



Tipificación polifásica de lactobacilos aislados del pulque.

Limón Torres Valeria¹, Escalante Lozada Adelfo², Giles Gómez Martha¹. ¹Departamento de Biología, Facultad de Química, UNAM. México, D. F. 04510. ²Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, UNAM. Avenida Universidad 2001. Col Chamiloa, Cuernavaca, Morelos. valerialimont@yahoo.com

Palabras clave: Pulque, ADN-ribosomal, bacilo láctico.

Introducción. El pulque es una bebida tradicional mexicana alcohólica no destilada, producida y consumida en los estados del centro del país. Se elabora a partir de la fermentación de la savia de distintas especies de maguey en condiciones no asépticas. Su producción se encuentra integrada por tres tipos de fermentación: la ácida, la alcohólica y la viscosa (1). Estudios previos sobre el análisis de la diversidad bacteriana presente en muestras de pulque mostraron la presencia de una gran diversidad de bacterias ácido lácticas (BAL), dentro de las cuales la BAL más abundante fue identificada como *Lactobacillus acidophilus* (2).

El presente trabajo reporta la caracterización y tipificación polifásica de una colección de lactobacilos aislados de muestras de pulque de colectadas de la localidad de Huitzilac, Estado de Morelos.

Metodología. A una colección de BAL aisladas de muestras de pulque de la localidad de Huitzilac, Mor. se le verificaron sus características morfológicas, Gram y catalasa. A partir del DNA cromosomal extraído de cada cepa se amplificó por PCR el gen ANDr 16S y se realizó una tipificación por ARDRA empleando la enzima de restricción *Hae* III. Para cada uno de los casos los resultados fueron visualizados en un gel de electroforesis. Con base en los perfiles de bandeo únicos se realizó un dendrograma y se obtuvo la secuencia de un representante de cada perfil para su identificación por secuenciación del mismo gen.

Resultados. La morfología de las 60 cepas cultivadas en el laboratorio fue bacilar, Gram-positivos, catalasa-negativos y microaerófilas que corresponden a lo esperado para los lactobacilos. El análisis del ARDRA por electroforesis en gel de agarosa (Fig. 1.) permitió detectar mediante la identificación de perfiles únicos de bandeo 11 perfiles únicos de bandeo. Los aislados designados como 2S1.12, 1S1.33, 2S1.18, 2S1.12b, 2S1.37b, 1S1.37, 2S1.28t, 2S1.28b y 2S1.14td se identificaron como *L. brevis* (3). Este resultado es relevante debido a que por primera vez se reporta el aislamiento y la identificación de esta bacteria láctica en muestras de pulque. Los diferentes perfiles de bandeo detectados sugieren la presencia de una gran diversidad de esta BAL. Este resultado correlaciona con reportes previos del análisis de la diversidad de BAL presentes en muestras de pulque de diferentes regiones geográficas y durante el seguimiento de una fermentación en laboratorio, en donde se detectó por análisis de bancos de clones ADNr 16S a *L.*

acidophilus como la BAL más abundante, sin embargo, nuestros resultados del análisis de diversidad cultivable indican la presencia de una diversidad importante de BAL identificadas como *L. brevis* en muestras de pulque de la misma localidad.

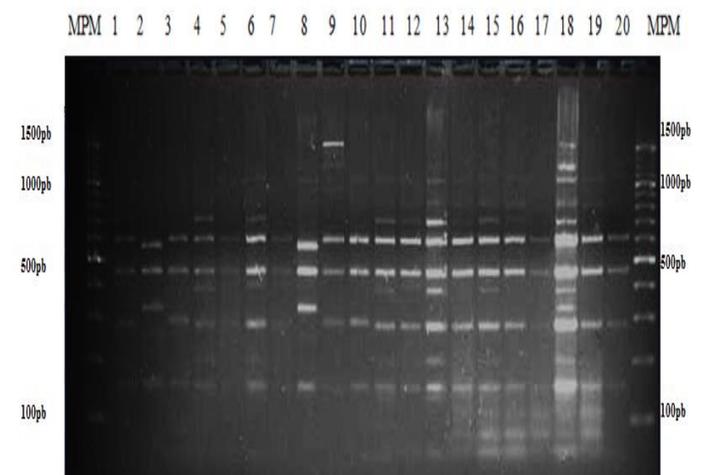


Figura 1. ARDRA de BAL aisladas de muestras de pulque de la localidad de Huitzilac, Morelos. (gel de agarosa al 2.5 %) Marcador de peso molecular (MPM): O'GeneRuler 100 pb DNA ladder) del análisis de restricción de ADN ribosomal amplificado de las cepas: 1:2S1.12, 2: 2S1.19, 3: 2S1.37t, 4: 1S1.15, 5:2S1.12, 6:2S1.32, 7: 2S1.33, 8: 2S1.20, 9: 1S1.1, 10: 2S1.22, 11: 2S1.37t, 12: 2S1.2, 13: 2S1.18, 14: 2S1.12b, 15: 2S1.37b, 16: 1S1.37, 17: 2S1.28b, 18: 2S1.28t, 19: 2S1.38b, Carril 20: 2S1.14td.

Conclusiones. El análisis por ARDRA de una colección de 60 aislados de BAL de muestras de pulque de la localidad de Huitzilac, Morelos, permitió la identificación por éstos aislados como *Lactobacillus brevis*.

Agradecimiento. Este trabajo contó con el financiamiento del proyecto PAPIIT DGAPA-UNAM IN207914.

Bibliografía.

- (1) Escalante, A.; Giles-Gómez, M.; Esquivel, G.; Matus, V.; Moreno-Terrazas, R.; López-Munguía, A.; Lappe-Oliveras, L. (2012). Pulque Fermentation En: Hui, H et al. ed. *Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology*. New York: Taylor & Francis Group: 691-706.
- (2) Escalante, A., Giles-Gómez, M., Hernández, G., Córdova-Aguilar, M., López-Munguía, A., Gosset, G., Bolívar, F. 2008. Analysis of bacterial community during the fermentation of pulque, a traditional Mexican alcoholic beverage, using a polyphasic approach. *International J. Food Microbiol.* 124:126-134.
- (3) Gutierrez, E. (2015). Detección de lactobacilos aislados del pulque con capacidad probiótica. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de México.