

Grupo de Biotecnología Enológica de la Universitat Rovira i Virgili

Albert Mas, Cristina Reguant, M. Jesús Torija, Gemma Beltrán, Braulio Esteve-Zarzoso, Isabel Araque, M. Carmen Portillo, Joaquín Bautista, Albert Bordons



Dpto. de Bioquímica y Biotecnología, Facultat de Enologia, Universitat Rovira i Virgili (URV), Tarragona



Miembros del grupo de Biotecnología Enológica URV, marzo 2016.



BREVE HISTORIAL DEL GRUPO

El grupo de investigación Biotecnología Enológica (BE) de la URV se creó en 1995, y fue reconocido por la Generalitat como un grupo de investigación consolidado (2005, 2009, 2014). La especialidad del grupo BE, desde sus inicios y a la que debe su nombre, es el estudio de los microorganismos implicados en la vinificación, o sea, **levaduras y bacterias lácticas** (como se refleja en el logo del grupo), que llevan a cabo respectivamente las fermentaciones alcohólica y maloláctica.

El grupo ha trabajado en la **identificación de especies y cepas** de estos microorganismos mediante técnicas rápidas y fiables de biología molecular, que han servido para realizar estudios ecológicos e identificar cepas con potencial enológico¹⁻³. Cabe destacar el proyecto europeo *Multi-strain indigenous yeast and bacterial starters for 'Wild-ferment' wine production* en el que se han estudiado en profundidad cepas autóctonas de uvas y vinos del Priorat, y se han seleccionado algunas cepas

prometedoras⁴. En este proyecto también se ha estudiado la biodiversidad mediante técnicas de secuenciación masiva^{5,6} y las interrelaciones entre *Saccharomyces* y las otras especies de levaduras⁷.

En el grupo también se han estudiado aspectos básicos del metabolismo de levaduras y bacterias lácticas, de sus requerimientos y de los **mecanismos bioquímicos y moleculares de su adaptación** al entorno vino, que es cambiante y hostil, con la finalidad de mejorar la eficiencia fermentativa. Las técnicas utilizadas incluyen cada vez más las de biología de sistemas, sobre todo transcriptómica y proteómica^{8,9}.

El metabolismo nitrogenado de *S. cerevisiae* ha sido uno de los aspectos más estudiados en la trayectoria del grupo¹⁰. Entre otros, se han identificado los mecanismos moleculares implicados en el impacto de la fuente de nitrógeno sobre el perfil aromático de los vinos¹¹ y el metabolismo secundario de los aminoácidos aromáticos, con especial interés sobre la producción de metabolitos bioactivos¹².

En el caso de *Oenococcus oeni*, la principal bacteria láctica implicada en la fermentación maloláctica (FML), el grupo ha destacado en el conocimiento de los mecanismos moleculares de adaptación a las condiciones estresantes del vino¹³ y especialmente la relevancia de los sistemas redox de glutatión y tiorredoxina para dicha adaptación^{14,15}.

ADEMÁS DEL VINO...

Aparte de los microorganismos mencionados, el grupo BE también ha estudiado los microorganismos de otros productos alimenticios. Entre ellos cabe destacar la investigación realizada (1999-2015) en **bacterias acéticas**, que por un lado son perjudiciales para el vino, ya que contribuyen al aumento de la acidez volátil, pero por el lado positivo son responsables de su transformación en vinagre. El grupo ha sido reconocido internacionalmente por el desarrollo de técnicas rápidas para el análisis de estas bacterias y por su contribución a su clasificación^{16,17}. También

se ha trabajado en el desarrollo de bebidas a partir de fresas y otras frutas en las que han intervenido bacterias acéticas¹⁸.

Otro producto alimenticio estudiado ha sido la **aceituna arbequina** de mesa. El grupo ha sido pionero internacionalmente en el conocimiento sobre todo de las bacterias lácticas implicadas en el proceso de fermentación para la obtención de esta aceituna¹⁹.

