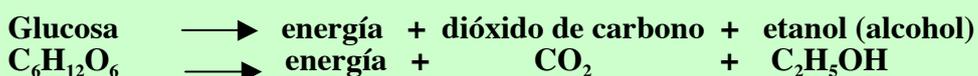


El Cuaderno de Por qué Biotecnología nº 116

La biotecnología enológica

La elaboración del vino está relacionada, históricamente, al proceso de recolección de la uva. Existen evidencias arqueológicas que indican que la producción de vino más antigua proviene de una extensa área fértil entre el Nilo y el Golfo Pérsico entre los años 4.000 y 3.000 A.C. Se cree que los hombres recolectaban la uva para su consumo y que al almacenarla, se formaba esta bebida espirituosa como producto de un proceso que, mucho tiempo después se llamó *fermentación* (Ver Cuadernos N° 7, 22, 53).

El proceso principal por el cual se transforma el mosto de la uva en vino es la fermentación alcohólica, que consiste en la transformación de los azúcares (glucosa y fructosa) contenidos en la uva, en alcohol etílico y dióxido de carbono. Las responsables de esta transformación son las levaduras adheridas al hollejo de la uva las que, al nutrirse de los frutos, favorecen el proceso (ver cuaderno N° 22).

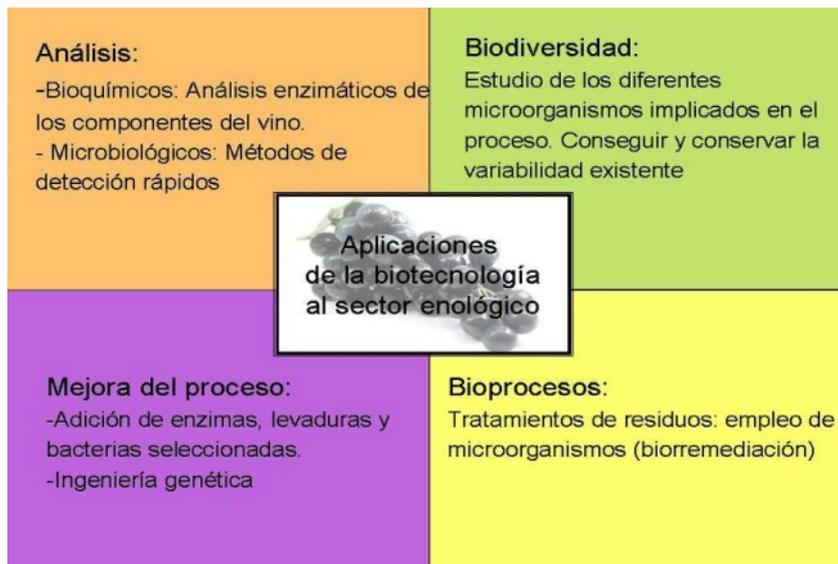


La glucosa, en ausencia de oxígeno, se transforma en dióxido de carbono y etanol (un alcohol). Parte de la energía contenida en la glucosa se libera y puede ser utilizada por las levaduras. El dióxido de carbono y el etanol se eliminan al medio exterior.

Desde los primeros vinos hasta los actuales, la tecnología que se utiliza para su producción ha cambiado debido principalmente a los avances científicos. En los últimos 150 años, el conocimiento empírico está siendo reemplazado por una comprensión más precisa de los procesos que rigen estas transformaciones biotecnológicas. Además, la revolución provocada en los últimos 25 años por el desarrollo de las técnicas de la biología molecular y el ADN recombinante, ha abierto muchas opciones para el control de los procesos biotecnológicos y la mejora de los productos elaborados.

Biotecnología aplicada a la fabricación de vinos

En los últimos años, los avances en el área de la biotecnología aplicados a la fabricación de alimentos, permitieron la utilización de diversas herramientas moleculares en el proceso de fabricación de vinos. Algunas de estas aplicaciones están representadas en la siguiente figura:



Herramientas moleculares aplicadas al proceso de fabricación de vinos.

Ø Análisis bioquímicos y microbiológicos

Las investigaciones de Louis Pasteur realizadas con las levaduras presentes en el vino, sentaron las bases de la actual microbiología enológica (cuaderno N° 22, 100). Estos trabajos demostraron que son estas levaduras las responsables de la transformación del mosto de uva en vino, en el proceso conocido como fermentación alcohólica. Si bien existe una gran diversidad de levaduras que participan en este proceso, la levadura vínica más importante es *Saccharomyces cerevisiae*. Además de su importancia industrial, ésta ha sido utilizada como un modelo de estudio (ver Cuaderno n° 50), siendo el primer organismo eucariota en disponer de toda su secuencia genómica.

Uno de los problemas en la fabricación del vino es que otras especies de levaduras, hongos filamentosos, bacterias y virus están presentes en el hollejo de la uva al momento de la cosecha. Así, durante las primeras fases de la fermentación aparecen en el mosto levaduras de los géneros *Kloeckera*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Kluyveromyces* o *Hansenula*, que puede dar lugar a metabolitos secundarios que modifiquen las propiedades organolépticas del producto final.

