



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



IDENTIFICACION MOLECULAR DE LEVADURAS AISLADAS DE TEPACHE CASERO.

Elda Mireya Rodríguez-González, Carlos Vladimir Muro-Medina, Armando Arias
Laboratorio de Biotecnología, Centro Universitario de Ciencias Biológicas Agropecuarias, Universidad de Guadalajara.
Zapopan, Jalisco. 45100. mireya_3235@hotmail.com

Palabras clave: identificación molecular, levaduras, tepache casero.

Introducción. En México existe una gran diversidad de fermentaciones tradicionales, en donde las levaduras juegan un papel muy importante en su producción. Sin embargo, no se han estudiado lo suficiente como las bebidas tradicionales de Asia y África. El tepache es una bebida ligera y refrescante que se obtiene en forma tradicional mediante la fermentación de piña y piloncillo. Esta fermentación se realiza sin control de la temperatura durante dos o tres días y si se deja fermentar por más tiempo, se convierte en una bebida alcohólica y después en vinagre.

El objetivo del presente trabajo fue Identificar con técnicas moleculares las cepas de levaduras asociadas a una fermentación casera para la obtención de tepache.

Metodología. Se realizó el aislamiento de 72 cepas de levaduras obtenidas de una muestra de tepache casero con un tiempo de fermentación de 36 horas. Para la identificación de las especies de levaduras se siguió la metodología propuesta previamente por Esteve-Zarzoso y cols. (1) y se obtuvieron los patrones de restricción de cada cepa mediante RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms). Para ello, se realizó la extracción de DNA de las 72 cepas de levaduras aisladas de la muestra de tepache casero. Se amplificó la región génica ribosomal 5.8S-ITS por PCR (Fig. 1). Con los productos de PCR se realizó una digestión utilizando 3 enzimas (*Hha* I, *Hae* III y *Hinf* I) y mediante un gel de agarosa al 3% se separaron los fragmentos de restricción (Fig. 2). Con esto se obtuvieron los diferentes patrones de restricción para cada cepa y posteriormente se compararon con los de la base de datos (<http://www.yeast-id.com/>) para identificar las cepas de levaduras aisladas en el tepache.

Resultados. Se aislaron 72 cepas de levaduras en una muestra de tepache casero después de 36 horas de fermentación. El producto de PCR fue de 750 pb. Los fragmentos de restricción obtenidos fueron los siguientes: 320+310+105 con la enzima de restricción *Hha* I, 750 con *Hae* III y 350+200+180 con *Hinf* I. Con base en estos patrones de restricción y en la comparación con los depositados en la base de datos se determinó que corresponden a *Hanseniaspora*. Se determinó que es la levadura predominante con más del 95% de las cepas aisladas. Los resultados obtenidos muestran que las cepas de levaduras aisladas de tepache son similares a las de otras fermentaciones tales como una alcohólica

para la producción de vino en donde se ha mencionada esta levadura (2). Además nuestros resultados coinciden con lo mencionado recientemente para una fermentación de piña en Tailandia y Australia (3).

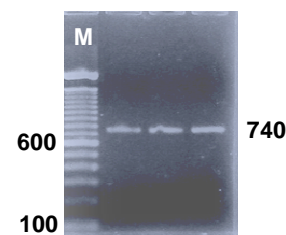


Fig. 1. Peso molecular de los productos de PCR (pb) de la región 5.8S-ITS de algunas cepas de levaduras aisladas de tepache casero. M es el marcador de peso molecular de 100 pb.

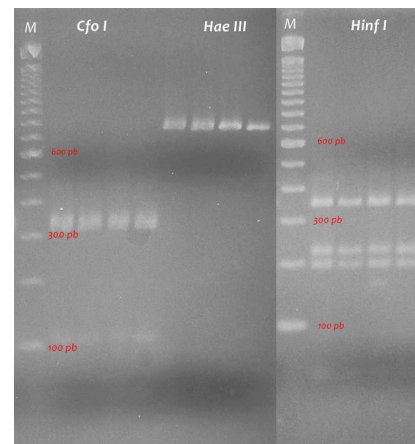


Fig. 2. Peso molecular de los fragmentos de restricción de la región 5.8S-ITS de algunas cepas de levaduras aisladas de tepache casero. M es el marcador de peso molecular de 100 pb.

Conclusiones. La levadura que predomina después de 36 h de fermentación para la producción de tepache casero es *Hanseniaspora*.

Agradecimiento. E. M. Rodríguez es estudiante sobresaliente y A. Arias es exbecario Promep.

Bibliografía.

1. Esteve-Zarzoso B., C. Belloch, F. Uruburu y A. Querol (1999). *Int. J. Syst Bacteriol* 49:329-337.
2. Lopes, C.A., M. van Broock, A. Querol, A.C. Caballero (2002). *J. Appl. Microbiol.* 93: 608-615
3. Chanprasartsuk O., C. Prakitchaiwattana, R. Sanguandeeikul y G. Fleet (2010). *Bioresour. Technol.* 101:7500-7509.