

RECERCA DE LLEVATS AUTÒCTONS DE GARNATXA BLANCA

M. Carme Masqué,¹ Beatriz Zaplana,¹ Xoan Elorduy,¹ Josep Valiente,¹ Eva Bertran,² Anna Puig²

1. Estació de Viticultura i Enologia de Reus (INCAVI)

2. Estació de Viticultura i Enologia de Vilafranca del Penedès (INCAVI)

RESUM

En el marc del pla estratègic de la garnatxa blanca impulsat pel Consell Regulador DO Terra Alta, a INCAVI es va plantejar un projecte amb la col·laboració del mateix Consell Regulador i l'empresa Laffort SA. La finalitat d'aquest és obtenir soques de llevats autòctones el més adaptades possible a les característiques dels mostos de garnatxa blanca de la Terra Alta, i que revelin i conservin al màxim les característiques varietals dels vins obtinguts amb aquests mostos. S'han fet aïllaments a partir de vins en fermentació alcohòlica espontània en tres cellers de la zona durant tres veremes. Les soques de llevat aïllades s'han tipificat mitjançant l'anàlisi del perfil de restricció del DNA mitocondrial. Les soques amb major percentatge d'implantació s'han conservat congelades per a una posterior selecció sobre la base, principalment, del seu potencial fermentatiu i qualitatiu.

RESUMEN

En el marco del plan estratégico de la garnacha blanca impulsado por el Con-

sejo Regulador DO Terra Alta, en INCAVI se planteó un proyecto con la colaboración del mismo Consejo Regulador y la empresa Laffort SA. La finalidad de este proyecto es obtener cepas de levaduras autóctonas lo más adaptadas posible a las características de los mostos de garnacha blanca de la zona y que, además, conserven y revelen al máximo las características varietales de los vinos obtenidos a partir de estos mostos. Se han aislado cepas de levaduras a partir de vinos en fermentación alcohólica espontánea en tres bodegas de la zona durante tres vendimias. Las cepas aisladas han sido tipificadas mediante el análisis del perfil de restricción del DNA mitocondrial. Las cepas con mayor porcentaje de implantación se han congelado para una posterior selección en base, principalmente, a su potencial fermentativo y cualitativo.

1. INTRODUCCIÓ

En el mercat existeixen molts cultius de llevats seleccionats: amb elevada activitat fermentativa, resistents a condicions adverses, amb capacitat de potenciar unes o altres aromes, etc.

Tanmateix, cada vegada més, s'està buscant de recuperar la tipicitat dels vins d'una determinada zona o varietat, i és per aquesta raó que hi ha molts investigadors que opinen que un dels factors importants a tenir en compte és que els llevats que s'utilitzin per a conduir i controlar la fermentació alcohòlica (FA) siguin llevats autòctons.

En el marc del pla estratègic de la garnatxa blanca impulsat pel Consell Regulador DO Terra Alta, es va creure que un punt molt interessant era obtenir coneixements sobre la població autòctona de llevats amb capacitat per a ajudar a obtenir vins d'aquesta varietat amb el màxim d'expressió varietal. L'obtenció de vins amb característiques i estil diferenciat, que siguin identificables amb una zona determinada (DO Terra Alta), és un dels objectius principals d'aquest pla estratègic.

Així, doncs, a INCAVI es va plantejar un projecte amb la col·laboració del Consell Regulador DO Terra Alta i l'empresa Laffort SA, que té com a objectiu principal l'aïllament i la selecció de llevats obtinguts a partir de fermentacions espontànies de mostos de la varietat garnatxa blanca de la zona de la DO Terra Alta. La finalitat és obtenir soques de llevats autòctones al més adaptades possible a les característiques dels mostos d'aquesta zona, i que revelin i conservin al màxim les característiques varietals dels vins obtinguts amb aquests mostos.

2. METODOLOGIA

Durant tres o quatre anys consecutius, en diferents cellers de la zona, es

realitzen fermentacions alcohòliques espontànies (sense sembrar-hi llevats) amb mostos monovarietals de garnatxa blanca, per tal que es desenvolupin els llevats autòctons i per a poder-los aïllar, tipificar i seleccionar.