A su vez, la calidad y cantidad de levaduras deseadas varía debido a que las condiciones meteorológicas y otros factores pueden cambiar de una campaña a la otra. Una solución a este problema es la adición, al mosto, de un cultivo iniciador de levadura. De esta manera, las levaduras agregadas normalizan la proporción de microorganismos existentes en la fruta, dando lugar a una fermentación homogénea cada año de producción. Las levaduras seleccionadas como iniciadores deben:

- ü Producir fermentaciones vigorosas, reproducibles, predecibles y con baja concentración de azúcar residual.
- ü Poseer una buena tolerancia al etanol, a la temperatura y al anhídrido sulfuroso.
- ü Producir un buen perfil aromático exento de aromas no deseados.

- ü Flocular y sedimentar, para que sea fácil de eliminar una vez acabada su función en la elaboración, principalmente, de vinos espumosos.

Si bien desde 1930 se han utilizado cultivos líquidos de levadura, las levaduras vínicas secas activas se introdujeron a mediados de los años 50 y su uso se extendió recién a finales de la década de los 70. Desde entonces, en varias zonas vitivinícolas del mundo se llevan a cabo fermentaciones utilizando estas levaduras como iniciadores de la fermentación.

Ø **Métodos moleculares de identificación de las levaduras**

Ahora bien, ¿cómo saber si la inoculación es exitosa y la levadura añadida produce la fermentación esperada y transmite al vino las características por las que fue seleccionada? Las técnicas clásicas de identificación mediante el análisis de características morfológicas y fisiológicas de las levaduras, no podían responder a estos interrogantes debido a que no permiten discernir entre las numerosas cepas de la especie *S. cerevisiae* presentes en el mosto o vino. El problema se resolvió con el empleo de los métodos moleculares de identificación (ver cuaderno N° 67, 69). Estas técnicas de biología molecular brindan resultados rápidos, fiables y relativamente económicos. Se basan esencialmente en el análisis directo del ADN de las levaduras, ya que las diferencias entre las propiedades de estos ADN (denominado polimorfismo) hacen posible su distinción.

El problema más complejo de resolver es la identificación de cepas de levadura que taxonómicamente están muy próximas (y por ende poseen secuencias de ADN muy parecidas), pero que poseen aptitudes fermentativas y organolépticas muy diferentes. También se utilizan estas técnicas para el análisis de la estabilidad genética de las cepas de levadura (es decir, detectar si se producen ciertos cambios en el ADN que puedan producir cambios en sus características), un aspecto importante cuando se manejan grandes volúmenes de cultivo, como es el caso de la multiplicación de levaduras seleccionadas en forma levadura seca activa.

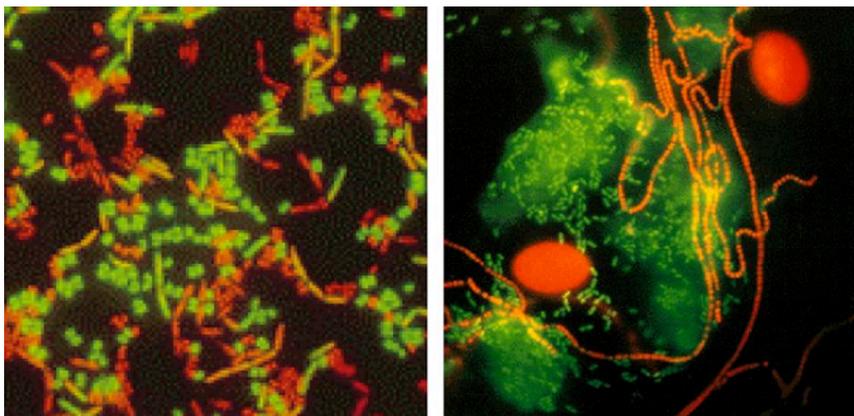
A continuación, se describen las técnicas disponibles que permiten valorar con exactitud la identidad genética de la levadura y su estabilidad genética, que será en definitiva la responsable del resultado final de la transformación del mosto en vino.

Ø **Identificación a nivel de especie**

Estas técnicas se basan en la caracterización e identificación de especies utilizando marcadores moleculares, generalmente de ADN. Entre ellas se encuentran:

Técnica	Principios y usos
Secuenciación de genes ribosomales	Los genes del ADN ribosomal presentan una secuencia bastante conservada (es decir, presentan pocas diferencias a nivel de género y especie) en los organismos eucariotas. Así, los análisis genéticos de éstos son muy útiles para establecer relaciones filogenéticas entre especies relacionadas. La técnica consiste en

	amplificar estas regiones conservadas por PCR, y posteriormente conocer la secuencia de ADN de los fragmentos amplificados.
Análisis de perfiles de restricción (RFLP) de ADN ribosomal	El empleo de enzimas de restricción que cortan selectivamente el ADN (ver cuaderno N° 30, 34), y la posterior separación o resolución de los fragmentos resultantes en geles de agarosa, permite obtener patrones de bandas de diferentes tamaños correspondientes a fragmentos del ADN ribosomales de levaduras de diferentes especies (Cuaderno N° 108).
FISH (del inglés: Fluorescent In Situ Hybridization)	Se basa en la utilización de unas sondas de ADN o ARN (ver cuaderno N° 67) unidos a un fluoróforo (componente de una molécula que hace que ésta sea fluorescente). Cuando la sonda se hibridación encuentra y se une a la secuencia de ADN complementaria, se observan las células marcadas al microscopio de fluorescencia. Es una técnica que permite diferenciar especies dentro de una misma muestra, utilizando sondas específicas para cada especie y diferentes fluoróforos. Permite la detección de levaduras y bacterias alterantes del vino (ver imagen).



