

GENERACIÓN DE LIBRERÍAS METAGENÓMICAS DE LA MICROBIOTA DEL AGUAMIEL PARA LA OBTENCIÓN DE ENZIMAS FUNCIONALES

Daniel Ortega-Morales, Sofía González-García, Yareni Mariana Ramírez-Santoyo, Rita Karen Pacheco-Cabañas, Lesther Emmanuel López-Cruz; Departamento de Ciencias e Ingenierías, Universidad Iberoamericana Puebla, San Andrés, Cholula, Puebla, 72810; lestheremmanuel.lopez@iberopuebla.mx

Palabras clave: metagenómica, aguamiel, clonación

Introducción. El maguey (*Agave spp.*), es una de las plantas más aprovechadas en América. Existen registradas 82 especies y 197 taxones, y pocas son capaces de producir aguamiel [1]. El aguamiel es una savia proveniente de la piña de algunas especies de agave como: *A. mapisaga*, *A. atrovirens* y *A. salmiana*. Se le atribuyen cualidades prebióticas y probióticas, debido a los carbohidratos y a la microbiota que lo componen. En diversos aislamientos se han identificado levaduras y bacterias ácido-lácticas homo y hetero fermentativas. La mayoría de los estudios de la microbiota del aguamiel se han realizado por medio de técnicas tradicionales de cultivo. Por ello, gran parte de su riqueza genética es limitada y desconocida, algunos microorganismos predominantes del aguamiel son: *Lactobacillus sp.*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Zymomonas mobilis* y *Saccharomyces cerevisiae* [2-3]. Por otra parte, la metagenómica funcional, permite aprovechar la información genética con una alta sensibilidad y reproducibilidad [3]. Las librerías metagenómicas dan acceso “prácticamente ilimitado” al potencial genético de aquellos microorganismos no cultivables, a la identificación y selección de enzimas o genes de interés a través del estudio metabólico en un microorganismo huésped [4-5]. El presente estudio busca la obtención de enzimas de interés biotecnológico a través de ensayos funcionales a partir de la generación de librerías metagenómicas.

Metodología. El ADN metagenómico fue extraído de muestras de aguamiel provenientes del estado de Tlaxcala. Posteriormente, se utilizaron 100 ng de material genético que fue digerido enzimáticamente con Sau3AI (5 U/μL) y se realizó una electroforesis al 1% de agarosa. La ligación de los fragmentos de ADN metagenómico fue realizada en el vector de clonación pUC19 y linealizado con la enzima de restricción BamHI. Se prepararon células quimiocompetentes de la cepa *E.coli* DH5α para la transformación bacteriana.

Resultados. Se obtuvieron fragmentos digeridos del ADN metagenómico con la enzima de restricción Sau3AI que fueron purificados entre las 7,000 y 20,000 pb desde el gel de agarosa (ver, figura 1).

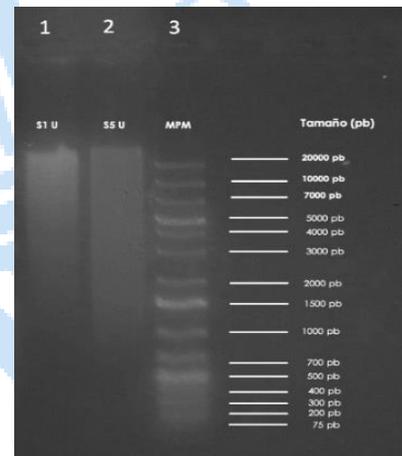


Fig. 1. ADN metagenómico del aguamiel digerido con la enzima Sau3AI.

Conclusiones. La extracción, purificación y ligación del ADN metagenómico de la microbiota del pulque fue exitosa. Las células de *E.coli* DH5α serán transformadas y dirigidas a la búsqueda de enzimas esterazas, lipasas y lacasas mediante ensayos funcionales.

Agradecimiento. Al director del IDIT, el mtro. Ramiro Bernal Cuevas y al Dr. César Augusto Barrales Cortés, coordinador de la carrera en Ingeniería en Biotecnología.

Bibliografía.

- Guzmán-Pedraza, R., & Contreras-Esquivel, J. C. (2018). Mexican Journal of Biotechnology, 3(1), 1-22.
- Medina-Mendoza, C., Roldán-Cruz, E. I., & Vázquez-Jahuey, M. (2022). Agricultura, Sociedad y Desarrollo, 19(4), 448-462.
- Sepúlveda-Sáenz, L.F. (2020). Introducción. En: Evaluación del efecto estacional sobre el microbioma involucrado en la fermentación del aguamiel y su influencia en las propiedades químicas del pulque. Piñón Castillo, H. A. Universidad Autónoma De Chihuahua México. 1-2
- Terrón González, L. (2014). Metagenómica. En: Desarrollo de sistemas de expresión para análisis metagenómicos funcionales e identificación de enzimas de interés. Santero Santurino E. Universidad Pablo de Olavide. España. 5-20
- Reyes Duarte, D., Peña García, C., Sánchez Enriquez, F., & Ferrer, M. (2010). Revista Mexicana de Ingeniería Química, 9(1), 55-62.