fleet, G. (2003). Yeast interactions and wine flavour. *International Journal of Food Microbiology*, 86, 11–22.

- FNC. (2009a). Comité Departamental de Cafeteros del Magdalena. In *Caficultura: Modelo de Paz* (pp. 83–90). <https://federaciondefeteros.org/static/files/Magdalena09.pdf>
- FNC. (2011). Comité Departamental de Cafeteros del Magdalena. In *Informe de Comités Departamentales, Caficultura Climaticamente Inteligente* (pp. 64–70). FNC. <https://federaciondefeteros.org/static/informedeComitesdepartamentales/files/publication.pdf>
- FNC. (2020a). *Glorario: Café especial*. <https://federaciondefeteros.org/wp/glosario/>
- FNC. (2020b). *Postcosecha*. <https://www.cafedecolombia.com/particulares/poscosecha/>
- Frazier, W. C., & Westhoff, D. C. (1993). Contaminación de los alimentos. In *Microbiología de los alimentos*. ACRIBIA, S.A. <http://148.206.53.233/tesiuami/Libros/L33.pdf>
- Gibson, M., & Newsham, P. (2018). Tea and Coffee. In *Food Science and the Culinary Arts* (pp. 353–372). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811816-0.00018-X>
- Gokulakrishnan, S., Chandraraj, K., & Gummadi, S. N. (2007). A preliminary study of caffeine degradation by *Pseudomonas* sp. GSC 1182. *International Journal of Food Microbiology*, *113*(3), 346–350. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.07.005>
- Haile, M., & Kang, W. H. (2019a). The Role of Microbes in Coffee Fermentation and Their Impact on Coffee Quality. *Journal of Food Quality*, *2019*, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2019/4836709>
- Haile, M., & Kang, W. H. (2019b). Isolation, Identification, and Characterization of Pectinolytic Yeasts for Starter Culture in Coffee Fermentation. *Microorganisms*, *7*(10), 401. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7100401>
- Hamdouche, Y., Meile, J. C., Nganou, D. N., Durand, N., Teyssier, C., & Montet, D. (2016). Discrimination of post-harvest coffee processing methods by microbial ecology analyses. *Food Control*, *65*, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.022>
- Herlemann, D. P., Labrenz, M., Jürgens, K., Bertilsson, S., Waniek, J. J., & Andersson, A. F. (2011). Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea. *The ISME Journal*, *5*(10), 1571–1579. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.41>
- Holm, E. S., Schäfer, A., Koch, A. G., & Petersen, M. A. (2013). Investigation of spoilage in saveloy samples inoculated with four potential spoilage bacteria. *Meat Science*, *93*(3), 687–695. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.016>
- Hommel, R. K. (2014). *Gluconobacter*. In *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 99–105). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00148-8>
- Huch, M., & Franz, C. M. A. P. (2015). Coffee: fermentation and microbiota. In *Advances in Fermented Foods and Beverages* (pp. 501–513). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-015-6.00021-9>
- IARC. (1993). *Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins*. IARC.
- Illumina. (2013). *16S Metagenomic Sequencing Library Preparation: Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System*. Illumina, Inc. <https://support.illumina.com/content/dam/illumina->

- support/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf
- Invitrogen. (2008). *Quant-iT™ PicoGreen™ dsDNA Assay Kit*. <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/P7589#/P7589>
- Jespersen, L., Nielsen, D., Honholt, S., & Jakobsen, M. (2005). Occurrence and diversity of yeasts involved in fermentation of West African cocoa beans. *FEMS Yeast Research*, 5(4–5), 441–453. <https://doi.org/10.1016/j.femsyr.2004.11.002>
- Kim, B.-R., Shin, J., Guevarra, R. B., Lee, J. H., Kim, D. W., Seol, K.-H., Lee, J.-H., Kim, H. B., & Isaacson, R. E. (2017). Deciphering Diversity Indices for a Better Understanding of Microbial Communities. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(12), 2089–2093. <https://doi.org/10.4014/jmb.1709.09027>
- Kim, M., & Chun, J. (2014). 16S rRNA Gene-Based Identification of Bacteria and Archaea using the EzTaxon Server. In *Methods in Microbiology* (41st ed., pp. 61–74). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.mim.2014.08.001>
- Kothari, R. K., Nathani, N. M., Mootapally, C., Rank, J. K., Gosai, H. B., Dave, B. P., & Joshi, C. G. (2018). Comprehensive Exploration of the Rumen Microbial Ecosystem With Advancements in Metagenomics. In *Metagenomics* (pp. 215–229). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102268-9.00011-2>
- Lee, L. W., Cheong, M. W., Curran, P., Yu, B., & Liu, S. Q. (2015). Coffee fermentation and flavor – An intricate and delicate relationship. *Food Chemistry*, 185, 182–191. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.124>
- Liu, Y., Wang, W., Zhou, Y., Yao, S., Deng, L., & Zeng, K. (2017). Isolation, identification and in vitro screening of Chongqing orangery yeasts for the biocontrol of *Penicillium digitatum* on citrus fruit. *Biological Control*, 110, 18–24. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.04.002>
- Lombard, L., van der Merwe, N. A., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2015). Generic concepts in Nectriaceae. *Studies in Mycology*, 80, 189–245. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.12.002>
- Magurran, A. E. (2004). *Measuring Biological Diversity*. Blackwell Publishing Company. https://www2.ib.unicamp.br/profs/thomas/NE002_2011/maio10/Magurran_2004_c2-4.pdf
- Malfeito-Ferreira, M. (2014). WINES | Wine Spoilage Yeasts and Bacteria. In *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 805–810). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00390-6>
- Martinez, S. J., Bressani, A. P. P., Miguel, M. G. da C. P., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2017). Different inoculation methods for semi-dry processed coffee using yeasts as starter cultures. *Food Research International*, 102, 333–340. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.096>
- Martins, P. M. M., Batista, N. N., Miguel, M. G. da C. P., Simão, J. B. P., Soares, J. R., & Schwan, R. F. (2020). Coffee growing altitude influences the microbiota, chemical compounds and the quality of fermented coffees. *Food Research International*, 129, 108872. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108872>
- Martins, P. M. M., Ribeiro, L. S., Miguel, M. G. da C. P., Evangelista, S. R., & Schwan,

- R. F. (2019). Production of coffee (*Coffea arabica*) inoculated with yeasts: impact on quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(13), 5638–5645. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9820>
- Masoud, W., Bjørg Cesar, L., Jespersen, L., & Jakobsen, M. (2004). Yeast involved in fermentation of *Coffea arabica* in East Africa determined by genotyping and by direct denaturing gradient gel electrophoresis. *Yeast*, 21(7), 549–556. <https://doi.org/10.1002/yea.1124>
- Masoud, W., & Kalsoft, C. H. (2006). The effects of yeasts involved in the fermentation of *Coffea arabica* in East Africa on growth and ochratoxin A (OTA) production by *Aspergillus ochraceus*. *International Journal of Food Microbiology*, 106(2), 229–234. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.015>
- Massawe, G. A., & Lifa, S. J. (2010). Yeasts and lactic acid bacteria coffee fermentation starter cultures. *International Journal of Postharvest Technology and Innovation*, 2(1), 41. <https://doi.org/10.1504/IJPTI.2010.038187>
- MinAgricultura. (2018). *Producción y área cosechada de café en Colombia en 2018*. <https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=1>
- Moreno, C. E. (2001). *Métodos para medir la biodiversidad*. CYTED, ORCYT/UNESCO & SEA. <https://www.researchgate.net/publication/304346666>
- Moreno, J. A., Zea, L., Moyano, L., & Medina, M. (2005). Aroma compounds as markers of the changes in sherry wines subjected to biological ageing. *Food Control*, 16(4), 333–338. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.03.013>
- Murthy, P. S., & Madhava Naidu, M. (2012). Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 66, 45–58. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2012.06.005>
- Nasanit, R., & Satayawut, K. (2015). Microbiological study during coffee fermentation of *Coffea arabica* var. chiangmai 80 in Thailand. *Kasetsart Journal - Natural Science*, 49(1), 32–41. <https://www.semanticscholar.org/paper/Microbiological-Study-During-Coffee-Fermentation-of-Nasanit-Satayawut/40629ae0258d23ef7cc7ac9688e96ecf7108ee87>
- Niamsiri, N., & Batt, C. A. (2009). Dairy Products. In *Encyclopedia of Microbiology* (pp. 34–44). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00120-6>
- Nieminen, T. T., Vihavainen, E., Paloranta, A., Lehto, J., Paulin, L., Auvinen, P., Solismaa, M., & Björkroth, K. J. (2011). Characterization of psychrotrophic bacterial communities in modified atmosphere-packed meat with terminal restriction fragment length polymorphism. *International Journal of Food Microbiology*, 144(3), 360–366. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.10.018>
- Pereira, G. V. de M., De Carvalho Neto, D. P., Medeiros, A. B. P., Soccol, V. T., Neto, E., Woiciechowski, A. L., & Soccol, C. R. (2016b). Potential of lactic acid bacteria to improve the fermentation and quality of coffee during on-farm processing. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(7), 1689–1695. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13142>
- Pereira, G. V. de M., Soccol, V. T., & Soccol, C. R. (2016a). Current state of research on cocoa and coffee fermentations. *Current Opinion in Food Science*, 7, 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.11.001>

