

# Caracterización de microorganismos vínicos en medio selectivo y diferencial de *Dekkera/Brettanomyces*

Mercè Sunyer-Figueres\*, Daniel Fernández-Vázquez, Mar Gatell-Miracle, Txell Amigó, Jennifer Vázquez, Sergi de Lamo, Imma Andorrà

Fundació Parc Tecnològic del Vi – VITEC. Crtra de Porrera, km. 1, 43730, Falset, Tarragona.

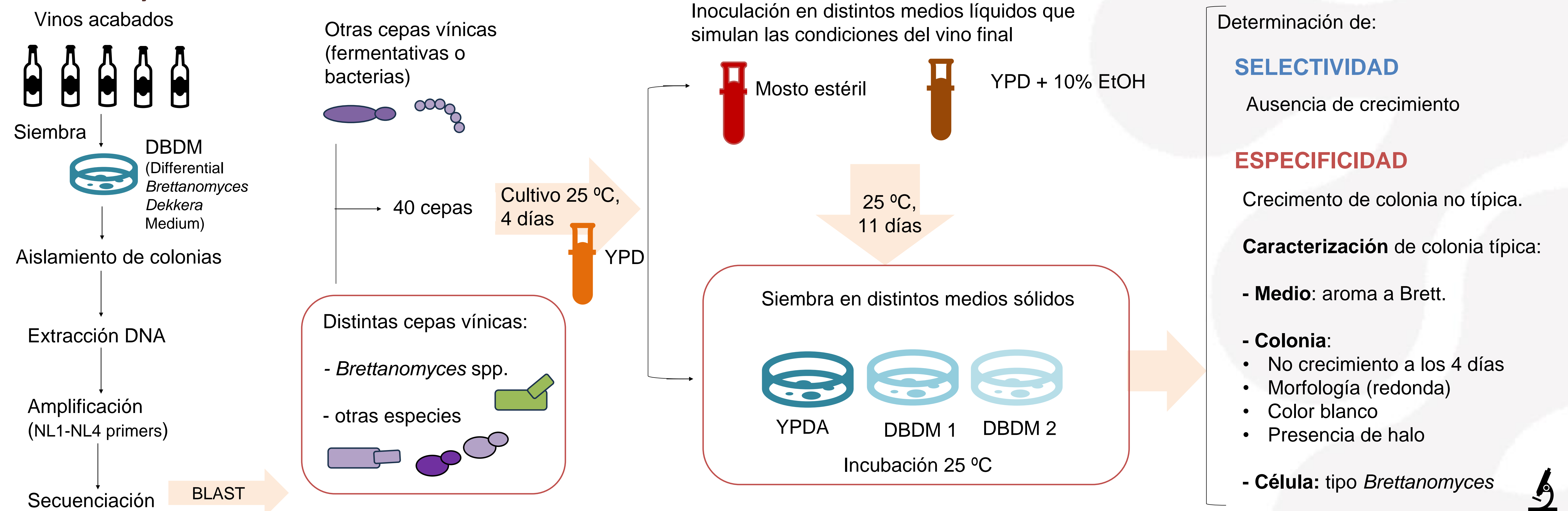
\* e-mail: merce.sunyer@vitec.wine; Tlf. 977 834 509

## Introducción

La presencia de *Brettanomyces/Dekkera* en el vino es uno de los problemas que más preocupan a la industria enológica, por el impacto organoléptico de los fenoles volátiles que produce (4-etilfenol y 4-etilguaiacol); por lo que encontrar técnicas para detectar su presencia en vino es un reto para la microbiología enológica [1]. Aunque se hacen enormes esfuerzos para desarrollar métodos específicos y rápidos (como la detección de DNA o RNA mediante qPCR, el uso de biosensores o la citometría de flujo [2]), actualmente está ampliamente extendido el uso de medios de cultivo, ya que son más económicos, ofrecen el límite de detección más bajo, y cuantifican los *Brettanomyces/Dekkera* cultivables, y por lo tanto, con metabolismo activo. Uno de los retos de su desarrollo es aumentar su selectividad y especificidad para detectar solo levaduras de este género y no otros presentes en el vino que puedan interferir en el recuento [3,4].

El objetivo del presente trabajo es la optimización de un método de recuento de *Brettanomyces/Dekkera* basado en medio de cultivo para aumentar el control durante la elaboración de vino.

## Materiales y Métodos



## Resultados

Se han aislado del vino acabado muchas especies de levaduras, siendo predominante *Brettanomyces bruxellensis* (Fig. 1A), y entre el resto de levaduras los géneros *Trigonopsis* spp., *Lodderomyces* spp., *Candida* spp. y *Saccharomycopsis* spp (Fig. 1B).

Se han caracterizado las colonias y morfologías celulares de *B. bruxellensis* y otras levaduras vínicas crecidas en DBDM; esta caracterización se usa como herramienta para mejorar la discriminación entre *Brettanomyces* y otras especies.