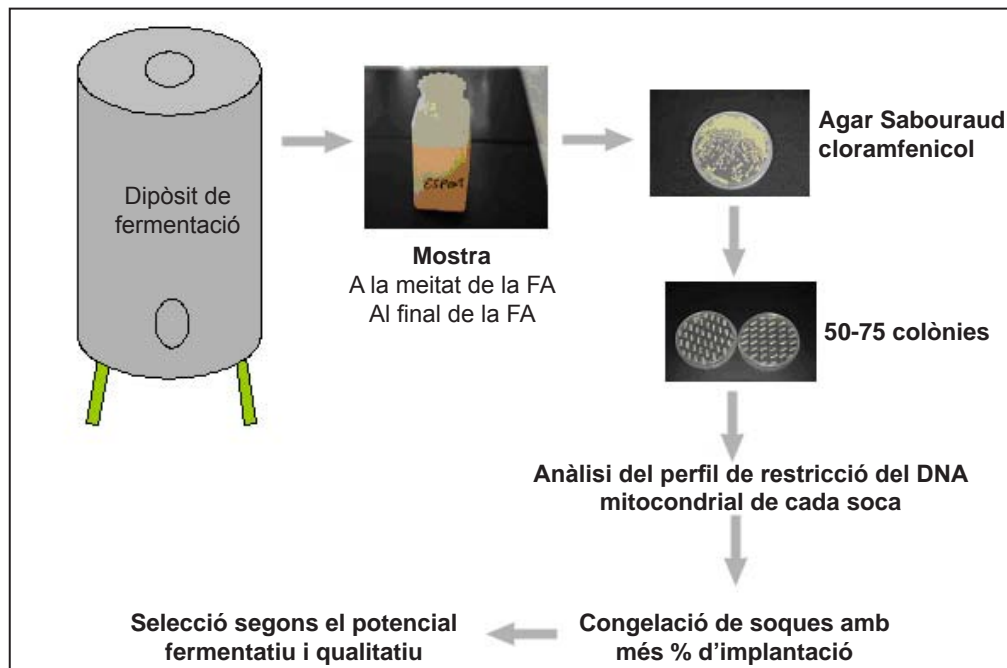
Paral·lelament, es duen a terme en cada celler fermentacions induïdes amb llevats comercials utilitzant el mateix lot de most que les espontànies per a utilitzar-los com a controls.

De cada una d'aquestes vinificacions s'extreuen dues mostres (figura 1):

- A la meitat de la FA (quan la densitat hagi baixat al voltant de 1.040 g/dm^3)
- Al final de la FA (quan la densitat es trobi al voltant de 1.000 g/dm^3)

S'aïllen entre 50 i 75 soques de llevat de cada mostra. Es fa una tipificació de cadascuna de les soques aïllades, determinant el polimorfisme del perfil del DNA mitocondrial, mitjançant l'electroforesi dels fragments de restricció obtinguts després de fer una digestió del DNA extret de les soques amb l'enzim Hinf 1. Els llevats que aconseguen un major percentatge d'implantació respecte al total de la població aïllada en cada punt i identificats com a soques diferents de soques comercials utilitzades al celler es congelen. Posteriorment, aquestes soques de llevat seran sotmeses a diferents proves de selecció sobre la base de diferents criteris, principalment: el potencial fermentatiu, la seva capacitat d'implantació respecte a la resta de flora i la qualitat dels vins obtinguts, fent especial atenció a la revelació i conservació del potencial aromàtic de la garnatxa blanca.

FIGURA 1. *Protocol d'extracció i processament de les mostres de most per a l'aïllament i caracterització dels llevats*



De cada vinificació també es guarda most inicial congelat, per a poder fer les proves de selecció, i una mostra de vi final, per a la seva caracterització aromàtica tant química com organolèptica.

3. RESULTATS OBTINGUTS FINS ARA

Mitjançant el Consell Regulador, es van localitzar cellers disposats a dur a terme les fermentacions espontànies. Durant la verema de 2009, es va fer una primera prova amb tres cellers (Celler SAT La Botera, Cooperativa Agrícola de la Pobla de Massaluga i Cooperativa Agrícola de Gandesa) i es van aïllar tres, dues i quatre soques, respectivament, com a possibles candidates a la selecció posterior. A partir d'aquests resultats, es

va planificar l'estudi i es va comptar amb la col·laboració de l'empresa Laffort SA.

Malgrat que l'objectiu marcava que els cellers objecte d'estudi havien de ser els mateixos durant tres o quatre anys consecutius, a l'hora de planificar les veremes següents dos dels cellers utilitzats pel sondeig inicial no van poder continuar. Així, doncs, l'estudi definitiu es va fer, finalment, amb tres cellers: Cooperativa Agrícola de Gandesa, Celler Cooperatiu de Batea i Cooperativa Sant Josep de Bot.