- Petruzzi, L., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., & Bevilacqua, A. (2017). Microbial Spoilage of Foods. In *The Microbiological Quality of Food* (pp. 1–21). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100502-6.00002-9>
- Pielou, E. C. (1966). The measurement of diversity in different types of biological collections. *Journal of Theoretical Biology*, *13*, 131–144. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(66\)90013-0](https://doi.org/10.1016/0022-5193(66)90013-0)
- Pires, J. F., Cardoso, L. de S., Schwan, R. F., & Silva, C. F. (2017). Diversity of microbiota found in coffee processing wastewater treatment plant. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *33*(12), 211. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2372-9>
- Pothakos, V., De Vuyst, L., Zhang, S. J., De Bruyn, F., Verce, M., Torres, J., Callanan, M., Moccand, C., & Weckx, S. (2020). Temporal shotgun metagenomics of an Ecuadorian coffee fermentation process highlights the predominance of lactic acid bacteria. *Current Research in Biotechnology*, *2*, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2020.02.001>
- Puerta, G. I. (2010). *Fundamentals of fermentation process in coffee processing practices*. Cenicafé. <http://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/345>
- Puerta, G. I. (2012). *Factors processes and controls in coffee fermentation*. Cenicafé. <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/327>
- Puerta, G. I., & Echeverry, J. G. (2015). *Coffee controlled fermentation: Technology to add value to quality*. Cenicafé. <http://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/558>
- Qiagen. (2020). *DNeasy PowerLyzer PowerSoil Kit Handbook*. <https://www.qiagen.com/at/resources/resourcedetail?id=329362e4-03e6-4ae1-9e4e-bbce41abe4b7&lang=en>
- Ramos, D. M. B., Silva, C. F., Batista, L. R., & Schwan, R. F. (2010). Inibição in vitro de fungos toxigênicos por *Pichia* sp. e *Debaryomyces* sp. isoladas de frutos de café (*Coffea arabica*). *Acta Scientiarum. Agronomy*, *32*(3). <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i3.3361>
- Raposo, A., Pérez, E., de Faria, C. T., Ferrús, M. A., & Carrascosa, C. (2017). Food Spoilage by *Pseudomonas* spp.-An Overview. In *Foodborne Pathogens and Antibiotic Resistance* (pp. 41–71). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781119139188.ch3>
- Remenant, B., Jaffrès, E., Dousset, X., Pilet, M.-F., & Zagorec, M. (2015). Bacterial spoilers of food: Behavior, fitness and functional properties. *Food Microbiology*, *45*, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.03.009>
- Ribeiro, L. S., Evangelista, S. R., da Cruz Pedrozo Miguel, M. G., van Mullem, J., Silva, C. F., & Schwan, R. F. (2018). Microbiological and chemical-sensory characteristics of three coffee varieties processed by wet fermentation. *Annals of Microbiology*, *68*(10), 705–716. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1377-4>
- Sakiyama, N. S., & Ferrao, M. A. G. (2015). Botany and production of coffee. In *Cocoa and coffee fermentations* (pp. 341–365). CRC Press.
- Sakwari, G., Mamuya, S. H. D., Bratveit, M., Larsson, L., Pehrson, C., & Moen, B. (2013). Personal Exposure to Dust and Endotoxin in Robusta and Arabica Coffee Processing Factories in Tanzania. *The Annals of Occupational Hygiene*, *57*(2), 173–

183. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mes064>
- Sanders, H. L. (1968). Marine Benthic Diversity: A Comparative Study. *The American Naturalist*, 102(925), 243–282. <https://doi.org/10.1086/282541>
- Sarbu, I., & Csutak, O. (2019). The Microbiology of Cocoa Fermentation. In *Caffeinated and Cocoa Based Beverages* (pp. 423–446). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815864-7.00013-1>
- SCA. (2015). *SCAA Protocols: Cupping Specialty Coffee*. <http://www.scaa.org/PDF/resources/cupping-protocols.pdf>
- Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., Lesniewski, R. A., Oakley, B. B., Parks, D. H., Robinson, C. J., Sahl, J. W., Stres, B., Thallinger, G. G., Van Horn, D. J., & Weber, C. F. (2009). Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7537–7541. <https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09>
- Shannon, C. E. (1948). A Mathematical Theory of Communication. *Bell System Technical Journal*, 27(3), 379–423. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
- Shen, Q., Yang, J., Su, D., Li, Z., Xiao, W., Wang, Y., & Cui, X. (2020). Comparative Analysis of Fungal Diversity in Rhizospheric Soil from Wild and Reintroduced *Magnolia sinica* Estimated via High-Throughput Sequencing. *Plants*, 9(5), 600. <https://doi.org/10.3390/plants9050600>
- SIC. (2005). *Denominación de origen Café de Colombia*. Resolución No. 4819 de 2005. https://www.sic.gov.co/sites/default/files/files/Denominacion%20de%20Origen/Agro%20-%20Alimenticios/Caf%C3%A9%20de%20Colombia/cafe_de_colombia.pdf
- SIC. (2017). *Denominación de origen Café de la Sierra Nevada*. Resolución No. 2484 de 2017. <https://www.sic.gov.co/sites/default/files/files/Denominacion%20de%20Origen/Resoluci%C3%B3n%202484%20Caf%C3%A9%20de%20la%20Sierra%20Nevada.pdf>
- Silva, C., Batista, L., Abreu, L., Dias, E., & Schwan, R. (2008). Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. *Food Microbiology*, 25(8), 951–957. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.07.003>
- Silva, C. F., Vilela, D. M., de Souza Cordeiro, C., Duarte, W. F., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2013). Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentaton. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(2), 235–247.
- Simon-Gruita, A., Pojoga, M. D., Constantin, N., & Duta-Cornescu, G. (2019). Genetic Engineering in Coffee. In *Caffeinated and Cocoa Based Beverages* (pp. 447–488). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815864-7.00014-3>
- Simpson, E. H. (1949). Measurement of Diversity. *Nature*, 163(4148), 688–688. <https://doi.org/10.1038/163688a0>
- Souza, M. L., Passamani, F. R. F., Ávila, C. L. da S., Batista, L. R., Schwan, R. F., & Silva, C. F. (2017). Use of wild yeasts as a biocontrol agent against toxigenic fungi and OTA production. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 39(3), 349. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v39i3.32659>
- Spellerberg, I. F., & Fedor, P. J. (2003). A tribute to Claude Shannon (1916-2001) and a