RESUMEN DEL CURRÍCULUM DEL GRUPO BE

Todos estos estudios, gracias a múltiples contratos con empresas y proyectos competitivos, han dado lugar a unos 140 artículos en revistas indexadas ISI, además de numerosos capítulos de libros y comunicaciones a congresos. También se han depositado 20 cepas de levaduras, bacterias lácticas y acéticas en la CECT a efectos de patente, y algunas *S. cerevisiae* están siendo explotadas comercialmente. Todo ello se ha complementado con una actividad formativa reflejada en 27 tesis doctorales desde 2001 (algunas de ellas codirigidas con profesores de grupos extranjeros), aparte de numerosas tesis de máster y de grado. A lo largo de su trayectoria, los miembros del grupo BE han establecido acuerdos con otros grupos de España, Francia, Italia, Grecia, Suiza, Túnez, Uruguay, Chile y Argentina, para realizar proyectos coordinados, acciones integradas y participar en redes científicas.

ACTUALES LÍNEAS DEL GRUPO BE (PROYECTOS DE CONCESIÓN RECIENTE):

Efecto de los no-*Saccharomyces* sobre la fermentación maloláctica

Últimamente hay un creciente interés por el uso de levaduras no-*Saccharomyces* (como *Torulaspota delbrueckii* o *Hanseniaspora uvarum*) para la mejora organoléptica de los vinos, inoculándolas previamente a *S. cerevisiae*. Por ello en el proyecto AGL2015-70378-R (MINECO-FEDER) se pretende estudiar el efecto de estas no-*Saccharomyces* sobre la FML y los mecanismos moleculares de adaptación al vino de *O. oeni*. Los resultados obtenidos podrán ser aplicados para seleccionar combinaciones levadura-bacteria más beneficiosas para la FML.

Compuestos indólicos como melatonina en levaduras alimentarias

Una vez finalizado el proyecto sobre la producción de compuestos bioactivos derivados de aminoácidos aromáticos durante la fermentación alcohólica (AGL2013-47300-C3-1-R), se continúa con el análisis de los compuestos indólicos en levaduras de interés alimentario (AGL2016-77505-C3-3-R, MINECO-FEDER). En éste se estudiarán los procesos fisiológicos y metabólicos que llevan a las levaduras a producir estos compuestos (melatonina, serotonina, etc.) con gran potencial bioactivo. El objetivo final del proyecto es poder aumentar el contenido de estas moléculas en bebidas y alimentos fermentados.

Control microbiológico del vino de crianza mediante secuenciación masiva

La relación directa entre especies microbianas alterantes y las alteraciones específicas del vino se ha cuestionado frecuentemente ya que el deterioro del vino se puede producir con poblaciones muy bajas de las especies alterantes, e incluso en su ausencia. Para estudiar este problema se ha obtenido un proyecto Retos del Plan Nacional (modalidad Jóvenes Investigadores) donde se utilizarán técnicas de secuenciación de nueva generación como la metagenómica y la metatranscriptómica para el análisis detallado de las comunidades microbianas en vinos de crianza normales y deteriorados. Las diferencias entre estas comunidades permitirán conocer si la alteración se debe a un solo tipo de microorganismo o a una estructura poblacional diversa.

