



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## MONITOREO DE LA DINAMICA POBLACIONAL DE TRES ESPECIES DE LEVADURAS AISLADAS DEL MEZCAL TAMAULIPECO

Francisco Javier De la Torre González, Elizabeth G. Hernández Mota, Amanda A. Oliva Hernández, José A. Narváez Zapata y Claudia Patricia Larralde Corona. Instituto Politécnico Nacional (Laboratorio de Biotecnología Industrial, Centro de Biotecnología Genómica), Blvd. Del Maestro esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza C.P. 88710 Reynosa (Tamaulipas) México. fdelatorreg0800@ipn.mx

*Palabras clave:* Dinámica poblacional, Fermentación, Levaduras.

**Introducción.** El mezcal es la segunda bebida alcohólica destilada más importante en México después del tequila. La producción de esta bebida emplea inóculos espontáneos, que en su mayoría están formados por mezclas de especies diferentes de levaduras (1). El uso de técnicas analíticas como moleculares permiten dar seguimiento a los microorganismos presentes en el sistema fermentativo permitiendo observar la degradación de los azúcares presentes en el medio así como la diferenciación de los organismos.

En este trabajo se caracterizó un cultivo mixto de *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* y *Torulaspora delbrueckii*, siendo estas las especies predominantes aisladas, evaluando producción de metabolitos, cinética de crecimiento y su cambio poblacional. Simulando en el laboratorio las condiciones de cultivo que se presentan en la vinata de Tamaulipas.

**Metodología.** El crecimiento de cultivo se evaluó mediante conteo en cámara de Neubauer, consumo de azúcares y producción de metabolitos como etanol y glicerol fueron evaluados por HPLC. Para la evaluación de la cinética de crecimiento se elaboró un medio basado en relación fructosa:glucosa (9:1) a una concentración de 100 g/L de azúcares totales, suplementado con 1 g/L de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . El seguimiento de la dinámica poblacional se realizó mediante la técnica FISH utilizando las sondas reportadas (2) marcadas con Cy3 en el extremo 5', específicas para las tres especies evaluadas. Se probaron dos inóculos mixtos, el primero a una relación 1:1:1 y el segundo 0.1:1:1 de las especies *S. cerevisiae*, *K. marxianus* y *T. delbrueckii*.

**Resultados.** La tasa de crecimiento específica para el inóculo 1:1:1 fue de  $0.0025 \text{ h}^{-1}$  y  $0.0015 \text{ h}^{-1}$  para 0.1:1:1, lo que indica que el crecimiento fue escaso para ambos sistemas, sin embargo se observó un buen rendimiento de etanol alcanzando valores máximos de  $45 \text{ g L}^{-1}$ .

Cuadro 1. Parámetros cinéticos de la fermentación llevada a cabo en

Tiempo (h)	Inóculo 1:1:1		
	$Y_{x/s} (\text{g g}^{-1})$	$Y_{\text{EtOH}/s} (\text{g g}^{-1})$	$Y_{\text{glic}/s} (\text{g g}^{-1})$
60	0.03	0.27	0.07
120	0.07	0.45	0.08

medio sintético al inóculo 1:1:1.

El seguimiento de la dinámica poblacional mostró el cambio en las áreas detectadas por la técnica de FISH la cual mostró una correlación con los datos obtenidos en el conteo celular.

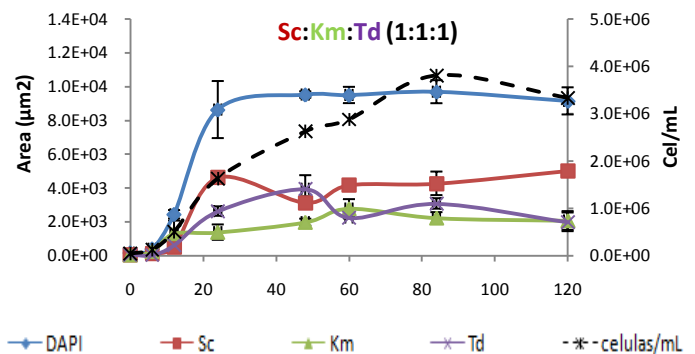


Fig. 1. Dinámica poblacional durante la fermentación en medio sintético con inóculo en mezcla 1:1:1.

**Conclusiones.** El uso de la técnica de hibridación fluorescente *in situ* (FISH) permitió observar la evolución poblacional de las tres especies de levaduras, las cuales se presentan en proporciones distintas y significativas durante el transcurso del proceso fermentativo. Sin embargo, son las células de *S. cerevisiae* las cuales predominan en la etapa final de la fermentación, mientras que las otras dos especies muestran un declive en número celular.

**Agradecimiento.** El alumno F.J. De la Torre González agradece el apoyo del Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI). Se reconocen los apoyos económicos del CONACyT (Ciencia Básica 2006-57576) y del Instituto Politécnico Nacional (proyectos SIP2010-0928 y 2011-0049) y de FORDECyT 2RO/2009/08/06-07 clave 11546.

### Bibliografía.

1. Arratia Mireles, J.M. 2010. Diversidad genética de levaduras involucradas en la fermentación del mezcal tamaulipeco. Tesis de Maestría en Ciencias en Biotecnología Genómica. CBG-IPN. Reynosa, Tamaulipas, México.
2. Xufre, A., Albergaria, H., Inácio, J., Spencer-Martins, I., Girio, F. 2006. Application of fluorescence *in situ* hybridization (FISH) to the analysis of the yeast population dynamics in winery and laboratory grape must fermentations. *Int J Food Microbiol* 108, 376-384.