

### ECOLOGIA DE LEVADURAS DEL MEZCAL SAN CARLOS, TAMAULIPAS.

Cauhtémoc Jacques-Hernández\*, Oscar Nicolás Soto-Cruz, Miriam Rutiaga, Ana María Sifuentes-Rincón, Patricia Taillandier, Felipe Ramón-Portugal. Centro de Biotecnología Genómica - IPN. (www.cb.g.ipn.mx). Reynosa, Tamaulipas, México, aguilaqueca@yahoo.com, Tel.: +52 899 9243627.

Palabras clave: Mezcal, Ecología de levaduras, Identificación clásica y molecular.

**Introducción.** En analogía a ecosistemas similares como vino (1), tequila (2) y otros destilados (3), la identificación de la microbiota nativa permite entender su dinámica en la fermentación e influencia en la calidad. En este trabajo se presentan los resultados de identificación (ID) de las levaduras de los mostos, por métodos clásicos y moleculares, cuyos resultados permitirán plantear estrategias para incrementar la calidad y realizar los rasgos regionales del mezcal San Carlos, Tamaulipas.

**Metodología.** Se aislaron las levaduras empleado YEPD. Se tomaron muestras a diferentes tiempos en el curso de la fermentación en cuatro fábricas del mezcal San Carlos (Tamps). Las levaduras se agruparon por similitud en su morfología colonial y microscópica, y se identificaron clásica (apoyado con el kit API 20C AUX) y molecularmente (secuencias de la región 5.8S-ITS), de acuerdo a lo descrito por Jacques et al. (2005).

**Resultados y discusión.** Las especies encontradas se muestran en el Cuadro 1. Se requirió un análisis filogenético para una correcta identificación molecular (Figura 1). De los 112 aislamientos (13 gpos.), 77% fueron non-*Saccharomyces* y 23% *S. cerevisiae*. De las primeras, *K. marxianus* fue la más abundante (41%), seguida por *T. delbrueckii* (16%), *P. mexicana* (16%) y *P. membranifaciens* (9%). Las non-*Saccharomyces* se encontraron en las etapas primarias de la fermentación y no fueron capaces de crecer en 10% de etanol tolerado por las cepas nativas de *S. cerevisiae*, que dominó la fase activa, siendo el principal etanol productor. En fermentaciones independientes, cepas nativas de *K. marxianus* y *T. delbrueckii* produjeron casi el 70% de etanol que *S. cerevisiae*.

Cuadro 1. Identificación de ecología levaduriforme.

Grupo	Identificación fenotípica y molecularmente	API <sup>1</sup>	NCBI/BLAST <sup>2</sup>
Species			
T1	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	89.7%	94% AF543841
T2	<i>Hortaea werneckii</i>	—	—
T3	<i>Pichia mexicana</i>	22.8%	95% AB054110
T4	<i>Rhodotorula glutinis</i>	99.9%	97% AM160643
T5	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	98.7%	98% AY235807
T6	<i>Torulasporea delbrueckii</i>	96.7%	98% AM158923
T7	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	95.8%	98% AY046214
T8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	99.5%	99% AB212259
T9	<i>Pichia delftensis</i>	45.8%	95% AY923246
T10	<i>Geotrichum klebahnii</i>	79.2%	94% AJ279445
T11	<i>Clavispora lusitanae</i>	93.3%	95% AY174089
T12	<i>Pichia membranifaciens</i>	98.9%	99% DQ198951
T13	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	99.5%	98% AB212257
T14	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	99.5%	97% AY525600
Control	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	99.5%	99% AB279747

<sup>1</sup> Porcentaje de acuerdo a los resultados con API 20C AUX. Por este método, T3, T9 y T10 fueron identificadas como *P. guilliermondii*, *P. norvegensis* y *Geotrichum penicillatum*, respectivamente, mientras T7 y T12 ambas como *Candida krusei/inconspicua*.

<sup>2</sup> Porcentaje de identificación y número de acceso al GeneBank de la especies más cercanas.

**Conclusiones.** Se encontró, sin diferencia entre métodos, que las levaduras del mezcal San Carlos pertenecen a 10 especies, de 6 géneros; 3 especies no descritas antes en Agave; *K. delftensis*, *P. mexicana* y *R. glutinis* y el resto especies propias de ecosistemas de agave, uva y manzana. *S. cerevisiae*, *K. marxianus* y *T. delbrueckii* son las especies etanol productoras. Las cepas de las primeras, poseen mayor habilidad para producir etanol que las últimas. *T. delbrueckii* ha sido relacionada con la generación de aromas. Lo que será aprovechado para la evaluar su uso en inóculos mixtos.

**Agradecimiento.** Agradecemos el apoyo de la Fundación Produce Tamaulipas, del FOMIX Tamaulipas (proyecto clave TAMPS-2003-C02-13 y de la SIP del IPN (proyectos: 20050354, 20060848 y 20070529).

#### Bibliografía.

- Zott, K., Miot-Sertier, C., Claisse, O., Lonvaud-Funel, A., Masneuf-Pomarede, I. 2008. Dynamics and diversity of non-Saccharomyces yeasts during the early stages in winemaking. *International Journal of Food Microbiology* 125, 197-203.
- Lachance, M. (1998). Yeast community in a natural tequila fermentation. *Antonie Leeuwenhoek*. 68, 151-160.
- Bovo, B., Andrighetto, Ch., Carlot, M., Corich, V., Lombardi, A., Giacomini, A. 2009. Yeast population dynamics during pilot-scale storage of grape marcs for the production of Grappa, a traditional Italian alcoholic beverage. *International Journal of Food Microbiology* 129, 221-228.
- Jacques H. C., Asnett I. López H., Carmina L. Anaya G., Ana M. Sifuentes R., Patricia Taillandier, Felipe Ramón P. (2005). Identificación (ID) de Levaduras Aisladas de Mostos de Mezcal: ID Morfológica-Bioquímica (M-B) vs Molecular (Mol). *Congreso Ibero-Americano de Ingeniería de Alimentos*. CYTED-IPN-UA. Puerto Vallarta, Jal, Mex. 4 al 7 de Septiembre de 2005.

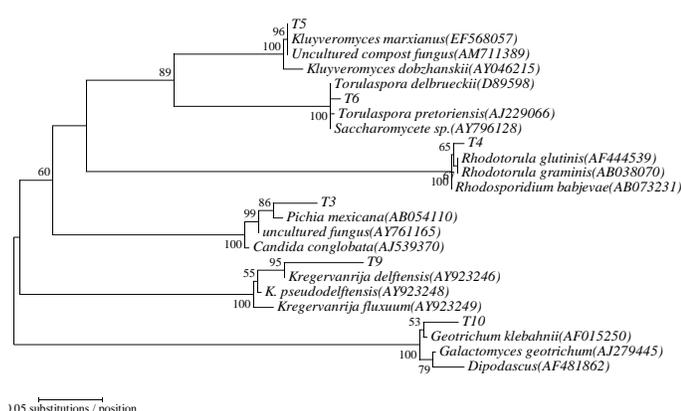


Fig. 1. Análisis filogenético para una correcta identificación molecular con la secuencia de la región 5.8S-ITS.