

Diversidad de cepas de *Brettanomyces bruxellensis* presentes durante la elaboración y conservación del vino en bodega

INTRODUCCION Y OBJETIVO

Brettanomyces bruxellensis ha sido descrita como la principal levadura contaminante de vinos tintos; produce fenoles volátiles que le confieren al vino características organolépticas negativas causando importantes pérdidas económicas en la industria. Conocer la diversidad de cepas de esta levadura y su incidencia en los vinos de una misma bodega, puede contribuir a revelar el origen y momento de la contaminación, permitiendo el diseño de estrategias de prevención y control más asertivas. **El objetivo del presente trabajo fue evaluar la presencia y diversidad de cepas de *B. bruxellensis* durante la elaboración de 4 vinos en una misma bodega e identificar las etapas críticas en las cuales se produce la contaminación.**

MATERIALES Y METODOS

Se trabajó con 4 viñedos (Merlot, Cabernet Sauvignon y 2 Malbec) que fueron vinificados en una bodega comercial. Se tomaron muestras de mostos y vinos en diferentes etapas durante la vinificación y crianza de los vinos. En uvas el aislamiento de *Brettanomyces* se realizó mediante enriquecimiento selectivo y en vinos por filtración. Las muestras fueron sembradas en medio de cultivo selectivo *Brettanomyces*. Colonias representativas fueron identificadas molecularmente a nivel de especie mediante RFLP-PCR (DB90F-DB394R) y a nivel de cepa mediante RAPD M13 y Coc (Crawels y col. 2014). Las combinaciones de patrones de bandas de cada aislamiento se compararon para definir diferentes patrones o cepas; se analizaron con Dendro UPGMA y el software PyElph para normalizar los perfiles moleculares y construir una matriz de presencia/ausencia. Se estimaron los coeficientes de similitud y se realizó un dendrograma utilizando UPGMA basado en coeficientes de Dice.

RESULTADOS

Se detectó presencia de *Brettanomyces* durante la fermentación en 3 de los 4 viñedos muestreados de la bodega, observándose un marcado aumento en la población de *Brettanomyces* luego de finalizada la fermentación alcohólica y durante la fermentación maloláctica.

En barricas se observó presencia de esta levadura en los 4 viñedos analizados (Figura 1).

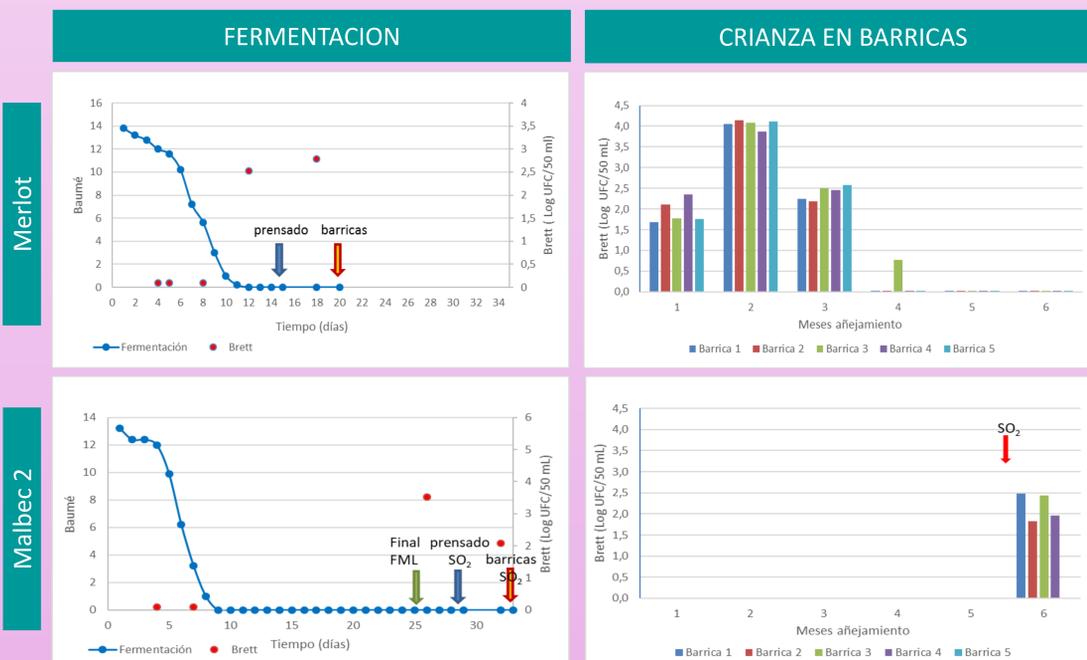


Figura 1: Presencia de *Brettanomyces* durante la fermentación y crianza en barricas para 2 de los viñedos analizados (Merlot y Malbec 2).

Los perfiles moleculares obtenidos mediante RAPD de los diferentes vinos analizados mostraron diversidad de patrones en las distintas etapas durante la vinificación y crianza tanto para el primer M13 como para el primer COC (Figura 2). Sin embargo, con el primer M13 se obtuvieron mayor número de perfiles moleculares para los 4 vinos.