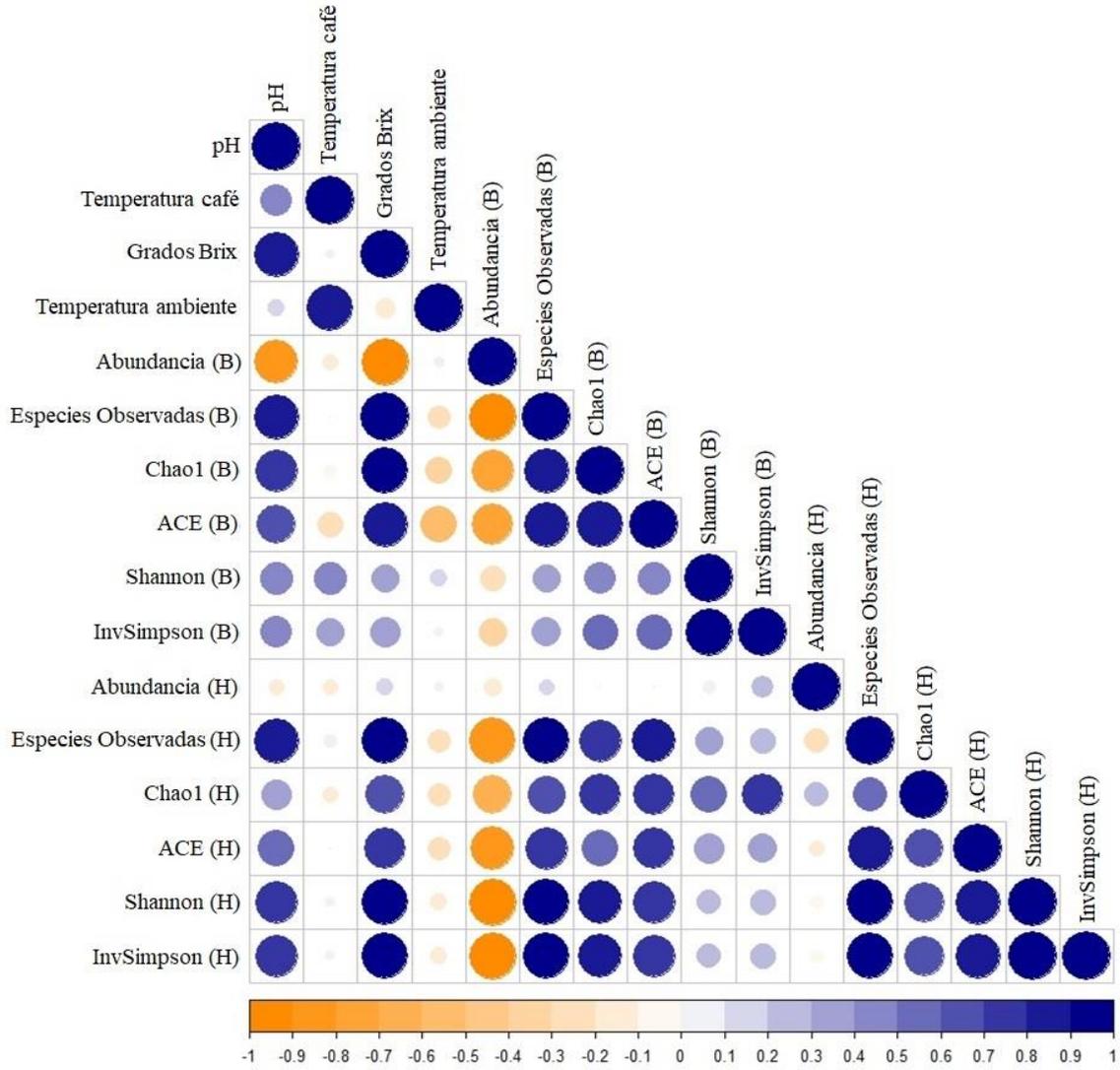
- plea for more rigorous use of species richness, species diversity and the ‘Shannon-Wiener’ Index. *Global Ecology and Biogeography*, 12(3), 177–179. <https://doi.org/10.1046/j.1466-822X.2003.00015.x>
- Tadesse, B. T., Abera, A. B., Tefera, A. T., Muleta, D., Alemu, Z. T., & Wessel, G. (2019). Molecular Characterization of Fermenting Yeast Species from Fermented Teff Dough during Preparation of Injera Using ITS DNA Sequence. *International Journal of Food Science*, 2019, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2019/1291863>
- Temmerman, R., Huys, G., & Swings, J. (2004). Identification of lactic acid bacteria: culture-dependent and culture-independent methods. *Trends in Food Science & Technology*, 15(7–8), 348–359. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.12.007>
- Tesin, D. (2019). *DNA library normalization for NGS: why and how?* <https://www.cytivalifesciences.com/en/us/news-center/dna-library-normalization-in-ngs-10001#:~:text=What is DNA normalization and,of DNA libraries for multiplexing.&text=Both basic research and clinical NGS rely on obtaining reliable data>
- Urien, C., Legrand, J., Montalent, P., Casaregola, S., & Sicard, D. (2019). Fungal Species Diversity in French Bread Sourdoughs Made of Organic Wheat Flour. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00201>
- Velásquez, C., & Trávez, M. (2019). *Café especial, una alternativa para el sector cafetero en Colombia* [Universidad EAFIT]. https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/15236/Mateo_Travez_Camilo_Velasquez_2019.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Vilela, D. M., Pereira, G. V. de M., Silva, C. F., Batista, L. R., & Schwan, R. F. (2010). Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*Coffea arabica* L.). *Food Microbiology*, 27(8), 1128–1135. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.07.024>
- Viljoen, B. C. (2006). Yeast Ecological Interactions. Yeast’Yeast, Yeast’Bacteria, Yeast’Fungi Interactions and Yeasts as Biocontrol Agents. In *Yeasts in Food and Beverages* (pp. 83–110). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-28398-0_4
- Villa Montoya, A. C., Cristina da Silva Mazareli, R., Delforno, T. P., Centurion, V. B., Sakamoto, I. K., Maia De Oliveira, V., Silva, E. L., & Amâncio Varesche, M. B. (2019). Hydrogen, alcohols and volatile fatty acids from the co-digestion of coffee waste (coffee pulp, husk, and processing wastewater) by applying autochthonous microorganisms. *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(39), 21434–21450. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.06.115>
- Villa Montoya, A. C., da Silva Mazareli, R. C., Delforno, T. P., Centurion, V. B., De Oliveira, V. M., Silva, E. L., & Varesche, M. B. A. (2020). Optimization of key factors affecting hydrogen production from coffee waste using factorial design and metagenomic analysis of the microbial community. *International Journal of Hydrogen Energy*, 45(7), 4205–4222. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.12.062>
- Wang, C., Sun, J., Lassabliere, B., Yu, B., Zhao, F., Zhao, F., Chen, Y., & Liu, S. Q. (2019). Potential of lactic acid bacteria to modulate coffee volatiles and effect of glucose supplementation: fermentation of green coffee beans and impact of coffee

- roasting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(1), 409–420. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9202>
- Wang, H. L., Hopfer, H., Cockburn, D. W., & Wee, J. (2021). Characterization of Microbial Dynamics and Volatile Metabolome Changes During Fermentation of Chambourcin Hybrid Grapes From Two Pennsylvania Regions. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.614278>
- Wang, X., Jordan, I. K., & Mayer, L. W. (2015). A Phylogenetic Perspective on Molecular Epidemiology. In *Molecular Medical Microbiology* (pp. 517–536). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00029-9>
- Waters, D. M., Arendt, E. K., & Moroni, A. V. (2017). Overview on the mechanisms of coffee germination and fermentation and their significance for coffee and coffee beverage quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), 259–274. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.902804>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In *PCR Protocols* (pp. 315–322). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Whittaker, R. H. (1972). Evolution and Measurement of Species Diversity. *TAXON*, 21(2–3), 213–251. <https://doi.org/10.2307/1218190>
- Xu, Z., Shi, Z., & Jiang, L. (2011). Acetic and Propionic Acids. In *Comprehensive Biotechnology* (pp. 189–199). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00162-8>
- Yan, S., Tong, Q., & Guang, J. (2019). Yeast dynamics and changes in volatile compounds during the fermentation of the traditional Chinese strong-flavor Daqu. *LWT*, 106, 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.058>
- Yu, C. L., Summers, R. M., Li, Y., Mohanty, S. K., Subramanian, M., & Pope, R. M. (2015). Rapid Identification and Quantitative Validation of a Caffeine-Degrading Pathway in *Pseudomonas* sp. CES. *Journal of Proteome Research*, 14(1), 95–106. <https://doi.org/10.1021/pr500751w>
- Zhang, S. J., De Bruyn, F., Pothakos, V., Contreras, G. F., Cai, Z., Moccand, C., Weckx, S., & De Vuyst, L. (2019b). Influence of Various Processing Parameters on the Microbial Community Dynamics, Metabolomic Profiles, and Cup Quality During Wet Coffee Processing. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02621>
- Zhang, S. J., De Bruyn, F., Pothakos, V., Torres, J., Falconi, C., Moccand, C., Weckx, S., & De Vuyst, L. (2019a). Following Coffee Production from Cherries to Cup: Microbiological and Metabolomic Analysis of Wet Processing of *Coffea arabica*. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(6). <https://doi.org/10.1128/AEM.02635-18>

ANEXOS

ANEXO A. Correlación entre características fisicoquímicas, abundancia, riqueza y diversidad microbiana obtenidos de la fermentación de <i>C. arabica</i> L. por 0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 horas en la SNSM.	63
ANEXO B. Abundancia relativa (%) de taxones bacterianos a nivel de género presentes durante el proceso de fermentación de <i>C. arabica</i> L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM).....	64
ANEXO C. Abundancia relativa (%) de taxones fúngicos a nivel de género presentes durante el proceso de fermentación de <i>C. arabica</i> L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM).....	88

ANEXO A. Correlación entre características fisicoquímicas, abundancia, riqueza y diversidad microbiana obtenidos de la fermentación de *C. arabica L.* por 0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 horas en la SNSM.