Identificación de bacterias lácticas y observación al microscopio de fluorescencia.

Fuente:

http://www.labexcell.com/dynsite/images/stories/publication/pcr_e_identificacion_de_levaduras_07.pdf

Ø Identificación a nivel de cepa

En microbiología y genética, una cepa es una variante genotípica de una especie o de un taxón inferior. Generalmente son propagadas clonalmente, debido al interés en conservar las cualidades que las definen como tal.

Existen técnicas moleculares específicas para diferenciar microorganismos de distintas cepas:

Técnica	Principios y usos
Cariotipo o separación de cromosomas	La separación de los cromosomas (cariotipo) en función de su migración electroforética en geles de agarosa puede ser útil para diferenciar entre distintas cepas de <i>S. cerevisiae</i> , ya que presentan

	una gran variabilidad en número y tamaño de cromosomas, presentando cariotipos diferentes.
Análisis de restricción del ADN mitocondrial	El ADN mitocondrial de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> es una pequeña molécula con variabilidad dentro de la especie, así que puede ser utilizada para diferenciar cepas. Esta técnica también es utilizada para diferenciar cepas de otras levaduras de interés enológico, como por ejemplo <i>Brettanomyces</i> o <i>Zygosaccharomyces</i> .
Microsatélites	Los microsatélites son repeticiones en serie de secuencias cortas de ADN (de 2 a 6 nucleótidos) (Cuaderno N° 108). Estas repeticiones están distribuidas a lo largo del genoma y son altamente variables dentro de una misma especie. Este elevado polimorfismo hace que los microsatélites sean unos buenos marcadores moleculares para la identificación entre o dentro de especies.
Microarreglos de ARN o ADN	Permiten estudiar la expresión de una gran cantidad de genes de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , permitiendo determinar la función celular de dichos genes.
PCR en tiempo real	Es una variante de la PCR convencional (también llamada en tiempo final), que permite cuantificar la cantidad de copias de ADN obtenidas en cada ciclo de amplificación de la PCR. Esto hace que la reacción sea de carácter cuantitativo.

La utilización de este tipo de técnicas se está imponiendo en forma creciente en las bodegas, permitiendo el control microbiológico del proceso de fermentación más rápido y efectivo, sobre todo cuando se utilizan levaduras seleccionadas para producir vinos de características homogéneas año tras año.

Ø Mejora del proceso de producción del vino

A medida que avanza la ciencia y el conocimiento básico sobre los procesos fisiológicos y metabólicos implicados en la fabricación del vino, se pueden mejorar estos procesos, en una forma más eficiente y controlada. Algunas de estas mejoras se están dando por el uso de enzimas y organismos genéticamente modificados en estos procesos:

Empleo de enzimas

Al igual que en otros alimentos (ver cuaderno N°54), los avances en las técnicas de ingeniería genética y de procesos han permitido producir enzimas más puras y en mayor cantidad para ser utilizadas en la fabricación de vinos. Además, mediante ingeniería de proteínas es posible optimizar algunas de las propiedades de las enzimas antes de su producción.

Las enzimas se comenzaron a utilizar en enología en la década del 70 y provienen, mayormente, de cultivos del hongo *Aspergillus niger*.

Existen en los mercados diferentes preparados enzimáticos que se utilizan en enología con diferentes funciones:

- glucanasas: se emplean para mejorar la filtración y clarificación. Esto se debe a que uno de los problemas que se pueden presentar en la fabricación de vinos es la presencia del hongo *Botrytis cinerea* que produce beta-glucanos, un polímero de glucosa que pasa al vino y entorpece su clarificación y filtrado.
- Pectinasas: utilizadas para disminuir la viscosidad al hidrolizar las pectinas y así provocar un aumento de rendimiento en zumo tras el prensado y también favorecer la filtración y clarificación.
- celulasas y hemicelulasas: permiten la degradación de los polisacáridos de las paredes celulares del grano de uva.
- glicosídicos: conjunto de enzimas con actividad glicosídica que aumentan y mejoran los aromas varietales de los vinos. Esto se debe a que los componentes del aroma de las uvas constan de compuestos volátiles libres y conjugados con azúcares. Las actividades glicosídicas, son capaces de romper los enlaces que unen los compuestos del aroma a los azúcares y, por tanto, aumentar la fracción volátil libre con la consiguiente mejora organoléptica.

