



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



IDENTIFICACION MOLECULAR DE UNA CEPA DE LEVADURA AISLADA DE JUGO DE AGAVE PRODUCTORA DE β -FRUCTOSIDASA.

Lisardo Alonso Díaz Mendoza^a, Rosa I. Corona González^a, Armando Arias García^b
^aDepartamento de Ingeniería Química-CUCEI; ^bDepartamento de Botánica Zoología-CUCBA.
Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco C. P. 44430.
Correo electrónico: aarias@cucba.udg.mx.

Palabras clave: identificación molecular, jugo de agave, levaduras

Introducción. La obtención de fructosa a partir de polifruktanias por vía enzimática con β -fructosidasas se lleva a cabo por una reacción simple produciendo hasta un 95% de fructosa (1). Las β -fructosidasas (invertasas e inulinasas) son producidas por bacterias, levaduras y hongos filamentosos. Los microorganismos más empleados son hongos del género *Aspergillus* sp. y levaduras del género *Kluyveromyces* (2). México ha sido considerado el centro de origen y biodiversidad del género *Agave*, en estas especies se ha encontrado más de un tipo de estructuras de fructanas (3). Las levaduras poseen numerosas aplicaciones en la biotecnología tradicional y moderna, participan en la producción de alimentos, bebidas, entre otros productos de valor añadido, sin embargo algunos géneros son causantes de micosis en el hombre y, en algunos casos, son patógenos oportunistas asociados a enfermedades como el VIH. También son causantes del deterioro de alimentos frescos y elaborados para el consumo humano. Por estas razones se hace imprescindible la identificación exacta y rápida de las levaduras de interés industrial, clínico y ambiental. Estas dificultades se han solucionado con la aplicación de las técnicas moleculares, basadas en el análisis de fragmentos de las moléculas de ácidos nucleicos.

En el presente trabajo se identificó una cepa de levadura productora β -fructosidasas aislada de jugo de *Agave tequilana* WEBER mediante técnicas moleculares.

Metodología. La identificación molecular se realizó una extracción de DNA y mediante PCR se amplificó la región 5.8S-ITS. Con el producto de PCR se realizó una digestión utilizando las enzimas *Hha* I, *Hae* III y *Hinf* I y mediante un gel de agarosa al 3% se separaron los fragmentos de restricción (4). Con esto se obtuvieron los patrones de restricción y posteriormente se compararon con los de la base de datos (<http://www.yeast-id.com/>). Para confirmar la correcta identificación de la especie se secuenció la región 5.8S-ITS y posteriormente se comparó la secuencia nucleotídica obtenida con las depositadas en la base de datos (<http://www.ebi.ac.uk/Blas2/index.html>).

Resultados. El producto de PCR de la región 5.8S-ITS de la cepa aislada de jugo de agave fue de 740 pb. El patrón de restricción se muestra en la Figura 1 y se

determino que con la enzima *Hha* I se obtienen bandas de 285+190+165+90 pb, con *Hae* III el tamaño de las bandas fue de 655+80 y con *Hinf* I fueron de 240+185+120+80+65+50. Al comparar este perfil de restricción con los depositados en la base de datos se logró identificarla como *Kluyveromyces marxianus* var. *drosophilum* lo que se confirmó al hacer un blast con la secuencia.

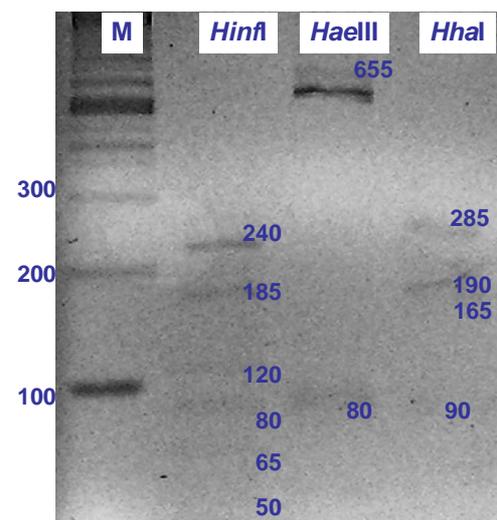


Fig. 1. Perfil de restricción del producto de PCR de la región 5.8S-ITS de la cepa aislada de jugo de agave.

Conclusiones. Se determinó que *Kluyveromyces marxianus* var. *drosophilum* es la especie de la cepa de levadura productora de β -fructosidasa aislada de jugo de agave.

Agradecimiento. A. Arias es exbecario Promep.

Bibliografía.

1. Ricca E, Calabro V, Curcio S, y Lorio G. (2007). The state of the Art in the production of Fructose from Inulin Enzymatic Hydrolysis. *Critical Reviews in Biotechnology*, 27:129-145.
2. Skowronek M, y J. Fiedurek (2004). Optimisation of inulinase production by *Aspergillus niger* using simplex and classical method. *Food Technol and Biotechnol*, 42(3):141-146.
3. López, M., N. Mancilla-Margalli y G. Mendoza-Diaz, (2003) Molecular structures of fructans from *agave tequilana* Weber. var. *azul*. *J Agric Food Chem* 51, 7835-7840.
4. Esteve-Zarzoso B, C. Belloch, F. Uruburu y A. Querol. (1999). *Int. J. Syst Bacterial* 49:329-337.