ANEXO B. Abundancia relativa (%) de taxones bacterianos a nivel de género presentes durante el proceso de fermentación de *C. arabica* L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)

Taxon	Total	Tiempo de fermentación (h)						
		0	6	12	18	24	30	36
<i>Leuconostoc</i>	43,77	7,12	42,01	63,22	65,47	45,26	31,03	29,40
<i>Acetobacter</i>	22,08	9,65	14,11	9,28	8,18	21,31	37,33	42,91
<i>Lactobacillus</i>	11,36	11,11	23,70	13,12	10,85	10,40	5,74	8,32
<i>Weissella</i>	11,27	3,00	6,59	8,36	8,06	13,46	16,83	11,51
<i>Gluconobacter</i>	3,03	2,53	4,46	2,17	1,36	3,38	3,49	2,78
Acetobacteraceae_unclassified	1,70	0,33	1,26	0,77	0,64	1,97	2,37	2,87
Enterobacteriaceae_unclassified	1,46	14,12	1,98	0,76	1,64	0,65	0,56	0,62
<i>Tatumella</i>	0,91	1,13	0,98	0,28	1,20	1,17	0,90	0,42
<i>Pantoea</i>	0,84	8,00	0,67	0,05	1,22	0,67	0,40	0,03
<i>Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium</i>	0,35	6,21	0,22	0,12	0,05	0,10	0,08	0,01
<i>Komagataeibacter</i>	0,25	0,04	0,32	0,13	0,10	0,27	0,33	0,33
<i>Pseudomonas</i>	0,23	3,83	0,34	0,07	0,05	0,03	0,04	0,05
<i>Chryseobacterium</i>	0,15	2,26	0,21	0,11	0,05	0,04	< 0,01	< 0,01
<i>Achromobacter</i>	0,12	1,95	0,08	0,05	0,03	0,05	0,07	0,01
<i>Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia</i>	0,12	2,12	0,06	0,06	0,01	0,04	0,02	0,01
<i>Prevotella_9</i>	0,12	0,03	0,06	0,20	0,13	0,16	0,07	0,06
Sphingomonadaceae_unclassified	0,11	1,90	0,18	0,04	0,01	0,01	0,01	< 0,01
Rhizobiaceae_unclassified	0,09	1,39	0,13	0,04	0,02	0,02	0,05	0,01
<i>Prevotella_7</i>	0,08	0,07	0,03	0,13	0,09	0,11	0,03	0,04
<i>Kozakia</i>	0,08	0,12	0,18	0,06	0,04	0,09	0,04	0,04
<i>Stenotrophomonas</i>	0,07	1,22	0,08	0,02	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01
<i>Methylobacterium</i>	0,06	1,17	0,10	0,01	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01
Muribaculaceae_ge	0,06	1,32	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	< 0,01
<i>Delftia</i>	0,06	1,07	0,03	0,03	0,01	0,02	0,02	< 0,01
<i>Gluconacetobacter</i>	0,06	0,47	0,09	0,03	0,02	0,03	0,05	0,06
<i>Ameyamaea</i>	0,06	0,01	0,05	0,05	0,04	0,05	0,08	0,11

Leuconostocaceae_unclassified	0,06	-	0,02	0,04	0,08	0,08	0,05	0,06
<i>Clostridium_sensu_stricto_12</i>	0,05	0,04	0,05	0,16	0,05	0,05	0,02	0,03
<i>Sphingobacterium</i>	0,05	0,92	0,07	0,02	0,01	0,01	< 0,01	0,01
<i>Acinetobacter</i>	0,05	0,35	0,04	0,01	0,10	0,03	0,04	0,02
Lactobacillaceae_unclassified	0,04	< 0,01	0,11	0,02	0,03	0,07	0,01	0,03
Burkholderiaceae_unclassified	0,04	0,61	0,06	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
1174-901-12	0,04	0,62	0,07	0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01
Lactobacillales_unclassified	0,04	0,02	0,05	0,06	0,04	0,03	0,02	0,05
<i>Pedobacter</i>	0,03	0,65	0,05	0,01	-	< 0,01	< 0,01	-
<i>Selenomonas</i>	0,03	-	0,01	0,02	0,02	0,05	0,03	0,03
<i>Hymenobacter</i>	0,03	0,37	0,10	0,01	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Sphingobium</i>	0,03	0,42	0,09	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Sphingomonas</i>	0,03	0,52	0,05	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
<i>Erwinia</i>	0,03	0,10	0,02	0,01	0,01	0,06	< 0,01	< 0,01
Microbacteriaceae_unclassified	0,03	0,50	0,03	< 0,01	0,01	< 0,01	0,01	< 0,01
<i>Brevundimonas</i>	0,02	0,38	0,02	0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Luteibacter</i>	0,02	0,42	0,03	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Caulobacteraceae_unclassified	0,02	0,41	0,01	0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Siccibacter</i>	0,02	0,34	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	0,02	0,01
<i>Pseudoxanthomonas</i>	0,02	0,31	0,02	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	-
Lachnospiraceae_unclassified	0,02	0,33	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01
Saccharimonadaceae_ge	0,02	0,32	0,02	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Novosphingobium</i>	0,02	0,18	0,03	0,01	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01
Bacteria_unclassified	0,02	0,11	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	< 0,01
<i>Helicobacter</i>	0,01	0,33	-	0,01	< 0,01	-	< 0,01	-
<i>Lactococcus</i>	0,01	-	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01
<i>Dysgonomonas</i>	0,01	0,22	0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Pseudomonadaceae_unclassified	0,01	0,13	0,02	0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01
<i>Flavobacterium</i>	0,01	0,16	0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
<i>Clostridium_sensu_stricto_1</i>	0,01	0,18	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01

<i>Curtobacterium</i>	0,01	0,16	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Enterococcus</i>	0,01	0,08	< 0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01	-
<i>Actinomycetospora</i>	0,01	0,20	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Spirosoma</i>	0,01	0,11	0,04	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
<i>Streptococcus</i>	0,01	0,21	0,01	-	-	< 0,01	-	-
Chitinophagaceae_unclassified	0,01	0,07	0,03	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Sphingobacteriaceae_unclassified	0,01	0,07	0,03	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
<i>Rothia</i>	0,01	0,14	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Serratia</i>	0,01	0,03	0,04	0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
<i>Rosenbergiella</i>	0,01	0,12	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Bifidobacteriaceae_unclassified	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01
Bacteroidales_unclassified	0,01	0,14	0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Brachybacterium</i>	0,01	0,10	0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Xanthomonas</i>	0,01	0,14	0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	0,01
<i>Turicibacter</i>	0,01	0,16	-	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01
Prevotellaceae_NK3B31_group	0,01	0,16	-	-	< 0,01	-	-	-
Rikenellaceae_RC9_gut_group	0,01	0,15	0,01	-	-	-	-	-
<i>Bdellovibrio</i>	0,01	0,11	0,02	< 0,01	< 0,01	-	-	-
<i>Taibaiella</i>	0,01	0,14	0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	-
<i>Aureimonas</i>	0,01	0,12	0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-
<i>Oenococcus</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	0,01
<i>Tolumonas</i>	0,01	0,08	0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Micrococcales_unclassified	0,01	0,08	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
SN8	0,01	0,10	0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-
<i>Roseomonas</i>	0,01	0,13	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-
Rhodobacteraceae_unclassified	0,01	0,07	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
uncultured	0,01	0,07	0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
<i>Pectobacterium</i>	0,01	0,07	0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
Saccharimonadales_unclassified	0,01	0,08	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
Firmicutes_unclassified	0,01	0,09	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-