Con la adición de estos preparados durante la maceración se consigue una ganancia en el rendimiento en zumo tras el prensado, un incremento en las velocidades de clarificación y sedimentación, una mejor extracción del color de los vinos tintos, un aumento del aroma y el sabor, y un mejor envejecimiento debido a incrementos en taninos y proantocianidinas.

En la última década también se están investigando nuevas actividades enzimáticas, como proteasas para conseguir la estabilidad proteica de los vinos, fenol oxidasas para estabilizar el color en vinos blancos, glucosa oxidasa para obtener vinos con bajo contenido en etanol, o las enzimas implicadas en la síntesis de ésteres, compuesto de suma importancia en el aroma frutado de los vinos.

Empleo de organismos genéticamente modificados

La modificación genética en la fabricación del vino se aplica tanto a las levaduras vínicas, como a la vid (esta última en etapa experimental, no comercial).

En la vid, se ha logrado introducir genes exógenos y, en una primera aproximación, se ha investigado la producción de plantas resistentes a ciertas enfermedades víricas y fúngicas. Se espera, en un futuro, poder abordar la

modificación de la composición de fenoles en la uva, para producir vinos envejecidos de calidad, o la mejora genética de las propiedades nutricionales u organolépticas.

Sin embargo, el mayor avance en este sentido se ha obtenido mediante el empleo de levaduras recombinantes en la elaboración del vino. Así, la introducción de uno o varios genes exógenos en la levadura, su posterior inoculación e imposición en el cultivo, permite la expresión de dichas características a lo largo del proceso fermentativo y, por tanto, su efecto en el producto final.

La regulación de la expresión puede llevarse a cabo permitiendo que los genes se “enciendan” o “apaguen” en función de determinadas condiciones fisiológicas o ambientales. Esto permite que los genes se expresen en el momento adecuado del proceso de elaboración.

Existen algunas levaduras recombinantes resultantes de la inserción de genes exógenos provenientes de:

- *Lactobacillus casei*: permite la producción de ácido láctico y se utilizan en vinos que presentan problemas de baja acidez. La levadura transgénica es así capaz de llevar a cabo la fermentación láctica y la alcohólica, con lo que se resuelve este problema.
- *Lactococcus lactis* y *Schizosaccharomyces pombe*: la introducción de dos genes provenientes de estos organismos, permite que la levadura modificada lleve a cabo la fermentación maloláctica (conversión del ácido málico en ácido láctico), la cual produce una disminución de la acidez y una mayor estabilidad microbiológica del vino.
- *Aspergillus niger* y *Candida molischiana*: la levadura se transforma con dos genes exógenos, los cuales codifican para dos enzimas: una arabinofuranosidasa del hongo filamentoso *Aspergillus niger* corta el enlace entre la arabinosa y la glucosa. Así se posibilita la acción de la segunda enzima, una b-glucosidasa aislada de la levadura *Candida molischiana* capaz de cortar el enlace entre la glucosa y el terpeno (ver actividad 2 de Cuaderno N° 54). Así, los terpenos quedan libres, incrementando los aromas varietales.

De igual forma se han producido en levadura vínica, enzimas recombinantes celulasas y hemicelulasas, y se han logrado resultados comparables a los obtenidos tras la adición convencional de los preparados comerciales durante la vinificación. Actualmente se está investigando sobre los genes que regulan la floculación de las levaduras, la construcción de levaduras recombinantes incapaces de producir urea o la modificación de las características metabólicas para optimizar las tasas de fermentación y la producción de metabolitos de interés.

En la medida en que avance la ciencia y el conocimiento básico sobre la fisiología y el engranaje metabólico de los organismos que se quieren modificar, se podrán abordar la mejora genética de estos organismos, con el consiguiente mejoramiento en los procesos de producción del vino.

CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS

El tema que aborda este Cuaderno permite vincularse con diferentes temáticas que aborda la biología en la escuela. Más allá de los temas propios de la biología molecular y de las técnicas de análisis de ADN que se explican, así como de los microorganismos transgénicos que vendrían a mejorar la producción del vino y sus características, a continuación se sugieren otras temáticas relacionadas que es interesante trabajar en el aula.

- En primer lugar, como ya se ha trabajado en otros Cuadernos del Programa Por Qué Biotecnología, queda claro que el proceso de fabricación del vino, se enmarca dentro de lo que se conoce como **biotecnología tradicional**. La biotecnología comprende una amplia variedad de técnicas que utilizan sistemas biológicos, organismos vivos o sus componentes, para la obtención de productos y servicios para usos específicos. En su sentido más amplio, la biotecnología es aplicada por el hombre hace ya miles de años en la obtención de alimentos. El pan, la cerveza, el queso y el vino, resultantes de procesos de fermentación por la acción de bacterias y hongos, eran parte esencial de la dieta en las civilizaciones ancestrales como lo son actualmente. Sin embargo, en aquella época no se conocía acerca de los microorganismos ni de los procesos metabólicos que realizan. No fue sino hasta la segunda mitad del siglo XIX cuando Luis Pasteur demuestra que estos procesos son consecuencia de la actividad microbiana. Entonces, se incluye a los procesos de fermentación dentro de la biotecnología tradicional.

