

CARACTERIZACION DE LEVADURAS AISLADAS DEL PROCESO DE FERMENTACION DEL TEQUILA MEDIANTE CARIOTIPOS

Amin Fallad Ch., Patricia Téllez M. & Anne Gschaedler M.
CIATEJ, A.C. Av. Normalistas No 800, CP 44270 Guadalajara, Jal.
aminfall@hotmail.com.mx

Palabras claves: *tequila, cariotipo, levadura.*

Introducción. Debido a que las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* carecen de marcadores fenotípicos, los patrones cromosómicos han sido utilizados como una técnica confiable en la caracterización de levaduras (1). La electroforesis en campo pulsante consiste en realizar una separación de cromosomas enteros para obtener el perfil de cada cepa, la variación al nivel de la constitución de los cromosomas es muy alta permitiendo su diferenciación (2). El polimorfismo puede ser explicado parcialmente por los diferentes tamaños de variantes de cromosomas específicos, se ha observado que esta diferencia puede alcanzar hasta un 45 % del tamaño del cromosoma en cuestión (3). Las galerías de identificación API 20 C, con perfiles de fermentación y asimilación de compuestos carbonados, ayudan en las tareas de clasificación de las levaduras, pero no son suficientes para realizar la identificación. El objetivo del trabajo fue la caracterización molecular de levaduras aisladas de los procesos de elaboración del tequila.

Metodología. Las levaduras se aislaron previamente de jugo de agave de Tequila, Guadalajara, y Arandas, Jalisco. La identificación se realizó mediante galerías API 20 C, y la técnica de cariotipos obtenidos por electroforesis en campo pulsante. Los resultados de las galerías y de los cariotipos se evaluaron por análisis de clusters (método UPGMA, índice city block).

Resultados y Discusión. Usando las galerías API se estableció que 7 de las 11 levaduras estudiadas presentaban un comportamiento similar al de *Saccharomyces cerevisiae*; los 4 restantes correspondieron a *Candida magnolia*, *C. krusei*, *C. sphaerica*, y de *Kloeckera spp.* Los resultados de las galerías se verificaron mediante cariotipos, (Figuras 1 y 3); en los casos de levaduras que no presentan un patrón similar al del estándar (*S. cerevisiae* YNN295), fue necesario realizar corridas con otras condiciones (Fig. 3). El análisis de cluster indicó que a excepción de dos levaduras, las demás exhibieron diferentes patrones de bandeado (Figuras 2 y 4), confirmando las diferencias entre las cepas; las dos levaduras que presentan perfiles iguales son la misma, introducida a propósito desde el principio con diferentes claves para determinar su posible detección.

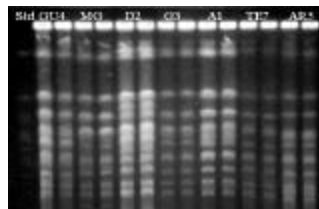


Fig. 1 Cariotipos con un tiempo de corrida de 24 h.

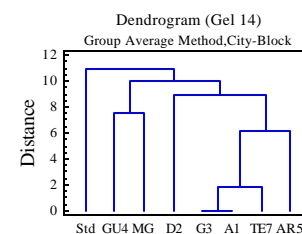


Fig. 2 Análisis de clusters de cariotipos corridos por 24 h.

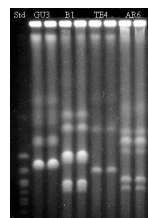


Fig. 3 Cariotipos con un tiempo de corrida de 33.3 h.

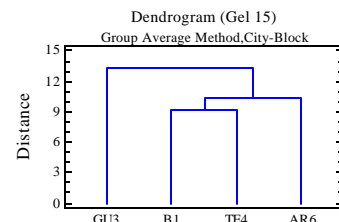


Fig. 4 Análisis de clusters de cariotipos corridos por 33.3 h.

Conclusiones. De las levaduras aisladas 6 correspondieron al género *Saccharomyces spp.*, 3 al género *Candida spp.* y 1 al género *Kloeckera spp.* Estas levaduras pueden ser diferenciadas entre sí mediante la utilización de los cariotipos obtenidos por electroforesis en campo pulsante.

Agradecimientos. Este trabajo se desarrolló en el marco del proyecto CONACYT "Estudio molecular y fisiológico de cepas de levaduras aisladas en la fermentación del jugo de *Agave tequilana* Weber" Ref. 32719-B

Bibliografía

1. Martínez, P., Codón, A., Pérez, L., and T. Benítez. (1995). Physiological and Molecular Characterization of Flor Yeasts: Polymorphism of Flor Yeast Populations. *Yeast*. Vol 11: 1399-1411.
2. Schwartz, D.C., and Cantor, C.R. (1984). Separation of Yeast Chromosome-Sized DNAs by Pulsed Field Gradient Gel Electrophoresis. *Cell*. 37: 67-75.
3. Bidden, C., Blondin, B., Dequin, S., and F. Vezinhet. (1992). Analysis of the chromosomal DNA polymorphism of wine strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Current Genetics*. 22: 1-7.