



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

STURM ME* (1), CHIMENO V (1), GONZÁLEZ ML (2), LERENA MC (2),
MERCADO LA (1), COMBINA M (1,2)

(1) Laboratorio de Microbiología Enológica, EEA-Mendoza, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), San Martín 3853, Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina.

(2) Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Godoy Cruz 2290, CABA, Buenos Aires, Argentina.

sturm.maria@inta.gob.ar

La levadura *Brettanomyces bruxellensis* ha sido descrita como la principal levadura contaminante de vinos tintos. Esta levadura produce fenoles volátiles que le confieren al vino características organolépticas negativas causando importantes pérdidas económicas en la industria. Debido a su lento crecimiento y elevada resistencia al etanol es principalmente descrita en las últimas etapas de la vinificación y añejamiento en barrica. 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. Cuatro viñedos de uvas tintas (Merlot, Cabernet Sauvignon y 2 Malbec) fueron vinificados en una bodega comercial, donde se tomaron muestras de uvas y mostos/vinos en las diferentes etapas durante la vinificación y crianza de los mismos. El aislamiento de *Brettanomyces* se realizó utilizando dos estrategias simultáneas (enriquecimiento selectivo durante 60 días y siembra por filtración). Las muestras fueron sembradas en medio de cultivo selectivo *Brettanomyces*. Colonias representativas fueron identificadas molecularmente a nivel de especie utilizando RFLP-PCR (DB90F-DB394R) y cepa utilizando dos marcadores moleculares RAPD-M13 y RAPD-Coc. Simultáneamente otros aislados de *Brettanomyces* obtenidos de la misma bodega fueron incluidos para ampliar el análisis de la distribución de las cepas en bodega. 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. Los resultados mostraron que 3 de los 4 vinos analizados fueron positivos para *Brettanomyces* antes del llenado de las barricas, mientras que todos los vinos mostraron presencia de *Brettanomyces* en alguna barrica o etapa durante la crianza. Los dendrogramas obtenidos con ambos marcadores mostraron agrupamientos de perfiles moleculares que sugieren los siguientes resultados. Las poblaciones de *Brettanomyces* en cada muestra estuvieron compuestas por más de una cepa. Para cada vino elaborado, los perfiles moleculares encontrados en los estadios previos al llenado de las barricas fueron nuevamente detectados durante la crianza, acompañados de nuevos perfiles moleculares. Las barricas de cada vino mostraron perfiles coincidentes y éstos fueron,



en general, diferentes entre los vinos analizados. Esto puede asociarse a la práctica que utiliza la bodega denominada “racking y sulfitado” que consiste en mezclar el vino de diferentes barricas en un tanque pulmón para la corrección de SO₂, lo que produce la distribución de las cepas en los vinos de las barricas que fueron mezcladas. Los resultados sugieren que la contaminación con *Brettanomyces* estaría principalmente asociada a la uva que le da origen. Sin embargo, la detección de cepas nuevas durante la crianza también sugiere que existe una contaminación proveniente de la bodega.

Palabras Clave: caracterización molecular, biodiversidad, RAPD, fermentación, crianza.