

Ecología e interacciones microbianas

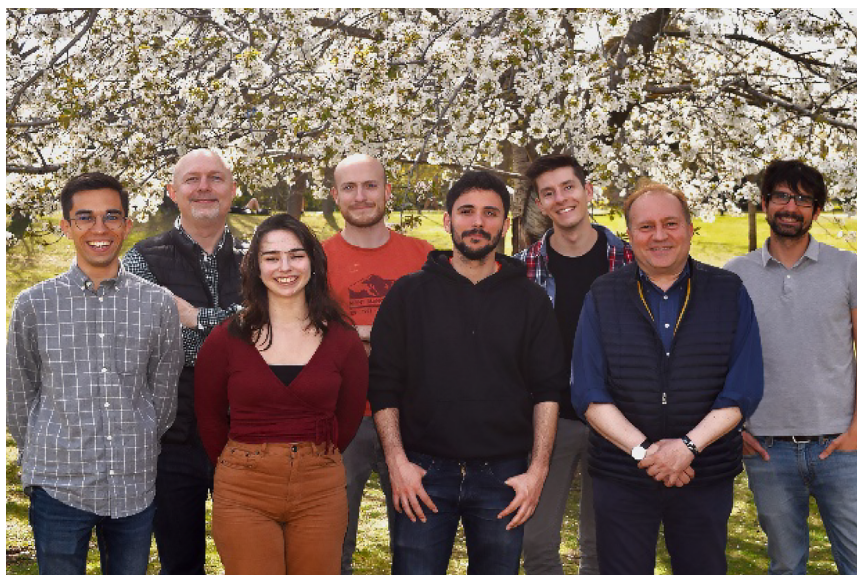
JAVIER VICENTE, SERGIO IZQUIERDO, BELÉN BENÍTEZ-DOMÍNGUEZ, MIGUEL DE CELIS, JAVIER RUIZ, DOMINGO MARQUINA, IGNACIO BELDA, ANTONIO SANTOS

Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología (Unidad de Microbiología). Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. C/José Antonio Novais, 12. 28040. Madrid.

✉ ansantos@ucm.es

El laboratorio de ECOLOGÍA E INTERACCIONES MICROBIANAS (MINE Lab) forma parte del grupo de investigación de Ecología y Biotecnología Microbianas (Ref: 910672) de la Universidad Complutense de Madrid (<http://minelab.bioucm.es/>). En el grupo, bajo un mismo marco teórico de ecología de comunidades microbianas para la mejora de procesos biotecnológicos, coexisten dos líneas de investigación, (1) la fermentación vínica y (2) la depuración de aguas residuales. Está integrado por dos catedráticos, una profesora contratada doctora, dos profesores ayudantes doctores, una profesora asociada y una profesora honorífica. Actualmente, el grupo cuenta con dos investigadores predoctorales y dos investigadores en formación contratados por el Programa Investigo. El grupo, que también cuenta con una amplia red de colaboradores, tanto nacionales como internacionales, persigue el equilibrio entre ciencia fundamental y aplicada, por lo que continuamente participa en proyectos industriales con empresas del sector enológico y del tratamiento y gestión integral del agua. Asimismo, nuestro laboratorio tiene un fuerte compromiso con la formación de jóvenes investigadores, desde el nivel de pregrado hasta el de postdoctorado, por eso, siempre está abierto a recibir nuevas personas, especialmente investigadores interesados en la ecología y metabolismo microbianos, desde la genómica hasta la fenómica.

Los investigadores del MINE Lab (Figura 1), microbiólogos, bioinformáticos y ecólogos, estamos centrados en el estudio de los ecosistemas microbianos relacionados con las fermentaciones vínicas y trabajamos juntos para una comprensión integradora de los mecanismos ecológicos y moleculares que rigen el funcionamiento del microbioma del vino. En la actualidad, nuestro laboratorio cuenta con dos líneas de investigación relacionadas con la enología, financiadas con distintos proyectos



Integrantes del laboratorio de Ecología e Interacciones Microbianas (MINE Lab). De izquierda a derecha: (atrás) Antonio Santos, Javier Ruiz, Sergio Izquierdo, Ignacio Belda, (delante) Javier Vicente, Belén Benítez, Miguel de Celis, Domingo Marquina.

industriales y de generación de conocimiento fundamental.

Selección de cepas de levaduras para la mejora de la calidad del vino.