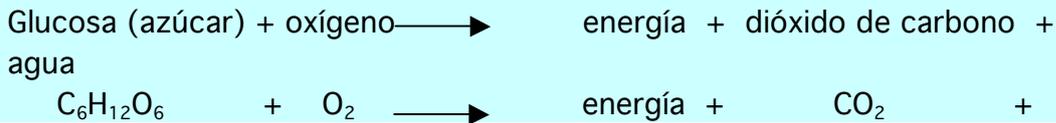
- En relación con el descubrimiento de la fermentación y de las enzimas, conocidas en sus comienzos como “fermentos”, este Cuaderno permite abordar el proceso de la **respiración celular *aerobia*** (en presencia de oxígeno) y la **respiración *anaerobia* o fermentación**, en ausencia de oxígeno. Incluso se puede profundizar en las diferencias entre estos procesos y relacionarlos con el proceso evolutivo.

Los seres vivos capaces de vivir en un medio con poco, o nada, de oxígeno gaseoso se llaman anaerobios. Estos seres, como el resto, realizan múltiples funciones para lo cual necesitan energía. La obtención de energía, en estos casos, no se realiza por medio de la respiración celular, sino por un proceso conocido como fermentación. Existen diferentes tipos de fermentación. En este Cuaderno se hace referencia a la fermentación alcohólica. La **fermentación** como proceso de obtención de energía resulta menos “ventajosa” que la respiración celular. De hecho, aunque se cree que los primeros seres vivos que habitaron la Tierra eran anaerobios, se sabe que la mayoría de los organismos que existen en la actualidad, incluidos los seres humanos, son aerobios, es decir que utilizan el oxígeno para la obtención de energía. Desde el punto de vista de la teoría de la evolución, este hecho permitiría suponer que la respiración celular representa una “ventaja” frente a la fermentación. Por eso, a lo largo de millones de años, los organismos capaces de aprovechar el oxígeno gaseoso prosperaron, se reprodujeron y dejaron descendientes, que también obtienen energía mediante la respiración celular. La fermentación, sin embargo, no debe haber sido una característica ventajosa, en comparación con la respiración

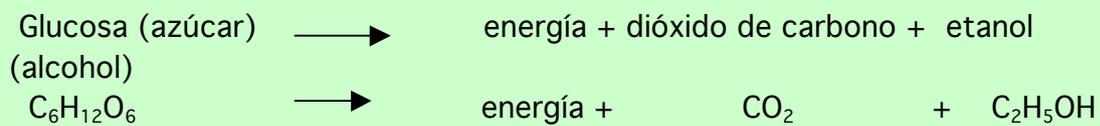
celular, ya que los organismos anaerobios representan una minoría entre los seres vivos.

Para comprender cuál podría ser el motivo por el cual la respiración celular prosperó entre los seres vivos, en comparación con la fermentación, se sugiere analizar con los alumnos las ecuaciones de respiración celular y de fermentación:

RESPIRACIÓN CELULAR



FERMENTACIÓN



Es interesante analizar con los alumnos en ambos procesos,

- ü cuáles son los productos que se obtienen en ambos casos,
- ü cuál de las sustancias que se obtienen es más compleja, y
- ü de dónde proviene la energía que se obtiene en ambos procesos.

Cuando una sustancia se transforma en unidades más pequeñas, se rompen uniones entre sus átomos, y la energía contenida en ellas se libera. Cuantas más uniones se rompen, más energía se libera, y más sencillas son las unidades que se obtienen. Si se comparan los productos que se obtienen en la fermentación y en la respiración celular, es posible notar que el etanol es una sustancia más compleja que el agua y que el dióxido de carbono. El etanol contiene aún una cantidad de energía entre las uniones de los átomos que forman sus moléculas, que podría liberarse si se transformara totalmente hasta dar sustancias más sencillas. En cambio, los productos de la respiración celular son el dióxido de carbono y el agua, las unidades más simples que pueden obtenerse en este tipo de transformación.

Por lo tanto, durante la respiración celular se libera el máximo de la energía posible, a diferencia de lo que ocurre en la fermentación donde parte de la energía queda “retenida” en el etanol. Es por este motivo que la respiración celular resulta más eficiente que la fermentación: permite obtener más energía a partir de la misma sustancia nutritiva. Entonces, los organismos capaces de aprovechar el oxígeno gaseoso en la respiración, estaban en mejores condiciones que los anaerobios, y se reprodujeron más. Los organismos anaerobios, de todas formas, no desaparecieron totalmente. Algunos lograron sobrevivir. La prueba es que en la actualidad existen “parientes” de aquellos primeros anaerobios.