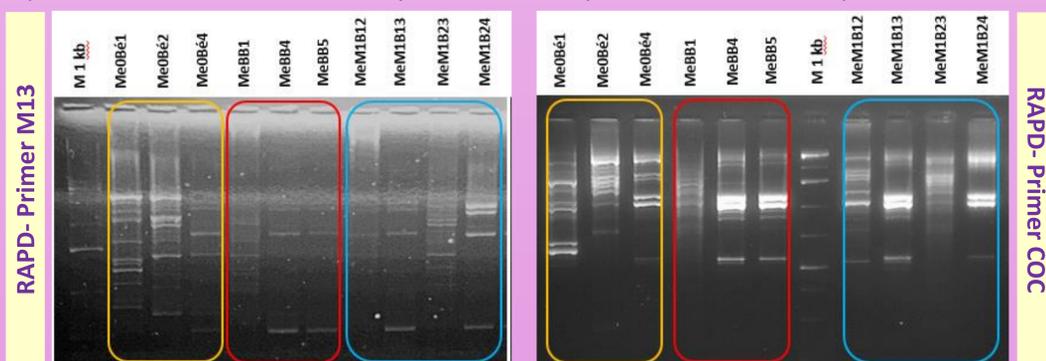


Figura 2: Electroforesis en gel de agarosa luego de la amplificación por PCR mediante RAPD a partir de los aislados de muestras positivas para *Brettanomyces bruxellensis* del vino Merlot. Marcador: M1kb.

Del análisis de todos los perfiles moleculares de *B. bruxellensis*, se puede observar que los patrones encontrados en etapas de fermentación también estuvieron presentes en barricas. Las barricas presentaban más de un patrón molecular y no se encontraron los mismos patrones en todas las barricas. Además, las barricas presentaban patrones no hallados anteriormente. Por otro lado, la mayoría de los patrones se agrupó por vino (Figura 3).

El análisis de los perfiles moleculares también permitió identificar prácticas en bodega que favorecían la diseminación de la contaminación en la etapa de crianza en barricas (Figura 1: vino Malbec 2, mes 6 de crianza en barrica).

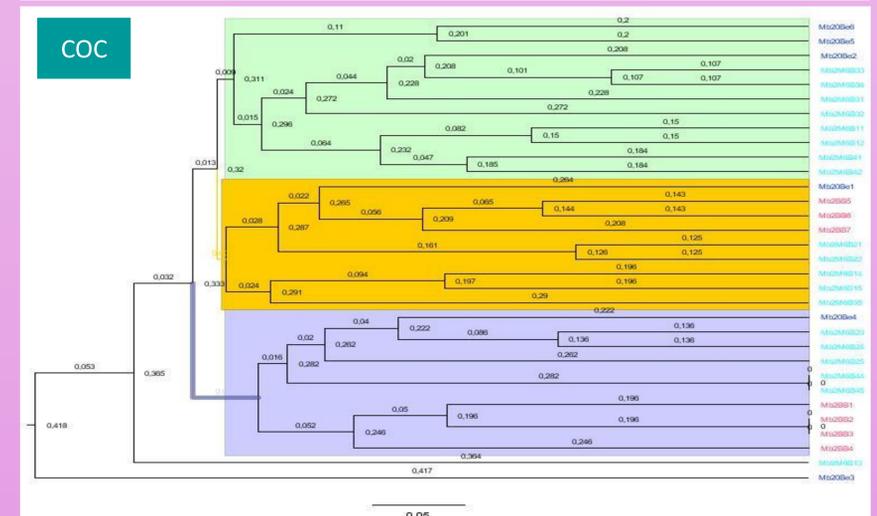
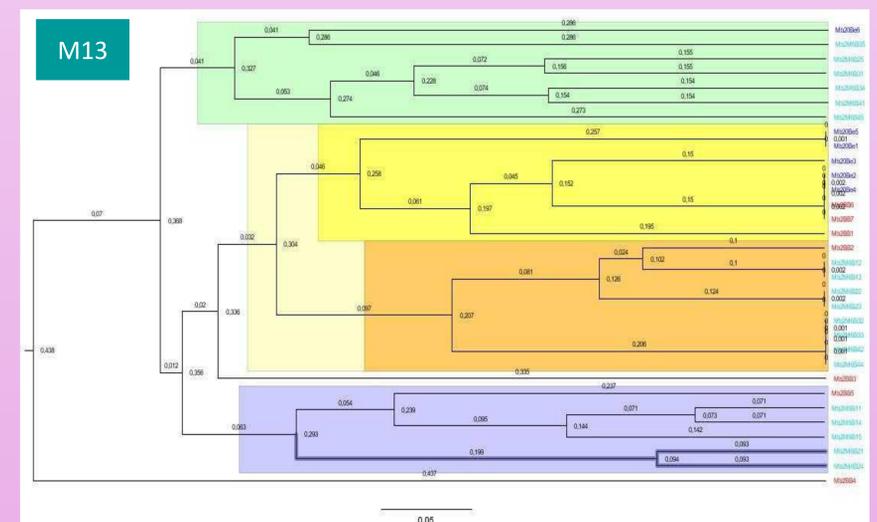


Figura 3: Dendrograma de los patrones moleculares obtenidos a partir de los aislados de *B. bruxellensis* para el vino Malbec 2 usando los primer M13 y COC mediante la técnica de RAPD.

CONCLUSIONES

Se encontraron gran diversidad de patrones moleculares a partir de los aislados de *B. bruxellensis* con ambos primers. Se observó que los perfiles moleculares presentes en etapas de fermentación también estuvieron presentes en barricas. Las barricas presentaban más de un patrón molecular y no se encontraron los mismos patrones en todas las barricas. Se evidenció agrupamiento de los perfiles moleculares para cada vino analizado. El análisis de los perfiles moleculares también permitió identificar prácticas en bodega que favorecían la diseminación de la contaminación en la etapa de crianza en barricas

BIBLIOGRAFIA