<i>Ottowia</i>	0,01	0,10	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01
<i>Terriglobus</i>	0,01	0,09	< 0,01	0,01	-	< 0,01	< 0,01	-
Clostridiales_unclassified	0,01	0,11	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
<i>Duganella</i>	0,01	0,09	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
Gammaproteobacteria_unclassified	0,01	0,07	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Massilia</i>	< 0,01	0,06	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Samsonia</i>	< 0,01	0,09	0,01	< 0,01	-	-	-	< 0,01
<i>Staphylococcus</i>	< 0,01	0,08	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
Clostridiaceae_1_unclassified	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Parcubacteria_unclassified	< 0,01	0,09	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01
<i>Faecalibacterium</i>	< 0,01	0,08	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Bacteroides</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Arcobacter</i>	< 0,01	0,09	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
<i>Rahnella</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01
Devosiaceae_unclassified	< 0,01	0,07	0,01	-	-	< 0,01	-	< 0,01
<i>Bifidobacterium</i>	< 0,01	0,09	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Corynebacterium_1</i>	< 0,01	0,06	< 0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Acidipropionibacterium</i>	< 0,01	0,04	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Prevotella_1</i>	< 0,01	0,08	-	< 0,01	-	-	< 0,01	-
Xanthomonadaceae_unclassified	< 0,01	0,04	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Rhodococcus</i>	< 0,01	0,05	0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Kineococcus</i>	< 0,01	0,07	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
Prevotellaceae_unclassified	< 0,01	0,03	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
<i>Labrys</i>	< 0,01	0,05	0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-
<i>Carnimonas</i>	< 0,01	0,07	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
<i>Pediococcus</i>	< 0,01	0,08	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-
Lachnospiraceae_NK4A136_group	< 0,01	0,07	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-
<i>Mucilaginibacter</i>	< 0,01	0,04	0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
<i>Dorea</i>	< 0,01	0,08	-	-	-	< 0,01	-	-
Pedosphaeraceae_ge	< 0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01

Ruminococcaceae_unclassified	< 0,01	0,06	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
<i>Psychroglaciecola</i>	< 0,01	0,05	0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Enterobacter</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	-	< 0,01
<i>Luteimonas</i>	< 0,01	0,06	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
Bacteroidia_unclassified	< 0,01	0,04	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Kerstersia</i>	< 0,01	0,06	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Comamonas</i>	< 0,01	0,03	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
<i>Frateuria</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01
uncultured	< 0,01	0,04	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
Oxyphotobacteria_unclassified	< 0,01	0,03	0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01
uncultured	< 0,01	0,07	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Blastocatella</i>	< 0,01	0,04	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Bacillus</i>	< 0,01	0,04	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Cutibacterium</i>	< 0,01	0,06	< 0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	-
Bacilli_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Phascolarctobacterium</i>	< 0,01	0,04	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
<i>Sphingopyxis</i>	< 0,01	0,06	-	-	-	-	-	-
<i>Methylobacillus</i>	< 0,01	0,06	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Verticia</i>	< 0,01	0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Enterobacillus</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Enterorhabdus</i>	< 0,01	0,06	-	-	< 0,01	-	-	-
Prevotellaceae_Ga6A1_group	< 0,01	0,05	-	-	-	-	< 0,01	< 0,01
uncultured_ge	< 0,01	-	-	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Solitalea</i>	< 0,01	0,05	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Terrimonas</i>	< 0,01	0,04	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
Enterococcaceae_unclassified	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Acidiphilium</i>	< 0,01	0,04	0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Devosia</i>	< 0,01	0,05	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
<i>Escherichia-Shigella</i>	< 0,01	0,05	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-
<i>Luteolibacter</i>	< 0,01	0,03	0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-

<i>Megasphaera</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Weeksellaceae_unclassified	< 0,01	0,03	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Lelliottia</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	< 0,01	-	-
Proteobacteria_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Akkermansia</i>	< 0,01	0,03	< 0,01	-	-	-	< 0,01	< 0,01
<i>Microbacterium</i>	< 0,01	0,04	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01
<i>Paludibacter</i>	< 0,01	0,03	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
<i>Neokomagataea</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Xanthobacter</i>	< 0,01	0,04	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Marmoricola</i>	< 0,01	0,03	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
uncultured_ge	< 0,01	0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
Erysipelotrichaceae_unclassified	< 0,01	0,04	-	-	-	< 0,01	-	-
Betaproteobacteriales_unclassified	< 0,01	0,03	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-
Blastocatellaceae_unclassified	< 0,01	0,04	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Actinomyces</i>	< 0,01	0,03	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
<i>Dermaococcus</i>	< 0,01	0,04	-	-	< 0,01	< 0,01	-	-
Chitinophagales_unclassified	< 0,01	0,03	< 0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	-
<i>Fibrella</i>	< 0,01	0,03	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
Beijerinckiaceae_unclassified	< 0,01	0,01	0,01	-	-	< 0,01	-	< 0,01
<i>Ochrobactrum</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Xenophilus</i>	< 0,01	0,03	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-
Xanthomonadales_unclassified	< 0,01	0,04	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Nakamurella</i>	< 0,01	0,03	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
Saccharimonadales_ge	< 0,01	0,04	< 0,01	-	-	-	-	-
MND1	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
Fimbriimonadaceae_unclassified	< 0,01	0,03	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
Veillonellaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
<i>Parasutterella</i>	< 0,01	0,02	-	-	< 0,01	< 0,01	-	-
Bacillaceae_unclassified	< 0,01	0,03	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
Candidatus_Kaiserbacteria_ge	< 0,01	0,02	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-

Alphaproteobacteria_unclassified	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
uncultured	< 0,01	0,03	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Yokenella</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Mycobacterium</i>	< 0,01	0,02	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Gordonia</i>	< 0,01	0,03	< 0,01	-	-	-	-	-
Muribaculaceae_unclassified	< 0,01	0,02	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-
<i>Leadbetterella</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Clostridium_sensu_stricto_3</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-
<i>Halanaerobium</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Rhodopseudomonas</i>	< 0,01	0,02	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
<i>Sphingosaurantiacus</i>	< 0,01	0,03	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Kocuria</i>	< 0,01	0,02	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
Micrococcaceae_unclassified	< 0,01	0,03	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Parabacteroides</i>	< 0,01	0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Holdemanella</i>	< 0,01	0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-
Rhizobiales_unclassified	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-
Xanthobacteraceae_unclassified	< 0,01	-	0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-
<i>Advenella</i>	< 0,01	0,03	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Orrella</i>	< 0,01	0,03	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01
<i>Brevibacterium</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Nocardioides</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-
<i>Muribaculum</i>	< 0,01	0,02	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-
uncultured	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Dyadobacter</i>	< 0,01	0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-
Spirosomaceae_unclassified	< 0,01	0,02	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Paenibacillus</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
<i>Sporolactobacillus</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Zymophilus</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
<i>Variovorax</i>	< 0,01	0,02	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
<i>Atlantibacter</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

<i>Prevotella</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
<i>Alistipes</i>	< 0,01	0,02	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Fluviicola</i>	< 0,01	0,02	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-
<i>Cloacibacterium</i>	< 0,01	0,02	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Deinococcus</i>	< 0,01	0,01	0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Salimicrobium</i>	< 0,01	-	-	-	0,01	< 0,01	-	-
<i>Bacteriovorax</i>	< 0,01	0,03	-	-	-	-	-	-
0319-6G20_ge	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-
Subgroup_6_ge	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	< 0,01
<i>Frigoribacterium</i>	< 0,01	0,02	< 0,01	-	-	-	-	-
MVP-88_ge	< 0,01	0,02	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Curvibacter</i>	< 0,01	0,03	-	-	-	-	-	-
Puniceicoccaceae_unclassified	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01
<i>Lawsonella</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-
<i>Jatrophihabitans</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
Geodermatophilaceae_unclassified	< 0,01	0,02	-	-	-	-	-	< 0,01
Micromonosporaceae_unclassified	< 0,01	0,01	0,01	-	-	-	-	-
Armatimonadales_ge	< 0,01	0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Niabella</i>	< 0,01	0,02	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
Orbaceae_unclassified	< 0,01	0,02	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-
<i>Tahibacter</i>	< 0,01	0,02	-	-	-	-	-	-
<i>Kineosporia</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Amnibacterium</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-
<i>Solirubrobacter</i>	< 0,01	0,02	-	-	-	< 0,01	-	-
env.OPS_17_ge	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
FBP_ge	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
Carnobacteriaceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Ruminococcaceae_UCG-002	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	< 0,01	-
Parcubacteria_ge	< 0,01	0,02	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Dongia</i>	< 0,01	0,02	-	< 0,01	-	-	-	-

