



## DESARROLLO Y ESCRUTINIO ENZIMÁTICO DE UNA LIBRERÍA METAGENÓMICA EN FAGÉMIDOS A PARTIR DEL ADN DE LOS MICROORGANISMOS FERMENTADORES DEL ATOLE AGRIO, UNA BEBIDA TRADICIONAL MEXICANA.

Carlina Peña-García<sup>1\*</sup>, Teresita Sainz-Espuñes<sup>2</sup> y Dolores Reyes-Duarte<sup>3\*</sup>

1) Posgrado en Ciencias Naturales e Ingeniería, Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa; 2) Departamento de Sistemas biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México D. F., C.P. 04960. 3) Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa; D.F, C.P. 05348; carlinapena@yahoo.it

*Palabras clave: metagenómica funcional, fagémidos, atole agrio.*

**Introducción.** Los alimentos fermentados son aquellos cuyo procesamiento involucra el crecimiento y la actividad de microorganismos. Además de la importancia cultural que tienen en nuestro país, en el ámbito científico los alimentos fermentados constituyen una fuente potencial de biomoléculas de interés biotecnológico. Un alimento fermentado tradicional mexicano es el atole agrio, bebida consumida en el sureste de México elaborada a partir de maíz de doble y sin proceso de nixtamalización. En el estudio microbiológico realizado por Valderrama-Membrillo<sup>(1)</sup>, se demostró la presencia de: bacterias lácticas amilolíticas, bacterias lácticas no amilolíticas, mesófilos aerobios, coliformes, hongos y levaduras. El objetivo del presente trabajo es construir librerías metagenómicas de microorganismos cultivables y no cultivables del atole agrio e identificar, a través de técnicas de metagenómica funcional, actividades enzimáticas hidrolíticas<sup>(2)</sup>.

### Metodología.



Fig 1. Pasos a seguir en la elaboración de las librerías metagenómicas de atole agrio y su posterior análisis.

Las actividades enzimáticas colorimétricas exploradas fueron esterases, amilasas y xilanasas usando como sustratos acetato de naftilo, almidón y xilano de avena.

**Resultados.** El atole agrio fue elaborado de manera tradicional en la zona de Macuspana, Tabasco<sup>(3)</sup>. El DNA metagenómico se aisló de una muestra de la fermentación sólida, el cual fue cortado con la enzima de restricción SaU3AI (Promega) y clonado en el vector Zap Express (Agilent Technologies Inc.). Se obtuvo una librería metagenómica amplificada en bacteriófagos  $\lambda$  de aproximadamente 680,000 PFU y a partir de la cual se desarrolló la librería en fagémidos a través de una escisión masiva. Se individualizaron 4,608 UFC (Fig. 2), los cuales fueron replicados, permitiendo realizar

diferentes pruebas enzimáticas a la misma serie de clones (Figura 3).

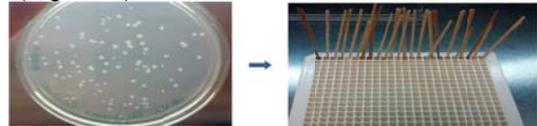


Fig 2. Resultado de la escisión en masa y su posterior individualización.

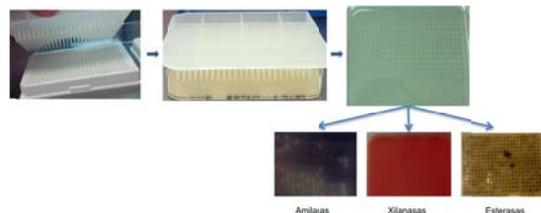


Fig 3. Replicación de los fagémidos y su posterior análisis enzimático.

Con este método se lograron detectar seis clones con actividad esterasa positiva, los cuales están siendo evaluados tanto molecular como bioquímicamente.

**Conclusiones.** El desarrollo de librerías en fagémidos es útil para ampliar la probabilidad de encontrar enzimas dado que los métodos de rastreo pueden ser aplicados tanto en manera sólida como en manera líquida a la misma colección de clones cuantas veces sea necesario. Los escrutinios en medio líquido ayudan a detectar actividades positivas que en medio sólido no son evidentes.

**Agradecimientos.** A CONACyT por la beca de doctorado número 12103. Los autores (\*) son miembros de la red BIOCATTEM (CONACYT- 245413).

### Bibliografía.

- Valderrama A. (2012). Diversidad de bacterias lácticas del atole agrio de Villahermosa Tabasco. Tesis para obtener el título de Químico en alimentos. U.N.A.M.
- Reyes-Duarte D, Ferrer M & García-Arellano H. (2012). Functional-Based Screening Methods for Lipases, Esterases, and Phospholipases in Metagenomic Libraries. in *Lipases and Phospholipases: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*. Ed. Sandoval G, Humana Press, Springer. New York, 101-113.
- Reyes Duarte D, Díaz Ruiz D, Flores M, Peña C, Wacher-Rodarte C, Centurión Hidalgo D, Espinosa-Moreno J. Microbiological study of a traditional sour gruel "Atole Agrio", a fermented maize product. *Memorias del XV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería*. SMBB. Cancún Qro. México. Jun, 2013. III-C55.