



IDENTIFICACION MOLECULAR POR PCR-RFLPS ITS-5.8S DE LEVADURAS AISLADAS DE TEPACHE DE GUERRERO.

José Alberto Lucas, Olivia Rodríguez y Armando Arias, Universidad de Guadalajara, Departamento de Botánica y Zoología, Zapopan Jalisco, 45100, jaariasgarcia@gmail.com.

Palabras clave: identificación molecular, fermento de piña, no-Saccharomyces.

Introducción. El “tepache” es una bebida tradicional mexicana producto de la fermentación de las brácteas (cáscaras) y pulpa de piña con piloncillo de la caña de azúcar. Esta bebida no alcohólica es de color ámbar con olor y sabor agradable y con una alta aceptación en la población mexicana. A pesar de ello, se desconocen las especies de levaduras presentes en esta fermentación y que le confieren las características organolépticas propias de esta bebida.

El objetivo del trabajo fue aislar e identificar con técnicas moleculares las especies de levaduras presentes en una fermentación del tepache tradicional de Guerrero.

Metodología. Las cepas de levaduras se aislaron por medio de diluciones seriadas de una fermentación de piña de la comunidad “La Sabana”, Guerrero, en medio GPYA y una temperatura de incubación de 30°C. La identificación molecular se inició con la extracción de DNA (1), se obtuvieron y compararon los patrones de restricción de la región génica ITS-5.8S (2) y en algunos casos, para confirmar la identificación se obtuvieron las secuencias de DNA para compararlas con las de especies tipo.

Resultados. Se aislaron y purificaron 200 colonias de levaduras preservándolas en glicerol (20%) hasta su posterior análisis. Se obtuvieron los patrones de restricción (2) y se compararon con los reportados previamente para su identificación. En la tabla 1 se muestran los cuatro patrones de restricción encontrado con las enzimas de restricción *Hha* I, *Hinf* I y *Hae* III. Después de su comparación con lo publicado previamente se determinó que corresponden a las especies de *Candida apicola*, *Pichia galeiformis*, *Rhodotorula graminis* y *Zygosaccharomyces florentinus*. En cuanto a la abundancia de las especies se encontró que *C. apicola* y *Z. florentinus* son las especies predominantes en esta fermentación con el 55% y el 21% de los aislados, respectivamente. Por otro lado, se observó que *S. cerevisiae* no está presente entre las cepas aisladas. Los resultados obtenidos no concuerdan con lo registrado anteriormente en otras bebidas fermentadas a partir de jugo de frutas, como es el vino, donde se menciona una gran diversidad de especies de levaduras y que *S. cerevisiae* es la especie predominante (3, 4), pero coincide con los resultados de un estudio realizado en Australia y Tailandia en el que no se reporta

a esta especie en fermentaciones de piña y se sugiere que esto es debido a la presencia de una proteasa que hidroliza la pared celular de *Saccharomyces* pero no a las del grupo no-*Saccharomyces* (5).

Tabla 1. Tamaño en pares de bases (pb) del producto de PCR (Ap) y los patrones de restricción de la región génica 5.8S-ITS (pb) de las cepas de levaduras aisladas del tepache.

Especie	Ap (pb)	Fragmentos de restricción (pb)		
		<i>Hha</i> I	<i>Hae</i> III	<i>Hinf</i> I
<i>C. apicola</i>	500	220+190+80	400+90	230+130+130
<i>P. galeiformis</i>	450	225+100+60	300+80+50	250+200
<i>R. graminis</i>	660	320+290	400+215	230+215+150
<i>Z. florentinus</i>	900	385+365	500+220+145	380+225+120

Conclusiones. El “tepache” de Guerrero presenta una diversidad de especies de levaduras con predominancia del grupo no-*Saccharomyces*. Las especies de levaduras más frecuentes y que llevan a cabo la fermentación de esta bebida son *C. apicola*, y *Z. florentinus* que le dan algunas de las características organolépticas de esta bebida en la región.

Agradecimiento. Armando Arias agradece al apoyo otorgado por parte del COECYTJAL-UDEG. Alberto Lucas fue becado por la convocatoria de alumno sobresaliente (UDEG).

Bibliografía.

1. Querol, A., E. Barrio y D. Ramón. (1992). A comparative study of different methods of yeast-strain characterization. *Systematic and Applied Microbiology*. 15: 439 – 446.
2. Esteve-Zarzoso, B., C. Belloch, F. Uruburu y A. Querol. (1999). *Int J Syst Bacteriol* 49:329-337.
3. Osorio-Cadavid, E., C. Chaves-López, R. Tofalo, A. Paparella y G. Suzzi. (2008). Detection and identification of wild yeasts in champús, a fermented Colombian maize beverage. *Food Microbiol.* 25: 771-777.
4. Schuller D, F. Cardoso, S. Sousa, P. Gomes, A. C. Gomes, M. A. S. Santos, y M. Casal.(2012). Genetic diversity and population structure of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from different grape varieties and winemaking regions. *PLoS ONE* 7(2): e32507.
5. Chanprasartsuk O. C. Prakitchaiwattana, R. Sanguandeeikul y G. Fleet. (2010). Autochthonous yeast associated with mature pineapple fruits, freshly crushed juice and their ferments; and the chemical changes during natural fermentation. *Bioresource Technol.* 101: 7500-7509.