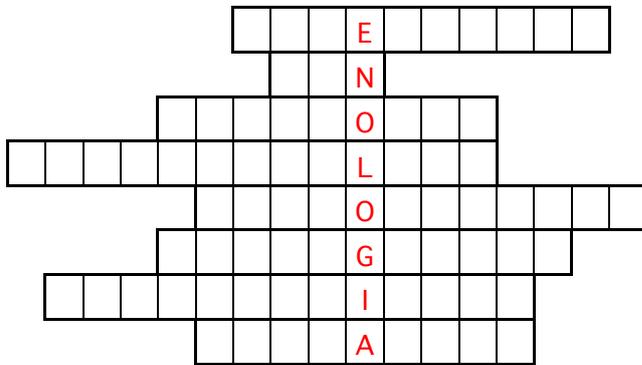
- Por último, otro concepto importante que se puede desprender de este Cuaderno es la denominación y *nomenclatura binomial* (creada por el botánico

Carl Linneo) que permite clasificar, nombrar y reconocer de manera universal a diferentes tipos de seres vivos, incluso muy parecidos entre ellos. Es interesante analizar los diferentes nombres de cepas de levaduras y otros microorganismos que se mencionan, y establecer relaciones de parentesco.

ACTIVIDADES

Actividad N° 1. Crucigrama: la nueva enología

Se propone la revisión de conceptos abordados en la sección teórica, mediante el desarrollo de crucigrama, teniendo en cuenta los conceptos que se indican a continuación



- Nombre de la especie de levadura vínica más importante en la fermentación del vino.
- Molécula que se estudia para identificar diferencias entre especies o cepas
- Tipo de ADN, que al ser muy conservado, se utiliza para identificar especies de levaduras
- Tipo de marcador molecular que, al ser muy variable se puede utilizar para identificar diferentes cepas de una misma especie de bacteria
- Conjunto de enzimas cuya actividad aumentan y mejoran los aromas varietales de los vinos
- Género correspondiente al hongo de donde se extraen la mayor parte de las enzimas utilizadas en la industria vitivinícola
- Género de la bacteria de la cual se extrae el gen que, al introducirlo en la nueva levadura recombinante, le permitirá la producción de ácido láctico que se utiliza en vinos que presentan problemas de baja acidez
- Enzima que se agrega al mosto para mejorar la filtración y clarificación

Respuestas:

- cerevisiae*
- ADN
- ribosomal
- microsatélite
- glucosídicos
- Asperillus*
- Lactobacillus*
- glucanasa

Actividad N° 2. Análisis de textos

Se propone analizar una entrevista referida al tema, a partir de la lectura del texto y la respuesta a preguntas. Sería interesante si los alumnos pudieran entrevistar ellos mismos a productores de vino, confeccionar las preguntas, realizar la entrevista, y transcribirla.

La biotecnología produce levaduras óptimas para mejorar la calidad del vino

Publicado el 27/08/2009 en la sección "Novedades en el mundo" de www.argenbio.org

La profesora Emilia Matallana, directora del grupo de Biotecnología de Levaduras Vínicas de la Universidad de Valencia, explica la importancia del uso y mejoramiento de levaduras comerciales para agilizar la fermentación de los vinos.

-Ante una copa de buen vino, a menudo olvidamos el papel que las levaduras...

-Es cierto, como consumidores todos somos conscientes de la importancia de las características de la uva para la calidad del vino sin embargo, muchas veces, olvidamos que sin las levaduras no habría vino porque ellas son las responsables de la fermentación alcohólica, proceso metabólico que transforma los azúcares del mosto en etanol.

-¿Qué es *Saccharomyces cerevisiae*?

-Es la especie de levadura responsable principal de la fermentación vínica. Las levaduras son microorganismos naturales presentes en multitud de ambientes y esta especie concreta, que también se conoce como levadura de panadería, ha sido utilizada por el hombre desde la más remota antigüedad para la elaboración de distintos alimentos, como el pan, la cerveza y el vino.

- La industria enológica ha renunciado a la fermentación espontánea de los vinos. ¿Por qué?

*- Tradicionalmente, los vinos se obtenían por fermentación de los mostos producida gracias a la presencia natural de levaduras en las uvas y en las bodegas. Estos procesos de fermentación espontánea eran llevados a cabo por levaduras naturales de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, que se encontraban presentes en el mosto de manera aleatoria y poco reproducible, lo que ocasionaba con frecuencia fermentaciones incompletas y vinos de calidad poco reproducible. Desde hace algo más de 20 años se ha avanzado mucho en el aislamiento, caracterización y comercialización de cepas de levaduras vínicas naturales de distintas zonas enológicas que los bodegueros pueden comprar y añadir al mosto de manera controlada. Esta adición de una levadura comercial disminuye el riesgo de paradas de fermentación, produce una mayor estabilidad microbiológica durante el proceso y garantiza una fermentación más eficiente.*

- ¿Qué beneficios aportan las levaduras comerciales?

- Además de las ventajas para el bodeguero ya comentadas, el uso de levaduras comerciales aporta una mayor continuidad en la calidad de los vinos obtenidos puesto que, al crecer en el mosto, la levadura no solo transforma los azúcares procedentes de la uva en etanol sino que también aporta otros productos de su propio metabolismo. Entre ellos cabe mencionar el glicerol, responsable del cuerpo de los vinos, o multitud de compuestos aromáticos, todos ellos importantes para la calidad del producto final. El uso de levaduras comerciales seleccionadas por su adecuación para la producción de vinos concretos permite obtener vinos de la calidad deseada de una forma mucho más reproducible cosecha tras cosecha.