REFERENCIAS

- Andorrà, I., Landi, S., Mas, A., Guillamón, J.M., Esteve-Zarzoso, B. (2008) Effect of oenological practices on microbial populations using culture-independent techniques. *Food Microbiol* 25, 849-856
- Reguant, C., Bordons, A. (2003) Typification of *Oenococcus oeni* strains by multiplex RAPD-PCR and study of population dynamics during malolactic fermentation. *J Appl Microbiol* 95, 344-353
- Wang, C., García-Fernández, D., Mas, A., Esteve-Zarzoso, B. (2015) Fungal diversity in grape must and wine fermentation assessed by massive sequencing, quantitative PCR and DGGE. *Front Microbiol* 6, 1156
- Padilla, B., García-Fernández, D., González, B., Izidoro, I., Esteve-Zarzoso, B., Beltran, G., Mas, A. (2016) Yeast biodiversity from DOQ Priorat uninoculated fermentations. *Front Microbiol* 7, 930
- Portillo, M.C., Franquès, J., Araque, I., Reguant, C., Bordons, A. (2016) Bacterial diversity of Grenache and Carignan grape surface from different vineyards at Priorat wine region (Catalonia, Spain). *Int J Food Microbiol* 219, 56-63
- Portillo, M.D.C., Mas, A. (2016) Analysis of microbial diversity and dynamics during wine fermentation of Grenache grape variety by high-throughput barcoding sequencing. *LWT Food Sci Technol* 72, 317-321
- Wang, C., Mas, A., Esteve-Zarzoso, B. (2016) The interaction between *Saccharomyces cerevisiae* and non-*Saccharomyces* yeast during alcoholic fermentation is species and strain specific. *Front Microbiol* 7, 502
- Olguín, N., Champomier-Vergès, M., Anglade, P., Baraige, F., Cordero-Otero, R., Bordons, A., Zagorec, M., Reguant, C. (2015) Transcriptomic and proteomic analysis of *Oenococcus oeni* PSU-1 response to ethanol shock. *Food Microbiol* 51, 87-95
- Margalef-Català, M., Araque, I., Bordons, A., Reguant, C., Bautista-Gallego, J. (2016) Transcriptomic and Proteomic Analysis of *Oenococcus oeni* Adaptation to Wine Stress Conditions. *Front Microbiol* 7, 1554
- Gutiérrez, A., Chiva, R., Beltran, G., Mas, A., Guillamón, J.M. (2013) Biomarkers for detecting nitrogen deficiency during alcoholic fermentation in different commercial wine yeast strains. *Food Microbiol* 34, 227-237
- Marti-Raga, M., Sancho, M., Guillamón, J.M., Mas, A., Beltran, G. (2015) The effect of nitrogen addition on the fermentative performance during sparkling wine production. *Food Res Int* 67, 126-135
- Mas, A., Guillamón, J.M., Torija, M.J., Beltran, G., Cerezo, A.B., Troncoso, A.M., García-Parrilla, M.C. (2014) Bioactive compounds derived from the yeast metabolism of aromatic amino acids during alcoholic fermentation. *BioMed Res Int* 8, 898045
- Olguín, N., Bordons, A., Reguant, C. (2010) Multigenic expression analysis as an approach to understanding the behaviour of *Oenococcus oeni* in wine-like conditions. *Int J Food Microbiol* 144, 88-95
- Margalef-Català, M., Araque, I., Weidmann, S., Guzzo, J., Bordons, A., Reguant, C. (2016) Protective roles of glutathione addition against wine-related stress in *Oenococcus oeni*. *Food Res Int* 90, 8-15
- Margalef-Català, M., Stefanelli, E., Araque, I., Wagner, K., Felis, G.E., Bordons, A., Torriani, S., Reguant, C. (2017) Variability in gene content and expression of the thioredoxin system in *Oenococcus oeni*. *Food Microbiol* 61, 23-32
- Vegas, C., González, T., Mateo, E., Mas, A., Poblet, M., Torija, M.J. (2013) Evaluation of representativity of the acetic acid bacteria species identified by culture-dependent method during a traditional wine vinegar production. *Food Res Int* 51, 404-411
- Valera, M.J., Torija, M.J., Mas, A., Mateo, E. (2013) *Acetobacter malorum* and *Acetobacter cerevisiae* identification and quantification by Real-Time PCR with TaqMan-MGB probes. *Food Microbiol* 36, 30-39
- Hidalgo, C., Torija, M.J., Mas, A., Mateo, E. (2013) Effect of inoculation on strawberry fermentation and acetification processes using native strains of yeast and acetic acid bacteria. *Food Microbiol* 34, 88-94
- Hurtado, A., Reguant, C., Bordons, A., Rozès, N. (2012) Lactic acid bacteria from fermented table olives. *Food Microbiol* 31, 1-8