<i>Herbaspirillum</i>	< 0,01	0,02	-	-	-	< 0,01	-	-
Actinobacteria_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Intrasporangiaceae_unclassified	< 0,01	0,02	-	-	-	-	-	-
67-14_ge	< 0,01	0,02	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Sediminibacterium</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
<i>Moheibacter</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	< 0,01	-	-
KD4-96_ge	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-
<i>Fructobacillus</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
<i>Herbinix</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Lachnospira</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
<i>Roseburia</i>	< 0,01	0,02	-	-	-	-	-	-
<i>Romboutsia</i>	< 0,01	0,02	-	-	-	-	-	-
Ruminococcaceae_UCG-014	< 0,01	-	< 0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	-
uncultured	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
<i>Ketogulonicigenium</i>	< 0,01	-	0,01	-	< 0,01	-	-	-
<i>Desulfovibrio</i>	< 0,01	0,02	-	-	-	-	-	< 0,01
<i>Haliangium</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Methylothera</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
<i>Kosakonia</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Raoultella</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
<i>Gardnerella</i>	< 0,01	0,02	-	-	-	-	-	-
uncultured	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
<i>Olivibacter</i>	< 0,01	0,02	-	-	-	-	-	-
<i>Megamonas</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
uncultured	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-
<i>Paludisphaera</i>	< 0,01	0,02	-	-	-	-	-	-
NRL2_ge	< 0,01	0,02	-	-	-	-	-	-
<i>Rhodoferrax</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
SC-I-84_ge	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
<i>Cellulomonas</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-

Eggerthellaceae_unclassified	< 0,01	0,01	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Ferruginibacter</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-
<i>Persicitalea</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Blattabacterium</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-
<i>Ruminiclostridium_5</i>	< 0,01	0,01	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Anaerovibrio</i>	< 0,01	-	0,01	-	-	-	-	-
<i>Nitrospira</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-
Isosphaeraceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-
<i>Bosea</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
uncultured_ge	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Rhizobacter</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
<i>Acidibacter</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-
<i>Chthoniobacter</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
Corynebacteriaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
<i>Arthrobacter</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Patulibacter</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Flectobacillus</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Anaerocolumna</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
<i>Lachnoclostridium</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
Lachnospiraceae_ge	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	< 0,01	-
Erysipelotrichaceae_UCG-004	< 0,01	0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Gemmatimonas</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
Candidatus_Nomurabacteria_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Asaia</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
Caulobacteraceae_ge	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
Micropepsaceae_unclassified	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
<i>Hyphomicrobium</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Falsochrobactrum</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
SM2D12_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-

Sphingomonadaceae_ge	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
uncultured	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
<i>Xylophilus</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
GOUTA6	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Uliginosibacterium</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
CCD24_ge	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Cellvibrio</i>	< 0,01	0,01	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Azotobacter</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01
Candidatus_ <i>Udaeobacter</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
Chthoniobacterales_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
RB41	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
<i>Williamsia</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-
Nocardioidaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Pseudonocardia</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
Atopobiaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-
DNF00809	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
Paludibacteraceae_unclassified	< 0,01	0,01	-	-	-	< 0,01	-	-
uncultured	< 0,01	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	< 0,01
Microscillaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
Candidatus_ <i>Uzinura</i>	< 0,01	0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-
NS9_marine_group_ge	< 0,01	0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
AKYH767_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Mucispirillum</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
FCPU426_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
Bacillales_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-
<i>Saccharibacillus</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
A2	< 0,01	0,01	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Blautia</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Dubosiella</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	-
uncultured	< 0,01	-	< 0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	-

GAL15_ge	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
Candidatus_Jorgensenbacteria_ge	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
Ellin6055	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Zymomonas</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01
Polyangiaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
Spongiibacteraceae_unclassified	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
Unknown_Family_ge	< 0,01	0,01	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Orbus</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-
Rhodanobacteraceae_unclassified	< 0,01	0,01	-	-	-	< 0,01	-	< 0,01
<i>Terrimicrobium</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Opitutaceae_unclassified	< 0,01	0,01	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Cerasicoccus</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Bryobacter</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
11-24_ge	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Corynebacteriales_unclassified	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Cellulosimicrobium</i>	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Isoptericola</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Aeromicrobium</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
uncultured	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Friedmanniella</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Propionibacterium</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Crocinitomicaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
NS11-12_marine_group_ge	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-	< 0,01	-
BSV26_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
AKIW781_ge	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
UBA12409_ge	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Alkalibacillus</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	< 0,01	-	-
Candidatus_Arthromitus	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Fonticella</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Peptostreptococcaceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-

<i>Caproiciproducens</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
Ruminococcaceae_UCG-013	< 0,01	0,01	-	-	-	< 0,01	-	-
uncultured	< 0,01	-	-	-	< 0,01	< 0,01	-	-
uncultured	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Gracilibacteria_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
uncultured_ge	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Aliihoeflea</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
Rhizobiaceae_ge	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
BIrii41_ge	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
NB1-j_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Bordetella</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Aquitalea</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
<i>Georgfuchsia</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01
<i>Morganella</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Enhydrobacter</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
R7C24_ge	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
S-BQ2-57_soil_group_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-
Solibacteraceae_(Subgroup_3)_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Subgroup_17_ge	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01
IMCC26256_ge	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
Frankiales_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Salana</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
Dermabacteraceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-
<i>Piscicoccus</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Leucobacter</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Streptomyces</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
uncultured_ge	< 0,01	-	-	-	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
Fimbriimonadaceae_ge	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
Rikenellaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-

37-13_ge	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Flavisolibacter</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
uncultured_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Candidatus_ <i>Sulcia</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
Flavobacteriaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
<i>Chishuiella</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	< 0,01
Candidatus_ <i>Rhabdochlamydia</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
SBR1031_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-
<i>Cohnella</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
Paenibacillaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
<i>Fusicatenibacter</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-
GCA-900066575	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Lachnoclostridium_5</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	< 0,01	-
<i>Erysipelatoclostridium</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01
Candidatus_Uhrbacteria_ge	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
Candidatus_Peribacteria_ge	< 0,01	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-
Candidatus_Adlerbacteria_ge	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
Candidatus_Staskawiczbacteria_ge	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Caulobacter</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Hirschia</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
SWB02	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Reyranella</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-
<i>Pedomicrobium</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
uncultured	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
<i>Myxococcus</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Oligoflexus</i>	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-
uncultured	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
AAP99	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Polynucleobacter</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Pseudorhodoferax</i>	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-

uncultured	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Zoogloea</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Pseudocitrobacter</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
JG36-TzT-191_ge	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
uncultured	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
<i>Lacunisphaera</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Verrucomicrobiae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
<i>Acidipila</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
Candidatus_ <i>Koribacter</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
uncultured_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Candidatus_ <i>Solibacter</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-
JGI_0001001-H03	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Ilumatobacteraceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Actinomycetaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Quadrisphaera</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Cellulomonadaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-
Dermatophilaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Fronidhabitans</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Sanguibacter</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Actinobacteria_unclassified	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Coriobacteriales_Incertae_Sedis_unclassified	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Coriobacteriales_unclassified	< 0,01	-	-	-	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Parvibacter</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
MB-A2-108_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Prevotellaceae_UCG-001	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-
Tannerellaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
UTBCD1	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
Saprosiraceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
<i>Cytophaga</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Lacihabitans</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-