- ¿Y en cuanto a las vinificaciones en frío?

- La vinificación en frío ha entrado a formar parte de la práctica enológica actual en muchas bodegas innovadoras ya que los vinos obtenidos a baja temperatura presentan perfiles aromáticos muy apreciados. Sin embargo, desde el punto de vista de la fermentación alcohólica que han de desarrollar las levaduras, la baja temperatura es una condición adversa. Por ello, sería muy interesante identificar, aislar y caracterizar levaduras naturales que fermenten bien en frío, y producirlas comercialmente para la fermentación en estas condiciones.

- Las levaduras del vino se enfrentan a condiciones adversas durante las diferentes fases de su uso industrial. ¿Qué mecanismos utilizan para adaptarse?

- Ya se ha mencionado el caso de las fermentaciones en frío, un buen ejemplo de fermentación en condiciones adversas para las levaduras. Sin embargo no es el único puesto que las levaduras sufren multitud de estreses tanto durante su producción a escala comercial como durante su uso en la bodega. Entre ellos cabe destacar la toxicidad ocasionada por el etanol a medida que el mosto va siendo transformado en vino, la ausencia de ciertos nutrientes durante la producción de levaduras y la vinificación, etc. Como todos los organismos vivos, las levaduras disponen de mecanismos genéticos y bioquímicos para adaptarse a condiciones adversas y sobrevivir, mecanismos que empezamos a conocer y que pueden contribuir al diseño de estrategias para la mejora de la eficiencia de este microorganismo en la industria del vino.

- ¿En qué consiste su trabajo de manipulación genética de «Saccharomyces»?

- En base al conocimiento de los mecanismos de adaptación a estrés de las levaduras vínicas y a la identificación de los genes implicados en ellos es posible diseñar estrategias de manipulación genética para conseguir una mejor respuesta a las condiciones que comprometen la eficiencia de las levaduras. En particular, estamos interesados en mejorar la respuesta a estrés oxidativo manipulando genes que hacen aumentar la presencia de agentes de resistencia a este tipo de condición adversa que es típica de distintas fases del uso industrial de las levaduras vínicas.

- Apuestan por las levaduras autóctonas...

- Por supuesto, la caracterización de distintas levaduras vínicas, tanto comerciales como no, en lo que a resistencia a estrés se refiere, permite además establecer criterios para identificar y escoger levaduras de una denominación de origen concreta que presenten una óptima adecuación tecnológica tanto para su producción comercial como para la elaboración del vino.

-Encontrar la levadura más adecuada también es beneficioso para las denominaciones de origen ¿Por qué razón?

-La selección de levaduras propias de cada denominación de origen en base a su eficiencia tecnológica haría que las bodegas puedan utilizarlas para llevar a cabo fermentaciones con mayor estabilidad microbiológica y, por tanto más seguras, sin renunciar al uso de levaduras autóctonas que contribuyen a garantizar la continuidad de las propiedades y la calidad típicas de cada vino.

Guía de preguntas para analizar el artículo:

1. ¿Quién es la persona entrevistada y a que grupo de investigación pertenece?
2. ¿Cuál es el tema de investigación que realiza este grupo de trabajo?
3. Según la especialista, ¿cuál era la desventaja de producir vinos mediante fermentación espontánea, es decir con los microorganismos presentes naturalmente en las uvas?
4. ¿Cómo se puede solucionar este problema?
5. ¿Qué tipo de estrés sufren las levaduras durante el proceso de fermentación?
6. ¿Qué aporta el conocimiento de los mecanismos de adaptación a estrés de las levaduras vínicas a los nuevos desarrollos biotecnológicos?
7. En el artículo se menciona la necesidad de analizar e identificar variedades de levaduras autóctonas. Teniendo en cuenta lo descrito en la sección teórica, ¿Qué herramientas moleculares utilizaría para tal fin?

Respuestas:

