

**IDENTIFICACION GENETICA DE CEPAS DE
LEVADURA DEL "VALLE DEL SALNES"
RESPONSABLES DE LA FERMENTACION
ESPONTANEA DEL VINO ALBARIÑO**

María del Mar VILANOVA DE LA TORRE, Isabelle MASNEUF y
Denis DUBOURDIEU

Instituto de Enología de la Universidad de Burdeos
351, cours de la Liberation 33405 - Talence Cedex

INTRODUCCION

El "Valle del Salnés", situado sobre la costa Atlántica de la región Gallega, es la mayor zona productora del vino blanco seco Albariño dentro de la Denominación de Origen "Rias Baixas".

La fermentación espontánea se viene practicando desde hace años en esta región, por ello nos parece interesante estudiar las levaduras autóctonas responsables de la fermentación de los mostos, en una bodega en la que nunca se ha practicado la inoculación de levaduras secas activas.

En los trabajos comparables efectuados en una bodega de la región bordelesa, FREZIER et al. (1992) ha puesto de manifiesto la presencia de cepas dominantes de *Saccharomyces cerevisiae* (*bayanus*) en todas las cubas de vinificación, dos años consecutivos.

El objetivo de este trabajo es precisar la heterogeneidad genética de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* al curso de la fermentación espontánea de los vinos albariños de una bodega del "Valle del Salnés".

MATERIALES Y METODOS

Aislamiento de las cepas

En un principio hemos aislado 240 cepas al azar a partir de la microflora natural de los mostos en plena fermentación.

Preselección

Posteriormente se realizan microvinificaciones en botella de 200 ml. A partir de aquí se seleccionan 17 cepas por sus características fermentativas y organolépticas de los vinos obtenidos.

Identificación de cepas

- Identificación de especies y razas fisiológicas -

Hemos utilizado Galerías API 20 C de API System que están compuestas por 20 test de fermentación y de asimilación para identificar la raza fisiológica de las cepas encontradas en nuestro estudio.

- Identificación genética de las cepas -

La identificación genética se lleva a cabo mediante dos técnicas:

1 - Reacción de Polimerización en Cadena, (PCR) - Esta técnica nos permite obtener un polimorfismo de amplificación de ciertas regiones del genoma de la levadura, creando perfiles característicos de cada cepa. Consiste en una amplificación enzimática específica *in vitro* de uno o varios fragmentos del AND de la levadura.

2 - Electroforesis en Campo Pulsado, (ECP) - Mediante esta técnica los cromosomas de la levadura van a separarse en un campo eléctrico alternativo.

La diferenciación de las cepas según esta técnica se basa en el polimorfismo de talla de los cromosomas de la levadura por lo tanto permite identificarlas mediante el análisis de sus cariotipos.

RESULTADOS

Análisis por Test API 20

Este análisis nos revela que las 17 cepas estudiadas pertenecen a la especie *Saccharomyces cerevisiae* raza fisiológica *cerevisiae*.

Análisis por Reacción de Polimerización en Cadena

Sobre las 17 cepas estudiadas por PCR, se obtuvieron 9 perfiles diferentes.

3 perfiles (A,B,D) se encuentran 3 veces cada uno; 2 perfiles (C,E) se repiten 2 veces y los otros 4 perfiles (*) son diferentes entre ellos y los precedentes.

Análisis por Electroforesis en Campo Pulsado

De las 17 cepas analizadas por ECP, se obtuvieron 12 cariotipos diferentes.

2 cariotipos (A',B') se encuentran 3 veces; 1 cariotipo (C') se repite 2 veces y los otros 9 cariotipos (*) son diferentes entre ellos y de los precedentes.

CEPA	RAZA FISIOLÓGICA	PERFIL PCR	CARIOTIPO ECP
M - 34	<i>cerevisiae</i>	A	A'
M - 42	<i>cerevisiae</i>	A	A'
M - 19	<i>cerevisiae</i>	A	A'
M - 17	<i>cerevisiae</i>	B	B'
M - 12	<i>cerevisiae</i>	B	B'
M - 86	<i>cerevisiae</i>	B	B'
M - 21	<i>cerevisiae</i>	C	C'
M - 06	<i>cerevisiae</i>	C	C'
M - 22	<i>cerevisiae</i>	D	*
M - 03	<i>cerevisiae</i>	D	*
M - 31	<i>cerevisiae</i>	D	*
M - 76	<i>cerevisiae</i>	E	*
M - 18	<i>cerevisiae</i>	E	*
M - 05	<i>cerevisiae</i>	*	*
M - 43	<i>cerevisiae</i>	*	*
M - 20	<i>cerevisiae</i>	*	*
M - 40	<i>cerevisiae</i>	*	*

CONCLUSIONES

Estos resultados muestran que las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* responsables de la fermentación espontánea de vinos Albariños en una bodega del Valle del Salnés presenta una gran heterogeneidad en su estructura genómica. El análisis de cariotipos se revela más discriminante que la PCR para diferenciar las cepas estudiadas.

Conviene destacar que la uva que entra a formar parte de la composición de las cubas estudiadas provienen de un gran número de parcelas pudiendo estar distantes varios kilómetros. Se puede decir que la diversidad de procedencia de la vendimia puede explicar la heterogeneidad de las cepas encontradas.

AGRADECIMIENTOS

Fundación Caixa Galicia
Carlos Bolaño y Manuel J. Reigosa de la Universidad de Vigo
Bodega Agrupación de Cosecheros de Albariño del Salnés

BIBLIOGRAFIA

BELLIS M., PAGES M. et ROZES G., 1987 - A simple and rapid method for preparing yeast chromosomes for pulse field gel electrophoresis, *Nuclear Acids Research*, Vol 15, 6749

DEGRE R. THOMAS D. Y., ASH J., MAILHIOT K., MORIN A. et DUBORD C., - Identification des souches de levures de vin, R.F.OE. n° 125, septembre 1990

DESPAGNE F., 1991 - Ecologie des souches de *Saccharomyces cerevisiae* au cours de la fermentation alcoolique dans des crus du Bordelais rouges et blancs secs et incidence du levurage sur l'écologie des souches de *Saccharomyces cerevisiae*, DEA d'Oenologie Ampélogie, 1991

DUBOURDIEU D. et FREZIER V. - Application de l'électrophorèse en champs pulsés à l'étude de l'écologie des levures en fermentation spontanée, R.F.OE. n° 125 septembre 1990

FREZIER V., DUBOURDIEU D., 1992 - Ecologie of yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* during spontaneous fermentation in a Bordeaux Winery, Am. J. Enol. Vitic.- Vol. 43, n° 4, 1992

FREZIER V., 1992 - Recherche sur l'écologie des souches de *Saccharomyces cerevisiae* au cours de la fermentation alcoolique du vins de Bordeaux. Thèse pour le Doctorat d'OEnologie

MASNEUF I., 1992 - Recherche sur l'identification des souches de *Saccharomyces cerevisiae* par la technique de Reaction de Polymerisation en Chain, DEA d'OEnología - Ampélogie

VEZINHET F., BLONDIN B., HALLET J., 1989 - Chromosomal DNA patterns and mitochondrial DNA polymorphism as tools for identification of oenological strains of *Saccharomyces cerevisiae*, App Microbiol Biotechnol (1990) 32: 568 - 571