Durant la verema de 2010, a la Cooperativa de Gandesa (figura 2) es van aïllar tant a la meitat de la FA com al final d'aquesta una soca autòctona 1 en un 85 % d'implantació, la soca comercial

utilitzada aquesta mateixa verema al celler en un 10 % aproximadament i el 5 % restant eren altres soques. La soca 1 va ser congelada i guardada per a partici-

par en una posterior selecció. Al dipòsit de fermentació induïda només es van aïllar soques d'un perfil que corresponia a la soca comercial sembrada.

FIGURA 2. Soques aïllades durant la verema 2010 a la Cooperativa de Gandesa

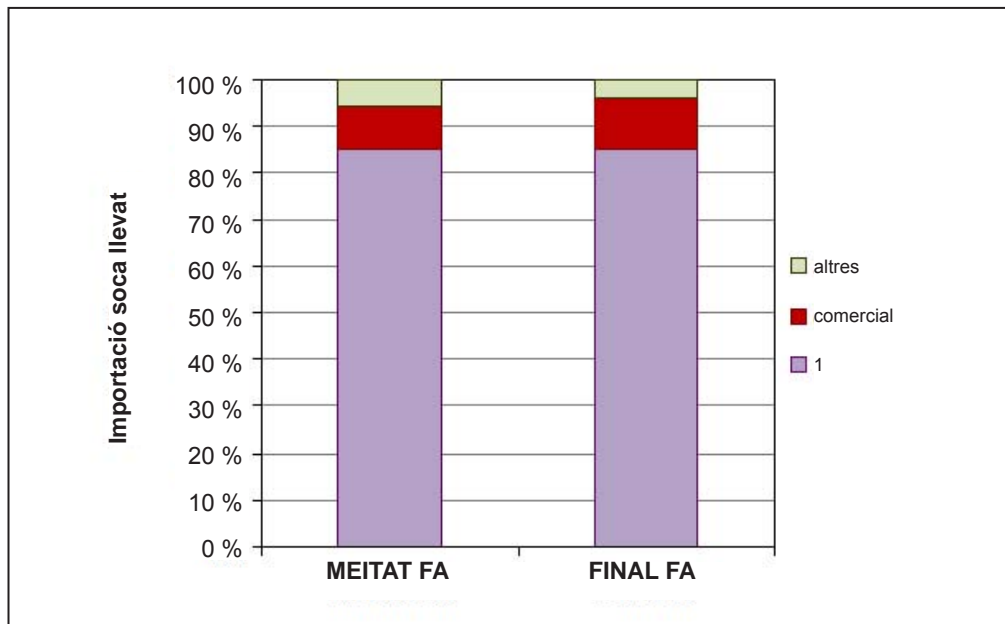
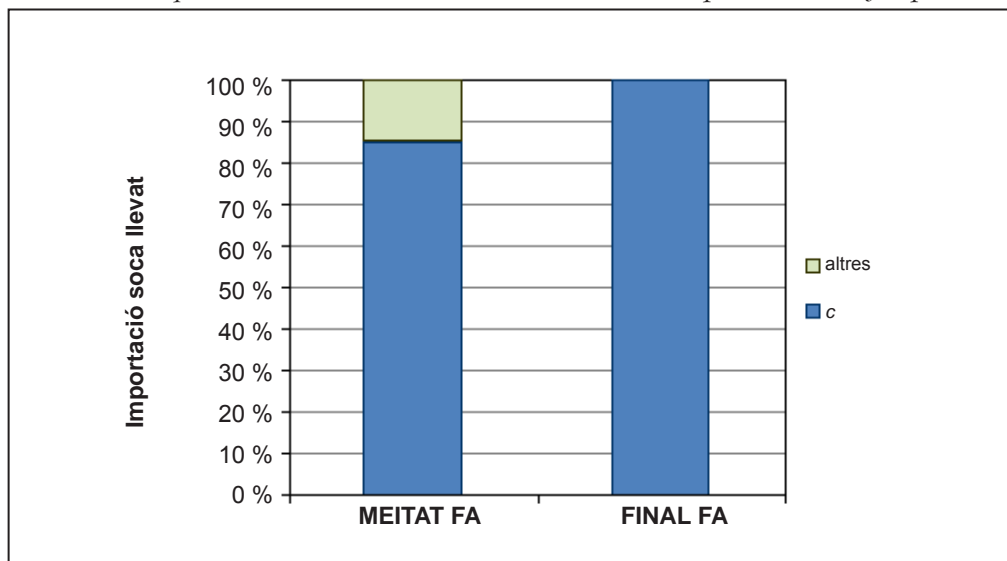


FIGURA 3. Soques aïllades durant la verema 2010 a la Cooperativa Sant Josep de Bot