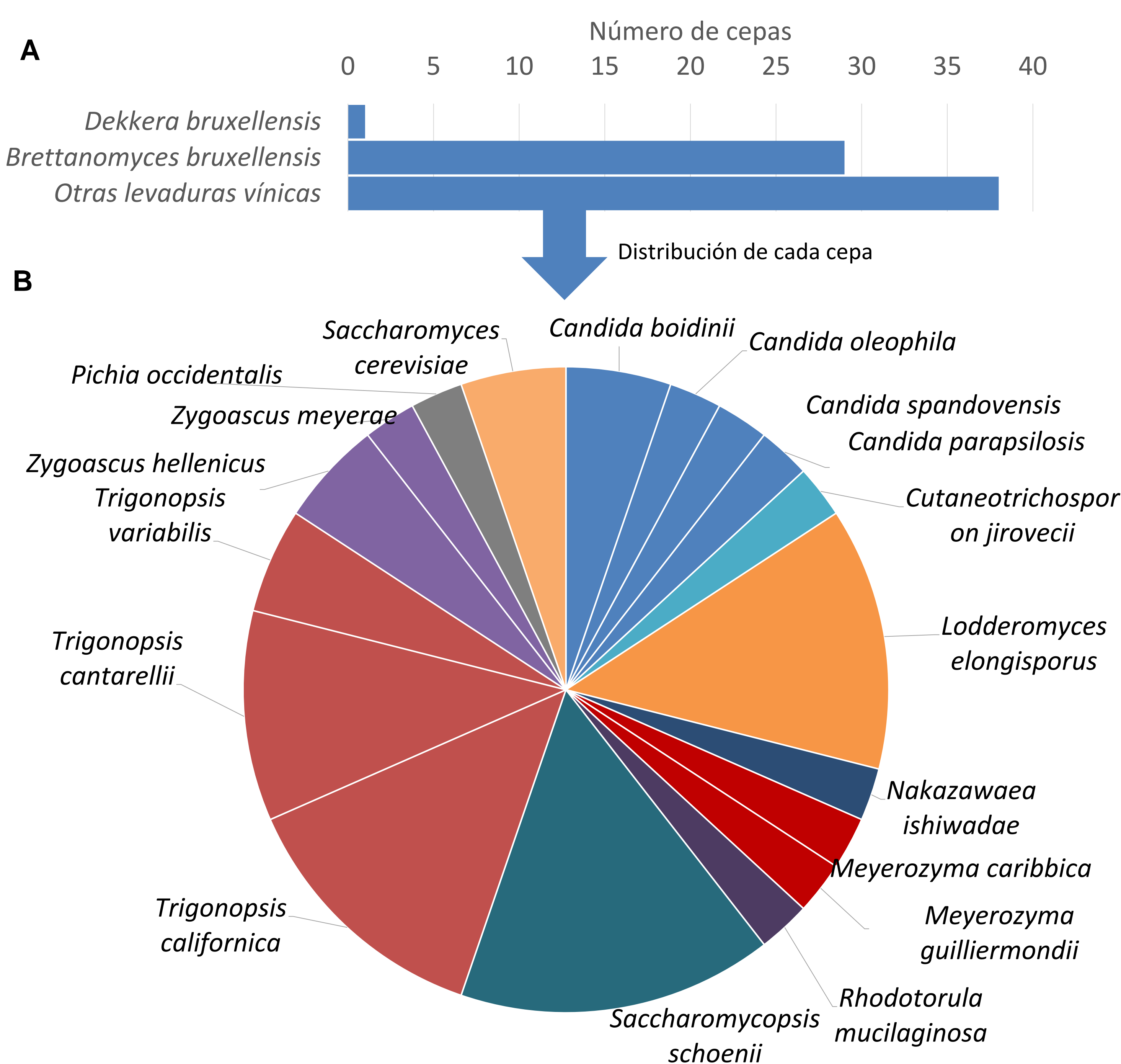


Figura 1. Resultados de la secuenciación. (A) número de cepas de cada tipo (B) Identidad y abundancia (%) de especies de levaduras distintas a *Brettanomyces* spp.