La microbiología asociada al proceso de fermentación espontánea de un mosto de uva consiste en una compleja sucesión de especies de levaduras que establecen una dinámica poblacional determinada, fundamentalmente, por la presión selectiva que ejercen la alta presión osmótica y la creciente concentración de etanol en el medio. En estas condiciones *Saccharomyces cerevisiae* logra dominar y llevar a término el proceso de fermentación. No obstante, durante este proceso, especialmente en las primeras etapas, *S. cerevisiae* coexiste con

una gran diversidad de especies de levaduras "no-*Saccharomyces*" involucradas en la fermentación vínica. Es precisamente en este aspecto en el que el equipo más ha trabajado, buscando levaduras que pudieran complementar la fermentación realizada por *S. cerevisiae* caracterizando sus propiedades metabólicas (Belda et al., 2016). En los últimos años, hemos estudiado la forma en que distintas especies de levadura (p. ej. *Torulaspota delbrueckii*, *Metschnikowia pulcherrima* o *Lachancea thermotolerans*) contribuyen al perfil metabólico de los vinos, incidiendo en parámetros determinantes de su calidad tecnológica (Belda et al., 2016) o sensorial (Belda et al., 2017, Vicente et al., 2023a) para mejorar algunas características de interés enológico que se encuentran ausentes en la mayoría de cepas vínicas de *S. cerevisiae* (Ruiz et al., 2021). Además, el empleo de las tecnologías de secuenciación masiva ha mostrado una diversidad filoge-

nética mayor de lo esperado en las fermentaciones vínicas (de Celis et al., 2022), por lo que, para arrojar luz en el posible papel que juegan algunas de las especies difícilmente detectables en los vinos, estamos llevando a cabo la caracterización de la ecología y metabolismo de especies de levaduras minoritarias durante la fermentación (Ruiz et al., 2019, Vicente et al., 2023b).

Recientemente, y en el ámbito del proyecto LowpH-Wine “Estudio de los mecanismos moleculares y procesos metabólicos en levaduras de origen enológico para el control de la acidez en vinos” (CIEN-CDTI), cuyo objetivo global es el desarrollo de herramientas de control que palién el efecto del cambio climático sobre el viñedo y el vino, junto con el proyecto “Mejora de la seguridad alimentaria y la calidad de vinos españoles afectados por el cambio climático mediante el empleo de levaduras de géneros no-Saccharomyces” (convocatoria de Generación de Conocimiento, AEI), nos hemos centrado en la búsqueda y estudio de levaduras con incidencia sobre el contenido final de ácidos orgánicos presentes en el vino (Vicente et al., 2022). Una de las levaduras con mayor influencia sobre la acidez es *L. thermotolerans*, una especie de la que aún se desconoce gran parte de su ecología y metabolismo y que produce elevadas concentraciones de ácido láctico a partir de glucosa, reduciendo el pH del vino e incrementando su estabilidad microbiológica (Vicente et al., 2021). Nuestro objetivo no es solo determinar la influencia de esta especie en la fermentación vínica, sino también conocer su ecología desde un punto de vista filo-funcional.

Ecología de comunidades y mecanismos de interacción en el microbioma del vino.

La microbiota del mosto de uva depende, en gran medida, de las comunidades microbianas que se establecen en los viñedos. Tras la observación empírica del papel de distintas especies de levaduras sobre la composición química de los vinos (Belda et al., 2017), decidimos estudiar los efectos de la co-inoculación de *S. cerevisiae* con otras especies de levaduras, a nivel de su perfil transcripcional y metabólico, observando que estas interacciones pueden variar en función de las condiciones fermentativas

(Ruiz et al., 2020). En este sentido, hemos estudiado los patrones de diversidad de las comunidades microbianas de los suelos de viñedos a escala global (Gobbi et al., 2022), así como el impacto de las prácticas agrícolas sobre la estructura de dichas comunidades (Ortiz-Álvarez et al., 2021). También hemos elaborado un catálogo de especies de hongos y levaduras detectables en mostos de uva y fermentaciones vínicas por técnicas moleculares, describiendo sus patrones de prevalencia y abundancia relativa (de Celis et al., 2022). Para entender la relación entre la composición de las comunidades microbianas del mosto de uva y la calidad final de los vinos, es necesario conocer los patrones de ensamblaje de las comunidades de levaduras vínicas y el impacto de factores bióticos (interacciones interespecíficas) y abióticos (composición físico-química del mosto, condiciones fermentativas, etc.) en su funcionamiento. Esta línea se encuentra financiada por el proyecto Wine-teractions “A systems biology perspective on wine fermentation: from microbial ecology to wine ecosystem modelling” (convocatoria de Generación de Conocimiento, AEI). En este proyecto, destacamos el desarrollo de un marco teórico que permite predecir el funcionamiento de distintos consorcios de levaduras vínicas, a partir de la información filogenética de las especies que lo componen (Ruiz et al., 2022). En esta línea, nuestro objetivo es continuar explorando el vino como un modelo de estudio para responder preguntas fundamentales en ecología, evolución e interacción entre microorganismos (Ruiz et al., 2020; Belda et al., 2021).