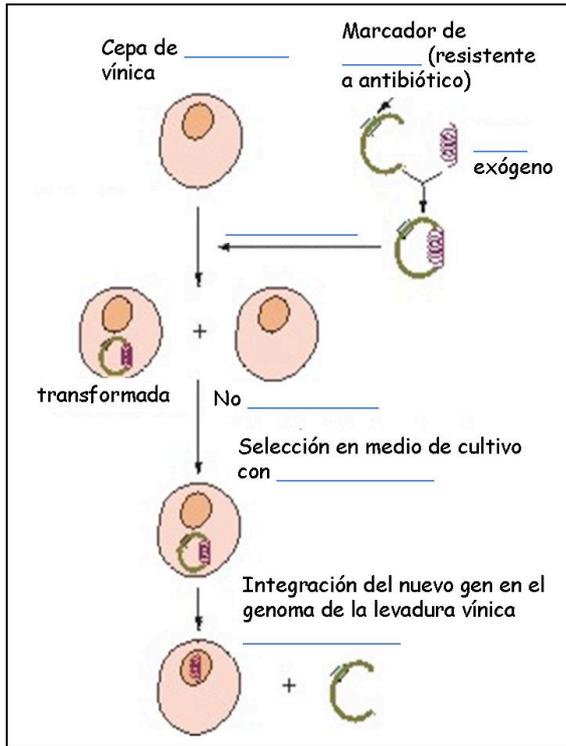
- 1) La investigadora entrevistada es la profesora Emilia Matallana, directora del grupo de Biotecnología de Levaduras Vínicas de la Universidad de Valencia, España.
- 2) El grupo se especializa en enología, específicamente se dedican al estudio de las levaduras productoras del vino
- 3) El problema que presenta la fermentación espontánea mediante las levaduras naturales de la especie *Saccharomyces cerevisiae* presentes en el mosto es que dicho proceso se torna poco reproducible y aleatorio. Esto provocaba que las fermentaciones puedan llegar a ser incompletas y los vinos logrados sean de calidad variable en los diferentes años.
- 4) Para obtener vinos de calidad constante, se comenzaron a utilizar levaduras controladas que se pueden adquirir en forma comercial y agregar de manera controlada al mosto.
- 5) Son diversos los estreses que sufren las levaduras durante el proceso de producción del vino: la toxicidad ocasionada por el etanol que ellas mismas producen al transformar el mosto en vino, la ausencia de ciertos nutrientes a medida que avanza el proceso de fermentación, y en los procesos de vinificación en frío, la tolerancia a las bajas temperaturas.
- 6) El conocimiento de los mecanismos genéticos y bioquímicos que poseen las levaduras para adaptarse a condiciones adversas, puede contribuir al mejoramiento de estos microorganismos utilizados en la industria del vino. Este grupo de investigación, por ejemplo, está interesado en mejorar la respuesta a estrés oxidativo (presente en distintas fases del uso industrial de las levaduras vnicas) manipulando genes que permitirán a las levaduras recombinantes resistir a este tipo de condición adversa.
- 7) Para distinguir entre distintas especies de levaduras se pueden hacer estudios de secuenciación de genes ribosomales o emplear marcadores moleculares tipo RFLP. Para identificar cepas de una misma especie se pueden utilizar marcadores moleculares microsátélites, estudio de los cariotipos o microarreglos de ADN, entre otros.

Actividad N°3: Levaduras vnicas recombinantes

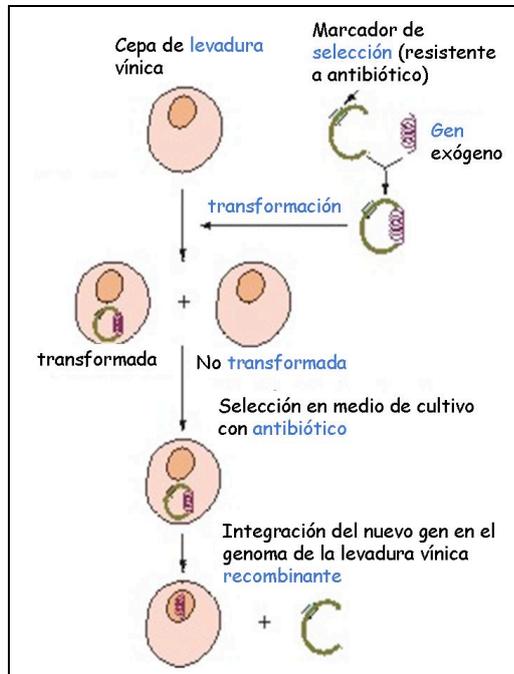
Se propone observar el siguiente esquema, completando con los términos que se dan a continuación. Finalmente, los alumnos podrán escribir un párrafo que explique el proceso aquí representado, dando ejemplos de algunos genes candidatos para transformar a las cepas de levaduras.

Términos: SELECCIÓN, TRANSFORMADA, RECOMBINANTE, ANTIBIÓTICO, TRANSFORMACIÓN, LEVADURA

Esquema de mejora genética de levaduras vnicas mediante el uso de técnicas de DNA recombinante. Fuente: http://www.acenologia.com/ciencia52_2.htm



RESPUESTA



MATERIAL DE CONSULTA

- La nueva biotecnología enológica. Autor: José Vicente Gil Ponce. El artículo está publicado en la sección Biblioteca del sitio ArgenBio de www.argenbio.org
- Las eficaces técnicas moleculares de identificación y cuantificación de las levaduras enológicas.
http://www.labexcell.com/dynsite/images/stories/publication/pcr_e_identificacion_de_levaduras_07.pdf
- Modificación genética de levaduras vínicas
http://www.acenologia.com/ciencia52_2.htm
- Los microbios al servicio del hombre. La Ciencia para todos. Instituto Latinoamericano de la Comunicación Educativa. México. <http://omega.ilce.edu.mx>
- Vinos al Mundo. Noticias de Argentina y del mundo sobre vinos.
http://www.vinosalmundo.com/ver_articulo.asp?id=106
- Fermentación alcohólica. Práctica de laboratorio. Sitio español de prácticas y pasatiempos en temas de biología, bioquímica, y citología.
http://www.juntadeandalucia.es/averroes/recursos_informaticos/concurso2001/accesit_4/fermentacion.html