

### DIVERSIDAD GENÉTICA Y CAPACIDAD FERMENTATIVA DE LEVADURAS INVOLUCRADAS EN LA PRODUCCIÓN DEL MEZCAL TAMAULIPECO

Manuel Arratia\*, Amanda Oliva, Francisco De la Torre, Eliseo Trujillo, José Narváez y Patricia Larralde.

Lab. Biotec. Industrial, Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional, Blvd del Maestro esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza, C.P. 88710, Cd. Reynosa Tam., México. Tel )55)57296000 ext. 87745 y 87703, E-mail: jarratiam0700@ipn.mx, plarralde@ipn.mx

Palabras clave: *Mezcal, etanol, S. cerevisiae*

**Introducción.** La diversidad genética de las levaduras involucradas en la fermentación del mezcal tamaulipeco no ha sido estudiada ni caracterizada metabólicamente a profundidad. Los métodos utilizados para la identificación de levaduras son generalmente morfológicos y bioquímicos, y más recientemente moleculares (2). Sin embargo esto se dificulta cuando se trata de especies estrechamente relacionadas (1). El objetivo de este trabajo fue caracterizar molecularmente la diversidad de la micoflora responsable de la fermentación del mezcal tamaulipeco y correlacionarlo con su productividad.

**Metodología.** Se caracterizaron 51 aislamientos de levaduras de las vinatas de San Carlos, San Nicolás y Burgos (Tamaulipas). Los cultivos se hicieron en mosto estéril y filtrado, diluido a una concentración inicial de azúcares reductores de 100 g/L, complementados con 1 g/L de nitrógeno de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Se midió la productividad de etanol de las levaduras por HPLC, biomasa por peso seco y azúcares reductores por DNS. Se realizó la clasificación de las levaduras mediante rep-PCR utilizando cebadores "rep". Se analizó la diversidad genética obtenida a partir de dendogramas de distancia generados de la región 26S ADNr.

**Resultados y discusión.** Mediante la técnica rep-PCR se establecieron las diferentes especies por su patrón de bandeado (Fig. 1 A).

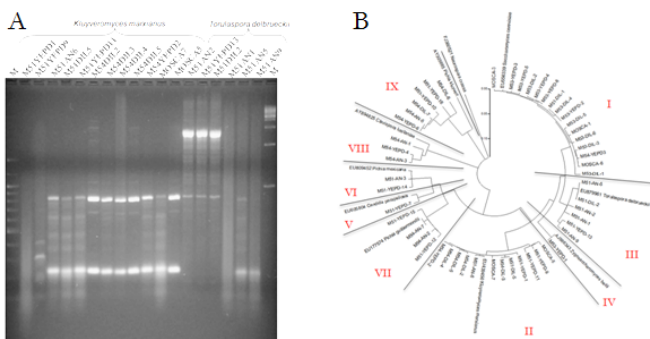


Figura 1. A) rep-PCR representativo de levaduras presentes en los mostos del mezcal. M. Marcador de peso molecular, 100 y 1000 pb. B) Árbol de distancias génicas de la región 26S.

La amplificación de la región 26S permitió la identificación de 9 especies que se encontraban en diferentes etapas de fermentación: *Kluyveromyces marxianus*, *Torulaspora delbrueckii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kluyveri*, *Pichia guilliermondii*, *Pichia mexicana*, *Clavispora lusitaniae*, *Zygosaccharomyces bailii* y *Candida parapsilopsis* (Fig 1B). Tres aislamientos (M53-DIL-5, M53-YEPD-3 y M53-DIL-4), pertenecientes a *S. cerevisiae* mostraron un destacado consumo de azúcares reductores (Cuadro 1). Estos consumos fueron correlacionados con la productividad de etanol y la diversidad genética de los aislamientos.

Cuadro 1. Azúcares reductores consumidos a las 60 horas de fermentación. Concentración de azúcar inicial 100 g/L.

Aislamiento	g/L	Aislamiento	g/L	Aislamiento	g/L
M53-DIL-2	73	MOSCA-6	86	M51-DIL-2	99
M53-DIL-3	89	M51-YEPD-1	56	M51-AN-1	68
M53-DIL-4	94	M51-DIL-5	76	M51-AN-5	67
M53-DIL-5	100	M51-YEPD-11	71	M51-YEPD-7	37
M53-YEPD-3	93	M54-DIL-2	72	M51-AN-3	64
M53-YEPD-5	88	M54-DIL-3	59	M51-YEPD-12	13
M53-YEPD-2	89	M54-DIL-4	50	M51-YEPD-15	5
M51-DIL-1	46	M54-DIL-5	56	M54-AN-2	63
M54-YEPD-3	91	M54-YEPD-2	59	M51-AN-4	52
MOSCA-3	87	MOSCA-5	55	M54-AN-1	33
M54-AN-3	51	M51-YEPD-10	64	M51-YEPD-16	26

**Conclusión.** Existe una gran diversidad de levaduras en los mostos de mezcal, y en el caso de *S. cerevisiae* se observó una gran diversidad genética y de productividad, relacionada con su tiempo de aislamiento durante la fermentación.

**Agradecimientos.** Proyectos CONACYT-Básica2006-57576, SIP-2008-0597, 2008-0081 y 2009-0613. Se agradece las becas PIFI-IPN otorgadas a M. Arratia, F. De la Torre y E. Trujillo.

#### Bibliografía.

- Flores Berrios, E.P., Alba Gonzalez J.F., Arrizon Gaviño, P., Romano, P., Capece, A., Gshaedler Mathis, A. (2005). The uses of AFLP for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity between yeast isolated from Mexican agave-distilled beverages and from grape musts. *Letters in Applied Microbiology* 41, 147-152.
- Kurtzman, C.P and Fell, J.W. (1998). *The yeast, a taxonomic study*. Elsevier Science 3rd edn. Amsterdam (Holland).