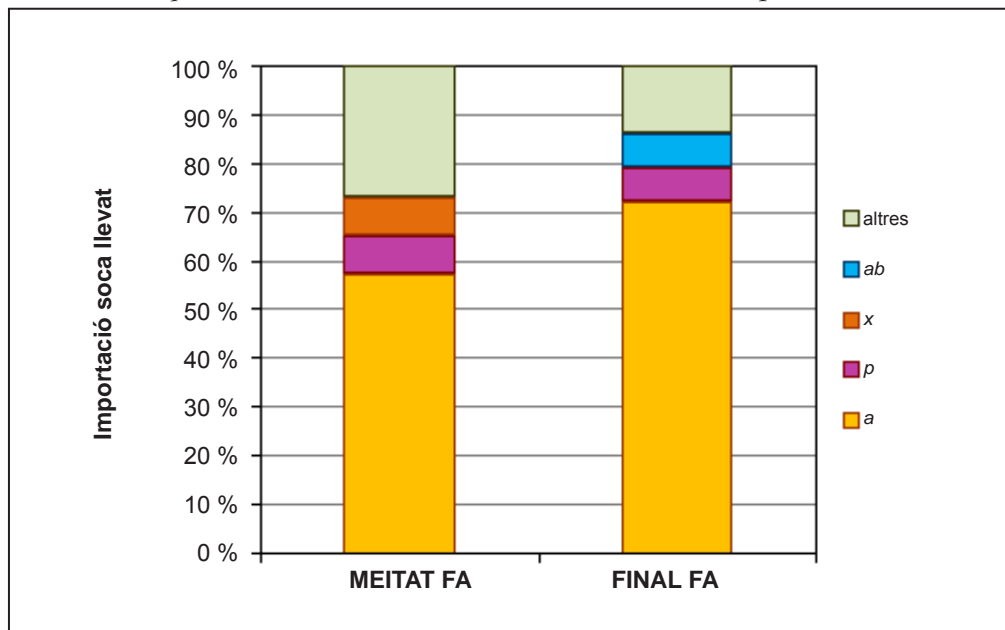
A la Cooperativa Sant Josep de Bot (figura 3), després de fer els aïllaments i les tipificacions, es va veure que una soca autòctona *c* s'havia implantat majoritàriament (en un 85 % a la meitat de la FA i en un 100 % al final de la FA), que també va ser guardada com a possible candidata a la selecció que es farà una vegada passades les tres veremes. Aquesta mateixa soca *c* també es va trobar en un 9 % a la meitat de la FA i un 18 % al final de la FA en el dipòsit amb FA induïda. La soca comercial inoculada es va imposar, encara que al final de la FA el seu perfil només va coincidir en un 55 % de les soques aïllades.

Com que els percentatges d'implantació d'aquestes dues soques aïllades en les fermentacions espontànies són molt elevats, ens fa sospitar que podrien ser soques comercials utilitzades amb anterioritat en aquests cellers. Per tant, tot i

que s'han guardat, abans de continuar amb la selecció, caldrà comprovar que no corresponguin a cap de les soques comercials utilitzades en veremes anteriors als cellers esmentats.

Al Celler Cooperatiu de Batea (figura 4), hi va haver una soca *a* que va predominar però no es va implantar tan massivament (un 57 % a la meitat de la FA i un 72 % al final de la FA), però sembla que té bon potencial fermentatiu, ja que també es va aïllar del dipòsit amb FA induïda amb una implantació del 67 % al final de la FA, mentre només un 25 % de les soques aïllades presentaven el perfil de la soca inoculada. Del dipòsit de FA espontània, es van aïllar tres soques més amb presència suficient com per a considerar-les possibles candidates a la selecció, anomenades *p* (8 % d'implantació a la meitat de la FA i 7 % al final de la FA), *x* (8 % d'implantació a la meitat de la FA) i *ab* (7 % d'implantació

FIGURA 4. Soques aïllades durant la verema 2010 al Celler Cooperatiu de Batea



al final de la FA). Totes elles van ser congelades en l'espera de la selecció.

Durant la verema de 2011 s'han fet, també, els aïllaments de les fermentacions espontànies en aquests cellers. En aquest moment, es tenen les 75 soques de cadascun dels dipòsits estudiats en vies de tipificació i determinació dels diferents perfils.

4. TREBALLS A DUR A TERME EN UN FUTUR

Per tal de completar l'estudi, manca fer aïllaments i tipificació en almenys una verema més, la de 2012. Caldrà veure si les soques conservades com a possibles candidates a la selecció es repeteixen en les tres veremes per cada celler.