Bibliografía

- Belda, I., Conchillo LB, Ruiz J, Navascués E, Marquina D, Santos A.** (2016) Selection and use of pectinolytic yeasts for improving clarification and phenolic extraction in winemaking. *Int J Food Microbiol.* 223:1-8.
- Belda, I., Ruiz J, Beisert B, Navascués E, Marquina D, Calderón F, Rauhut D, Benito S, Santos A.** (2017) Influence of *Torulasporea delbrueckii* in varietal thiol (3-SH and 4-MSP) release in wine sequential fermentations. *Int J Food Microbiol.* 257:183-191.
- Belda, I., Williams, T., de Celis, M., Paulsen, IT., Pretorius, I.** (2021) Seeding the idea of encapsulating a representative synthetic metagenome in a single yeast cell. *Nat Commun.* 12(1):1599.
- de Celis, M., Ruiz, J., Vicente, J., Acedo, A., Marquina, D., Santos, A., Belda, I.** (2022) Expectable diversity patterns in wine yeast communities. *FEMS Yeast Res.* 22(1):foac034.
- Gobbi, A., Acedo, A., Imam, N., Santini, RG., Ortiz-Álvarez, R., Ellegaard-Jensen, L., Belda, I., Hansen, LH.** (2022) A global microbiome survey of vineyard soils highlights the microbial dimension of viticultural terroirs. *Commun Biol.* 5:241.
- Ortiz-Álvarez, R., Ortega-Arranz, H., Ontiveros, VJ., de Celis, M., Ravarani, C., Acedo, A., Belda, I.** (2021) Network properties of local fungal communities reveal the anthropogenic disturbance consequences of farming practices in vineyard soils. *mSystems.* 6(3):e00344-21.
- Ruiz, J., Ortega, N., Martín-Santamaría, M., Acedo, A., Marquina, D., Pascual, O., Rozès, N., Zamora, F., Santos, A., Belda, I.** (2019) Occurrence and enological properties of two new non-conventional yeasts (*Nakazawaea ishiwadae* and *Lodderomyces elongisporus*) in wine fermentations. *Int J Food Microbiol.* 305:108255.
- Ruiz, J., de Celis, M., de Toro, M., Mendes-Ferreira, A., Rauhut, D., Santos, A., & Belda, I.** (2020) Phenotypic and transcriptional analysis of *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation in response to nitrogen nutrition and co-inoculation with *Torulasporea delbrueckii*. *Food Res Int.* 137:109663.
- Ruiz, J., de Celis, M., Martín-Santamaría, M., Benito-Vázquez, I., Pontes, A., Lanza, VF., Sampaio, JP., Santos, A., Belda, I.** (2021) Global distribution of IRC7 alleles in *Saccharomyces cerevisiae* populations: a genomic and phenotypic survey within the wine clade. *Environ Microbiol.* 23(6):3182-3195.
- Ruiz, J., de Celis, M., Diaz-Colunga, J., Vila, J. C. C., Benitez-Dominguez, B., Vicente, J., Santos, A., Sánchez, A., Belda, I.** (2022) Predictability of the community-function landscape in wine yeast ecosystems. *bioRxiv.* 2022-12.
- Vicente, J., Navascués, E., Calderón, F., Santos, A., Marquina, D., & Benito, S.** (2021) An integrative view of the role of *Lachancea thermotolerans* in wine technology. *Foods.* 10(11):2878.
- Vicente, J., Baran, Y., Navascués, E., Santos, A., Calderón, F., Marquina, D., Rauhut, D., Benito, S.** (2022) Biological management of acidity in wine industry: A review. *Int J Food Microbiol.* 109726.
- Vicente, J.; Kelanne, N.; Rodrigo-Burgos, L.; Navascués, E.; Calderón, F.; Santos, A.; Marquina, D.; Yang, B.; Benito, S.** (2022). Influence of different *Lachancea thermotolerans* strains in the wine profile in the era of climate challenge. *FEMS Yeast Research.* foac062. doi: [10.1093/femsyr/foac062](https://doi.org/10.1093/femsyr/foac062)