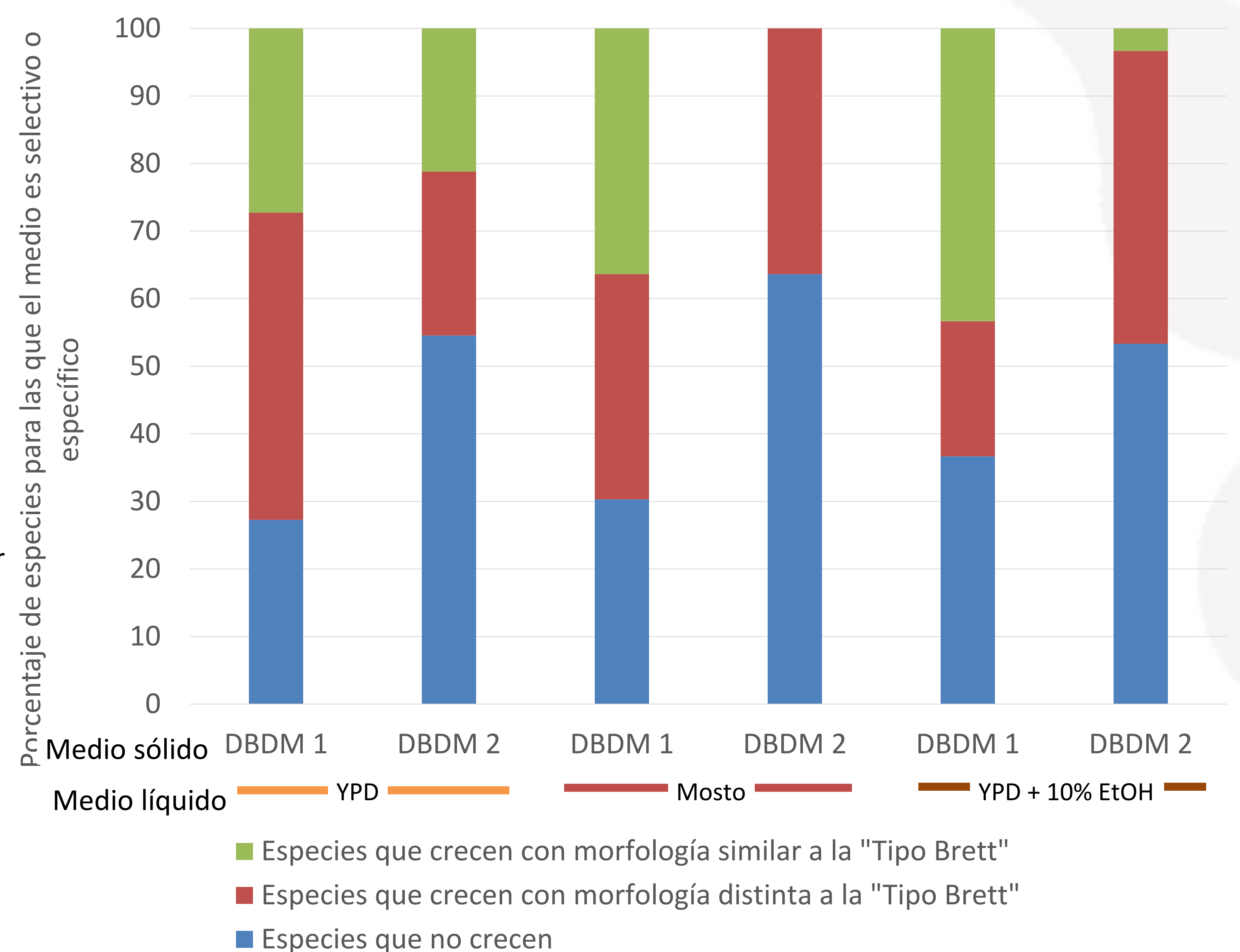


Figura 2. Resultados del estudio de selectividad y exclusividad de las 33 especies de levaduras que no son *Brettanomyces*. Se pueden ver los resultados de las levaduras crecidas en YPD, Mosto y YPD+ 10% Etanol (EtOH) y posteriormente sembrados en los dos tipos de DBDM.

El medio DBDM 2 es más selectivo que el DBDM 1, ya que hay más especies con el crecimiento inhibido. Dentro de este, si comparamos los tres medios líquidos, vemos que es menos específico cuando las células provienen de YPD, ya que hay un mayor porcentaje de especies que crecen con morfología parecida a *Brettanomyces* y por lo tanto que se pueden confundir con esta especie. Así mismo, la condición con más especificidad es sembrar en DBDM 2 especies que provienen de mosto.

## Conclusiones

En este estudio se han optimizado las herramientas para la detección de *Brettanomyces bruxellensis* mediante crecimiento en medio de cultivo. El medio DBDM 2 es el que permite una detección de *Brettanomyces/Dekkera* más específica, y por lo tanto, la que asegura un menor número de falsos positivos y un mejor control durante la elaboración del vino.

## Bibliografía y agradecimientos

- [1] M. Agnolucci, A. Tirelli, L. Coccolin, A. Toffanin. World J Microbiol Biotechnol 33(10) (2017) 180.
- [2] D. De Bellis, A. Di Stefano, P. Simeone, et al. Int J Mol Sci Dec 1;23(23) (2022) 15091.
- [3] A. D. Morneau, J. M. Zuehlke, C.G. Edwards. Lett Appl Microbiol. 53(4) (2011) 460-5.
- [4] N. Rodrigues, G. Gonçalves, S. Pereira-da-Silva, M. Malfeito-Ferreira, V. Loureiro. J. Appl Microbiol. 90(4) (2001) 588-599

Agradecimientos: este estudio ha sido posible gracias a los fondos del Programa Investigo.