<i>Larkinella</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
cvE6_ge	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-
RBG-13-54-9_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Ktedonobacteraceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Tychonema_CCAP_1459-11B	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Vermiphilaceae_ge	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Campylobacter</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Aerococcus</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Desemzia</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Melissococcus</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	< 0,01
<i>Sedimentibacter</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Lutispora</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Agathobacter</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
Lachnospiraceae_UCG-006	< 0,01	-	-	-	-	-	< 0,01	-
<i>Lachnotalea</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Peptococcaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Butyricoccus</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Ruminococcaceae_UCG-003	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Ruminococcaceae_ge	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	< 0,01	-
<i>Faecalibaculum</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Solobacterium</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Anaerosinus</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Dialister</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
Absconditabacteriales_(SR1)_ge	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
Gracilibacteria_unclassified	< 0,01	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-
Candidatus_Yanofskybacteria_ge	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
OM190_ge	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
uncultured	< 0,01	-	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-
<i>Belnapia</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
uncultured	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-

uncultured_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
A0839_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Brucella</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Mesorhizobium</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Falsirhodobacter</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Paracoccus</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Candidatus_Hemipteriphilus</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Porphyrobacter</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Qipengyuania</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
uncultured_ge	< 0,01	-	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-
Blfdi19_ge	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Nannocystis</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Pajaroellobacter</i>	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-
uncultured	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
Alteromonadaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
B1-7BS_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
<i>Aquabacterium</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Oxalicibacterium</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Undibacterium</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Chitinibacter</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01
Methylophilaceae_unclassified	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
IS-44	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Rhodocyclaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
TRA3-20_ge	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Kluyvera</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	< 0,01	-
<i>Marinospirillum</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
BIyi10	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
PLTA13_ge	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
<i>Perlucidibaca</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Azomonas</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	< 0,01	-

<i>Salinivibrio</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Dokdonella</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Mollicutes_RF39_ge	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	< 0,01	-
<i>Mycoplasma</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
Pedosphaeraceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
Rubritaleaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
uncultured	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
AT-s3-28_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Acidobacteriaceae_(Subgroup_1)_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Edaphobacter</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Acidobacteriales_unclassified	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Elev-16S-1166	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Paludibaculum</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Subgroup_7_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Subgroup_22_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
CL500-29_marine_group	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
uncultured	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
uncultured	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Mycobacteriaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Nocardiaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
uncultured_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Kineosporiaceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	-	-	< 0,01	-
Beutenbergiaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Demequina</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Devriesea</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Dermacoccaceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	-	-	< 0,01	-
<i>Janibacter</i>	< 0,01	-	-	-	-	-	-	< 0,01
<i>Lapillicoccus</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Agreia</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Herbiconiux</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-

<i>Leifsonia</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Renibacterium</i>	< 0,01	-	-	-	-	-	< 0,01	-
<i>Tersicoccus</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Timonella</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
PeM15_ge	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Micrococcus</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Propionibacteriaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Amycolatopsis</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Atopobiaceae_ge	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Gaiella</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Chthonomonadales_ge	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Fimbriimonas</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Prevotella_2</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Prevotella_6</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Prevotellaceae_UCG-003	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Chitinophaga</i>	< 0,01	-	-	-	-	-	-	< 0,01
<i>Flavitalea</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Parafilimonas</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Cytophagales_unclassified	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
OLB12	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
KD3-93_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Pelobium</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Sphingobacteriales_unclassified	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
SR-FBR-L83_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Simkaniaceae_unclassified	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
AD3_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
A4b_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
OLB13	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
FFCH7168	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Chloroflexia_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-

JG30-KF-CM66_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
C0119_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
HSB_OF53-F07	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Gastranaerophilales_ge	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Campylobacterales_unclassified	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
possible_genus_04	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
uncultured	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Pelagirhabdus</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Gemella</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Exiguobacterium</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Brevibacillus</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Planococcaceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	-	-	< 0,01	-
<i>Planomicrobium</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Salinicoccus</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Alkalibacterium</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Marinilactibacillus</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Streptococcaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Clostridium_sensu_stricto_11</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Clostridium_sensu_stricto_8</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Clostridium_sensu_stricto_9</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Alkaliphilus</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Clostridiisalibacter</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
Family_XI_unclassified	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Anaerosporebacter</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Anaerostipes</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Coprococcus_2</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Lachnospiraceae_ND3007_group	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Lachnospiraceae_NK3A20_group	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Desulfosporosinus</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Anaerotruncus</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-

<i>Oscillibacter</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Oscillospira</i>	< 0,01	-	-	-	-	-	< 0,01	-
<i>Ruminiclostridium_1</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Ruminiclostridium_9</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Ruminococcaceae_NK4A214_group	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Thermoanaerobacterium</i>	< 0,01	-	-	-	-	-	< 0,01	-
Candidatus_ <i>Stoquefichus</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Erysipelothrix</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Latescibacteria_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Moduliflexaceae_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
uncultured_ge	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
Omnitrophicaeota_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
ABY1_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Candidatus_Falkowbacteria_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Candidatus_Abawacabacteria_ge	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Candidatus_Woesebacteria_ge	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Candidatus_Campbellbacteria_ge	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Candidatus_Lloydbacteria_ge	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Candidatus_Zambryskibacteria_ge	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Candidatus_ <i>Saccharimonas</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
AKYG587	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
WD2101_soil_group_ge	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Fimbrioglobus</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Singulisphaera</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
uncultured	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Pir4_lineage	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Pirellula</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Pirellulaceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Neoasaia</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Nguyenibacter</i>	< 0,01	-	-	-	-	-	< 0,01	-

uncultured	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Asticcacaulis</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
uncultured	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Microvirga</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Qingshengfania</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Roseiarcus</i>	< 0,01	-	-	-	-	-	< 0,01	-
D05-2_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Arsenicitalea</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Pelagibacterium</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
KF-JG30-B3_ge	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Kaistia</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Neorhizobium</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Rhodoplanes</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Paenirhodobacter</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudorhodobacter</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Rhodobacter</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
uncultured	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Candidatus_ <i>Hepatincola</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Rickettsiales_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Hephaestia</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
MN_122.2a	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Parablastomonas</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Candidatus_ <i>Alysiosphaera</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Geminicoccus</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Peredibacter</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Deltaproteobacteria_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
MBNT15_ge	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
27F-1492R_ge	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Cystobacter</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
Nannocystaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-

<i>Phaselicystis</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Sandaracinus</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
bacteriap25_ge	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Silvanigrella</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Syntrophaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Syntrophus</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Aeromonas</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Microvirgula</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Cupriavidus</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Pandoraea</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Paucibacter</i>	< 0,01	-	-	-	-	-	< 0,01	-
<i>Pelomonas</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Sutterella</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
uncultured	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Neisseria</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
Neisseriaceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
Ellin6067	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Azospira</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Dechlorosoma</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Sulfuritalea</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Wohlfahrtiimonas</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Cellvibrionaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
OM60(NOR5)_clade	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
BD1-7_clade	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
Candidatus_ <i>Baumannia</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Gibbsiella</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Halomonas</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Zymobacter</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Haemophilus</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Cavicella</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-

Moraxellaceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	-	-	< 0,01	-
<i>Chujaibacter</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Arenimonas</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Xanthomonadaceae_ge	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Xylella</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Synergistes</i>	< 0,01	-	-	-	-	-	< 0,01	-
Izimaplasmatales_ge	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
Candidatus_ <i>Xiphinematobacter</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
IMCC26134	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-

ANEXO C. Abundancia relativa (%) de taxones fúngicos a nivel de género presentes durante el proceso de fermentación de *C. arabica* L. en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM)