Posteriorment, caldrà fer les proves de selecció segons criteris enològics de les soques de llevat aïllades com a majoritàries i intentar seleccionar-ne alguna, per tal de poder-la utilitzar per a induir les fermentacions en mostos de garnatxa blanca per a obtenir vins de millor qualitat.

5. AGRAÏMENTS

Agraïm la col·laboració del Consell Regulador DO Terra Alta i de l'empresa Laffort SA, així com l'esforç i la dedicació dels cellers de la Terra Alta que col·laboren en l'estudi.

BIBLIOGRAFIA

CUINER, C. (1986). «Le levurage spécifique». *Viticulture Tourangelle*, núm. 215, p. 15-18.

FERNÁNDEZ-ESPINAR, M. T.; MARTORELL, P.; LLANOS, R. de; QUEROL, A. (2006). «Molecular methods to identify and characterize yeasts in foods and beverages». A: QUEROL, A.; FLEET, G. H. (ed.). *The yeast handbook: Yeast in food and beverages*. Berlín: Springer, p. 55-82.

GRAY, M. W. (1989). «Origin and evolution of mitochondrial DNA». *Annual Review of Cell Biology*, núm. 5, p. 25-50.

LOPES, C. A.; RODRÍGUEZ, M. E.; SANGORRÍN, M.; QUEROL, A.; CABALLERO, A. C. (2007). «Patagonian wines: implantation of an indigenous strain of *Saccharomyces cerevisiae* in fermentations conducted in traditional and modern cellars». *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, núm. 34, p. 139-149.

MARTÍNEZ, P.; CODÓN, A. P.; PÉREZ, L.; BÉNITEZ, T. (1995). «Physiological and molecular characterization of flor yeast: polymorphism of flor populations». *Yeast*, núm. 11, p. 1399-1411.

MAS, A. (1999). «Inoculación de levaduras». *La Semana Vitivinícola*, núm. 2750, p. 1287-1296.

PUIG, A. (2003). «Comportamiento de la población de levaduras vínicas en fermentaciones de variedades tintas». *Tecnología del Vino*, núm. 11, p. 31-35.

PUIG, A.; BARTRA, E.; MÍNGUEZ, S. (2002). «Catalogación de levaduras comerciales de interés enológico mediante el análisis de su ADN mitocondrial». *Tecnología del Vino*, núm. 4, p. 35-37.

PUIG-PUJOL, A.; VILAVELLA, M.; BARTRA, E.; MÍNGUEZ, S. (2002). «Suivi de la dynamique de la population de levures dans des fermentations viniques industrielles au travers de l'étude de l'ADN mitochondrial». *Revue des Oenologues*, núm. 105, p. 33-36.

- QUEROL, A. (2000). «Identificación y caracterización de levaduras vínicas mediante técnicas moleculares y sus posibles aplicaciones». *La Semana Vitivinícola*, núm. 2832, p. 4182-4191.
- QUEROL, A.; BARRIO, E.; HUERTA, T.; RAMÓN, D. (1992). «Molecular monitoring of wine fermentations conducted by active dry yeast strains». *Applied Environmental Microbiology*, núm. 58, p. 2948-2953.
- (1993). «Utilization of molecular techniques for the characterization of wine yeasts and the study of the wine-making process». *Microbiología*, núm. 9, p. 76-82.
- RODRÍGUEZ, M. E.; INFANTE, J. J.; MOLINA, M.; DOMÍNGUEZ, M.; REBORDINOS, L.; CANTORAL, J. M. (2010). «Genomic characterization and selection of wine yeast to conduct industrial fermentations of a white wine produced in a SW Spain winery». *Journal of Applied Microbiology*, núm. 108, p. 1292-1302.
- RODRÍGUEZ, M. E.; INFANTE, J. J.; MOLINA, M.; REBORDINOS, L.; CANTORAL, J. M. (2011). «Using RFLP-mtDNA for the rapid monitoring of the dominant inoculated yeast strain in industrial wine fermentations». *International Journal of Food Microbiology*, núm. 145, p. 331-335.
- SANTAMARÍA, P.; GARJO, P.; LÓPEZ, R.; TENORIO, C.; GUTIÉRREZ, A. (2005). «Analysis of yeast population during spontaneous alcoholic fermentation: effect of the age of the cellar and practice of inoculation». *International Journal of Food Microbiology*, núm. 103, p. 49-56.
- SCHULLER, D.; VALERO, E.; DEQUIN, S.; CASAL, M. (2004). «Survey of molecular methods for the typing of wine yeast strains». *FEMS Microbiology Letters*, núm. 231, p. 19-26.