



INFLUENCIA DE LA FLOCULACIÓN EN LA RESISTENCIA AL ESTRÉS POR TEMPERATURA, ASOCIADO A LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS EN LEVADURAS DEL MEZCAL

Israel Vergara Alvarez, Amanda Oliva Hernández, Francisco Roberto Quiroz Figueroa, María Tamayo-Ordoñez, C. Patricia Larralde-Corona, José A. Narváez-Zapata. Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional. Blvd. Del Maestro, S/N. Col. Narciso Mendoza. Reynosa, Tamaulipas. CP. 88710. E-mail: jnarvaez@ipn.mx

Palabras clave: Floculación, estrés, *Saccharomyces cerevisiae*

Introducción. En la industria mezcatera, la fermentación se realiza por levaduras de distintos géneros en condiciones fluctuantes de estrés. Algunas de estas podrían flocular a través de floculinas en presencia de Ca^{2+} (1). El estrés puede favorecer la floculación y producir ciertos metabolitos específicos como mecanismos de sobrevivencia. Este estudio caracteriza estos fenómenos en levaduras aisladas de mostos de mezcal.

Metodología. 19 levaduras (cepario LBI-CBG) con tolerancia a diversos estreses fueron crecidas a 10, 15, 20, 30 y 40 °C (inoculo 0.5 Abs_{600nm}) en diluciones de hasta 1×10^4 en YPD o YPF (glucosa o fructosa al 2%) y analizadas usando la técnica de micro-gota. Se evaluó el crecimiento por conteo celular, el consumo de azúcar por DNS y la producción de metabolitos (etanol, glicerol y ácido acético) por HPLC en micro-cinéticas a 30 y 40 °C en medio líquido YPG o YPU (glucosa o fructosa al 10%), inoculadas con 1.5×10^6 células/ml. La floculación en fase estacionaria en tampón citrato/ CaCl_2 8mM por Abs_{600nm} (1). La microscopia confocal con Solophenyl Flavine 7GFE-500 0.4% (SPF). La sensibilidad a azúcares como (2) y la amplificación de genes FLO con oligos de (3) y diseñados en este estudio.

Resultados. El crecimiento en medio sólido (YPF, YPD) no mostro diferencias, pero si en el estrés por temperatura, siendo más tolerantes las cepas *Saccharomyces cerevisiae* (Sc3Y8) y *Kluyveromyces marxianus* (Km1D5). Estas mostraron mejor asimilación de glucosa y fructosa a 40 °C en medio líquido, incluso mejor que la Fermichamp (cepa modelo). La Sc3Y8 fue la más productiva con 8.6g/L (glicerol) y 43.6 g/L (etanol), en todas las condiciones, y demostró floculación, con menos células lisadas en estrés con respecto a Fermichamp (Fig. 1). El fenotipo de floculación en esta cepa es dependiente de Ca^{2+} , sensible a galactosa, glucosa, fructosa y sacarosa, e insensible a manosa (Fig. 2). Finalmente, fue posible amplificar los genes Flo1, Flo5 y Flo11 de esta cepa.

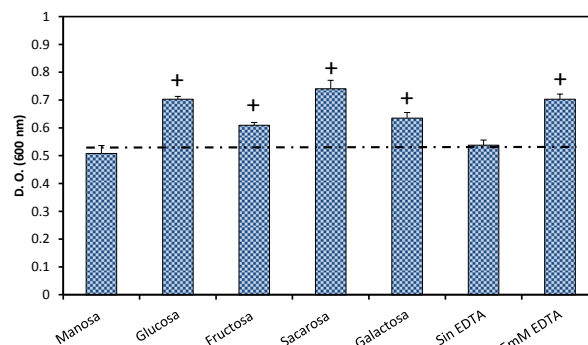


Figura 2. Sensibilidad por azúcares del fenómeno de floculación en la cepa Sc 3Y8.

Conclusiones. De acuerdo al género se observa un comportamiento diferencial al estrés por temperatura. *S. cerevisiae* (Sc3Y8) y *K. marxianus* (Km1D5) presentaron mayor tolerancia a este estrés. Solo Sc3Y8 presentó floculación bajo estas condiciones y este fenómeno es del tipo NewFlo.

Agradecimiento. A los proyectos SIP 2015-1149 y 2015-1484, así como del CONACyT FOMIX-Tamaulipas 193682 y Ciencia Básica 2013-01-221289. I.V.A. agradece el apoyo BEIFI otorgado por el IPN.

Bibliografía

1. Soares et al. 2004. *Journal of Applied Microbiology*. 96:1117–1123.
2. Bayly et al. 2005. *FEMS Yeast Research*. 5: 1151-1156.
3. Govender et al. 2008. *Applied and Environmental Microbiology*. 74(19): 6041-6052.

Fermichamp

Sc 3Y8

30 °C

40 °C

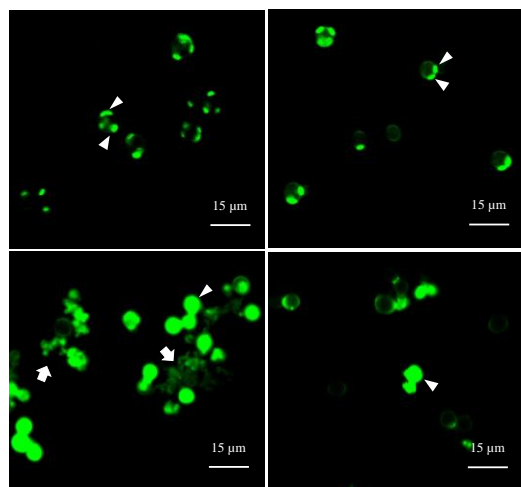


Figura 1. Células *S. cerevisiae* teñidas con SPF (40X). En condición óptima y estresante. Flechas indican lisis celular, las cabezas de flecha señalan las cicatrices del proceso de gemación.