Taxon	Total	Tiempo de fermentación (h)						
		0	6	12	18	24	30	36
<i>Kazachstania</i>	51,53	7,39	46,80	59,25	55,47	66,57	64,97	63,85
unclassified_Fungi	21,94	60,99	10,06	9,75	16,18	13,57	18,36	19,08
Fungi_unclassified	10,84	9,02	15,05	13,40	12,30	11,62	8,39	7,06
<i>Hanseniaspora</i>	3,32	2,00	3,18	4,54	4,09	3,00	3,24	3,32
<i>Wickerhamomyces</i>	2,75	6,33	4,00	2,83	2,26	1,08	1,09	1,45
Nectriaceae_unclassified	2,31	5,07	2,90	2,30	3,38	0,98	0,68	0,68
<i>Pichia</i>	1,52	0,86	4,80	1,28	1,23	0,56	0,84	1,55
Saccharomycetaceae_unclassified	1,27	1,04	2,90	1,87	1,32	0,79	0,55	0,69
<i>Issatchenkia</i>	1,22	0,62	3,52	1,43	1,05	0,56	0,69	0,98
Saccharomycetales_unclassified	0,76	1,06	2,77	0,85	0,48	0,16	0,11	0,14
Saccharomycodaceae_unclassified	0,68	1,02	0,52	0,81	0,84	0,52	0,49	0,55
<i>Meyerozyma</i>	0,44	1,29	0,74	0,36	0,22	0,10	0,15	0,16
<i>Aureobasidium</i>	0,21	0,77	0,16	0,11	0,15	0,06	0,08	0,10
<i>Penicillium</i>	0,20	0,48	0,50	0,17	0,16	0,04	0,05	0,02
Saccharomycetales_fam_Incertae_sedis_unclassified	0,12	0,11	0,47	0,17	0,06	0,02	0,01	0,02
<i>Citeromyces</i>	0,11	0,07	0,33	0,17	0,13	0,03	0,02	0,07
<i>Papiliotrema</i>	0,10	0,46	0,08	0,05	0,04	0,02	0,01	0,03
Tremellales_unclassified	0,08	0,24	0,16	0,03	0,06	0,01	0,03	0,02
<i>Rhynchogastrema</i>	0,07	0,38	0,04	0,01	0,01	-	-	< 0,01
<i>Cladosporium</i>	0,07	0,12	0,16	0,06	0,06	0,04	0,02	0,01
Dipodascaceae_unclassified	0,06	0,19	0,05	0,01	0,04	0,13	0,01	0,01
Ascomycota_unclassified	0,06	0,08	0,13	0,07	0,06	0,02	0,03	0,02
<i>Candida</i>	0,03	0,02	0,09	0,02	0,06	0,01	0,01	0,02
Pleosporales_unclassified	0,02	0,02	0,04	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01
<i>Colletotrichum</i>	0,02	0,01	0,03	0,03	0,03	0,01	< 0,01	0,01
Glomerellaceae_unclassified	0,02	0,04	0,01	0,02	0,03	< 0,01	< 0,01	< 0,01

<i>Kwoniella</i>	0,01	< 0,01	0,01	0,07	0,01	-	-	-
<i>Aspergillus</i>	0,01	0,01	0,02	0,02	0,04	-	< 0,01	0,01
<i>Debaryomyces</i>	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	< 0,01	0,01	0,01
Dothideomycetes_unclassified	0,01	0,02	0,02	0,01	-	0,01	0,02	0,01
<i>Saccharomyces</i>	0,01	0,01	0,03	0,01	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01
Mycosphaerellaceae_unclassified	0,01	0,01	0,02	0,01	< 0,01	< 0,01	0,02	-
Phaeosphaeriaceae_unclassified	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	-	< 0,01
<i>Apiotrichum</i>	0,01	0,02	< 0,01	0,03	-	-	-	-
Saccharomycetes_unclassified	0,01	0,02	0,02	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Filobasidiales_unclassified	0,01	0,04	< 0,01	0,01	-	-	-	-
<i>Diaporthe</i>	0,01	-	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	< 0,01
<i>Talaromyces</i>	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,02	0,02	-
<i>Pseudocercospora</i>	0,01	< 0,01	0,02	0,01	-	0,01	-	< 0,01
Diaporthales_unclassified	0,01	0,01	0,02	-	0,02	-	-	0,01
Capnodiales_unclassified	0,01	0,01	0,02	< 0,01	0,01	< 0,01	-	0,01
<i>Alternaria</i>	0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01
<i>Naganishia</i>	0,01	< 0,01	-	0,02	-	-	0,02	-
<i>Neofusicoccum</i>	0,01	-	-	-	-	-	-	0,03
Sordariomycetes_unclassified	< 0,01	< 0,01	0,02	-	0,01	0,01	-	< 0,01
<i>Trichosporon</i>	< 0,01	-	0,01	< 0,01	-	< 0,01	0,01	0,01
<i>Torulaspora</i>	< 0,01	< 0,01	0,02	0,01	< 0,01	-	-	< 0,01
Basidiomycota_unclassified	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-
Agaricomycetes_unclassified	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-
Elsinoaceae_unclassified	< 0,01	0,02	< 0,01	-	-	< 0,01	-	< 0,01
<i>Sarocladium</i>	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	0,01	-
Erythrobasidiales_unclassified	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01	-	-	0,01	-
unclassified_Dothideomycetes	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
<i>Fusarium</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	0,01	-	-	-
Tremellomycetes_unclassified	< 0,01	< 0,01	0,01	-	-	< 0,01	-	-
<i>Cercospora</i>	< 0,01	0,01	-	-	0,01	-	-	< 0,01

<i>Pilidium</i>	< 0,01	-	0,01	0,01	-	-	-	-
<i>Cutaneotrichosporon</i>	< 0,01	-	< 0,01	0,01	-	< 0,01	-	-
Metschnikowiaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	-	< 0,01	-	< 0,01
<i>Clavispora</i>	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	-	-
<i>Saturnispora</i>	< 0,01	< 0,01	0,01	-	0,01	-	-	-
Rhynchogastremataceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	0,01	-	-	-
<i>Acrocalymma</i>	< 0,01	-	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	-	-
Chaetothyriales_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01
Lecanoromycetes_unclassified	< 0,01	-	0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	-
unclassified_Helotiales	< 0,01	-	< 0,01	-	0,01	< 0,01	-	-
Helotiales_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
Cordycipitaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-
<i>Phaeocremonium</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-
<i>Corynespora</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	< 0,01
<i>Curvularia</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	-	-	-	-
<i>Kodamaea</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
<i>Metschnikowia</i>	< 0,01	0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
Sporocadaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	0,01	-	-	-
<i>Dexomyces</i>	< 0,01	-	< 0,01	0,01	-	-	-	-
Didymellaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01
unclassified_Chaetothyriales	< 0,01	-	0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-
<i>Starmerella</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01
<i>Rhodotorula</i>	< 0,01	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01
Microascales_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	0,01	-	-	-	-
Hypocreales_unclassified	< 0,01	0,01	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Cystofilobasidium</i>	< 0,01	0,01	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Lambertella</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Clonostachys</i>	< 0,01	-	-	-	-	-	0,01	-
<i>Stephanonectria</i>	< 0,01	-	-	-	0,01	-	-	-
<i>Brevistachys</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	0,01	-	-	-

<i>Orbilina</i>	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
<i>Steccherinum</i>	< 0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Symmetrospora</i>	< 0,01	-	-	-	0,01	-	-	-
<i>Bannoa</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Saitozyma</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-
Pleosporaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-
<i>Lachnum</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Hyphopichia</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Tropicoporus</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Eurotiales_unclassified	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	< 0,01
Lecanorales_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-
Orbiliaceae_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Lodderomyces</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Hypoxyton</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Cystobasidiomycetes_unclassified	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Bucklezyma</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Erythrobasidium</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Toxicocladosporium</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Pallidocercospora</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
unclassified_Elsinoaceae	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Kalmusia</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Sclerotiniaceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
unclassified_Dipodascaceae	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Nemania</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
Agaricales_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Sterigmatomyces</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Hannaella</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Rhizopus</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Dothideales_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01
Didymosphaeriaceae_unclassified	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-

<i>Bipolaris</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Cyphellophora</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Knufia</i>	< 0,01	-	-	-	-	-	-	< 0,01
<i>Cladonia</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Leotiomycetes_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Phaffomycetaceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	< 0,01
<i>Zygorulaspota</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Coprinellus</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Ganodermataceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Ganoderma</i>	< 0,01	-	-	-	-	-	-	< 0,01
<i>Rigidoporus</i>	< 0,01	-	-	-	-	-	-	< 0,01
<i>Meira</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Microbotryomycetes_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Pucciniomycetes_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Cladosporiaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Mycosphaerella</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Teratosphaeria</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Boeremia</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Paraphaeosphaeria</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
<i>Preussia</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Aspergillaceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
Physciaceae_unclassified	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
Ramalinaceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
<i>Wickerhamiella</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Ophiocordycipitaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Stachybotryaceae_unclassified	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Microascaceae_unclassified	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
<i>Microdochium</i>	< 0,01	-	-	< 0,01	-	-	-	-
Xylariales_unclassified	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
unclassified_Sordariomycetes	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-

<i>Coprinopsis</i>	< 0,01	-	-	-	< 0,01	-	-	-
Ceratobasidiaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
Cystobasidiaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Curvibasidium</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Septobasidium</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Bulleribasidium</i>	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Vishniacozyma</i>	< 0,01	-	-	-	-	< 0,01	-	-
Trichosporonaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
<i>Wallemia</i>	< 0,01	< 0,01	-	-	-	-	-	-
Gigasporaceae_unclassified	< 0,01	-	< 0,01	-	-	-	-	-
