

## Aislamiento, caracterización e identificación de levaduras de frutos de la vid (*Vitis vinifera*) de la región de Concordia

Davies, Cristina; Gerard, Liliana; Corrado, María B.; Soldá, Carina A.; Fernández, María V.; Dalzotto, María G.; Esteche Sofía

**Autores:** Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos. Monseñor Tavella 1450, E3202 BCJ, Concordia, Entre Ríos, Argentina.

**Contacto:** [cristina.daviesc@uner.edu.ar](mailto:cristina.daviesc@uner.edu.ar) / [liliana.gerard@uner.edu.ar](mailto:liliana.gerard@uner.edu.ar)

**ARK:** <http://id.caicyt.gov.ar/ark:/s22504559/4bngr7l4k>

### RESUMEN

Se aislaron 210 colonias de levaduras nativas durante la fermentación espontánea de uvas de las variedades Tannat y Marselan del departamento Concordia, Entre Ríos, con el objetivo de seleccionar las que resulten aptas para vinificación. Se identificaron en función de la morfología y color en agar nutritivo WL y mediante amplificación del gen ribosomal 5,8S y sus dos espaciadores transcritos internos (ITS1 e ITS2) y posterior digestión enzimática de los productos de PCR utilizando las enzimas de restricción *CfoI*, *HaeIII* y *HinfI*. *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia kudriavzevii* fueron las especies con la mayor cantidad de cepas reconocidas. Ambas variedades contribuyeron con el 40 % y el 35 % de todos los aislamientos, seguidas por *Hanseniaspora uvarum* (13 %). Otras especies identificadas fueron: *Metschnikowia pulcherrima*, *Issatchenkia terricola*, *Pichia occidentalis*, *Pichia bruneiensis*, *Candida albicans*, *Candida parasitopsis*, *Hanseniaspora opuntiae*, *Hanseniaspora vineae*. Debido a que no todas las levaduras son relevantes para desarrollar fermentaciones alcohólicas exitosas en mostos de uvas, se realizó una evaluación de las principales características enológicas: capacidad de tolerar hasta 15,0% (v/v) de etanol, poder fermentativo, capacidad de floculación, tolerancia al SO<sub>2</sub> y el factor *killer*. De acuerdo a los resultados, 32 cepas podrían ser utilizadas en procesos de vinificación: 5 *H. uvarum*, 12 *P. kudriavzevii*, 15 *S. cerevisiae*.

## OBJETIVOS PROPUESTOS Y CUMPLIDOS

### Objetivo General:

- Aislar, identificar, caracterizar y seleccionar levaduras vínicas nativas de los cultivares Tannat y Marselan de la región de Concordia, para ser usadas con fines biotecnológicos.

### Objetivos específicos:

- Aislar levaduras autóctonas presentes en uvas de la región de Concordia en las distintas etapas de fermentación.
- Identificar las levaduras aisladas mediante métodos moleculares (PCR-RFLP).
- Evaluar sus características enológicas con el fin de seleccionar las más aptas para vinificación.
- Evaluar la capacidad de producción del factor *killer* en cada cepa aislada.

### Otros Objetivos cumplidos no propuestos:

- Estudiar la fermentación espontánea de uvas Tannat y Marselan monitoreando parámetros fisicoquímicos y la evolución de las levaduras *Saccharomyces* y no- *Saccharomyces*

## MARCO TEÓRICO Y METODOLÓGICO (síntesis)

### Marco teórico

Las frutas son micro hábitats importantes para gran cantidad de especies de levaduras, debido a su alta concentración de azúcares simples y bajo pH. En estos sustratos, las levaduras están involucradas en varios procesos bioquímicos y ecológicos, incluyendo el deterioro de las frutas. Particularmente en las uvas, se encuentran los géneros *Rhodotorula*, *Hanseniasspora*, *Pichia*, *Candida*, *Metschnikowia*, *Kluyveromyces* y *Saccharomyces* (Fleet, 2008)

Al comienzo de la fermentación espontánea del mosto de uva se encuentran las levaduras no-*Saccharomyces* ya que son las predominantes en estas frutas (Padilla et al., 2016). Estas crecen en forma adecuada durante las primeras etapas de fermentación, cuando la concentración de etanol es aún baja (Varela & Borneman, 2017). Usualmente, *Kloeckera*, *Hanseniasspora* y *Candida* predominan en las etapas tempranas de la fermentación, mientras que *Pichia* y *Metschnikowia* suceden en las etapas medias (Varela & Borneman, 2017). Luego, estos géneros reducen su número, dando paso al crecimiento de la especie fermentadora por excelencia: *S. cerevisiae* (Albergaria & Arneborg, 2016). Dicho de otro modo, las fermentaciones espontáneas, a través de la sucesión ecológica de levaduras, culminan con el dominio de *S. cerevisiae* (Drumonde-Neves et al., 2021)

Hasta no hace mucho tiempo, las levaduras no-*Saccharomyces* se consideraban como inductoras de impactos negativos en la calidad del vino (Jiang et al., 2020). Sin embargo, en los últimos años, ha aumentado el número de estudios que analizan la diversidad de levaduras no *Saccharomyces* y se ha revalorizado su uso en la producción de vino (Cioch-Skoneczny et al., 2020), debido a propiedades beneficiosas, como la producción de menos etanol durante la fermentación, logrando vinos que responden a la preferencia del consumidor (Maturano et al., 2019), mejora de la complejidad de sabor y sensación en boca a través de la producción de una variedad de enzimas o metabo-

litos (Cioch-Skoneczny et al., 2020; Jiang et al., 2020; Drumonde-Neves et al., 2021) y su interacción positiva con las *Saccharomyces* (Martin et al., 2018; Maturano et al., 2019).

Dada la gran diversidad de levaduras que pueden encontrarse en las uvas y en los mostos en fermentación, es necesario realizar una selección previa a fin de identificar aquellas con mejores propiedades enológicas, capaces de realizar fermentaciones predecibles y que inicien rápidamente, evitando la acción de las bacterias y levaduras menos eficientes. Para ello, primeramente es necesario contar con técnicas moleculares rápidas y confiables para identificar las especies. Una de las más usadas, es el estudio de las regiones ITS-5.8S por el método de PCR-RFLP que permite la diferenciación de organismos por el análisis de los patrones de ruptura que se generan en un sitio específico del genoma, cuando es cortado por enzimas de restricción (Raspor et al., 2007; Segura et al., 2010; Ortiz et al., 2013; Qvirist et al., 2016; Raymond Eder et al., 2017, 2018).

Las cepas de levaduras seleccionadas deben cumplir ciertas propiedades fermentativas deseables: tolerancia al etanol, alta actividad de fermentación, crecimiento a altas concentraciones de azúcar, resistencia y baja producción de dióxido de azufre, baja producción de sulfuro de hidrógeno, y baja acidez volátil, resistencia a las toxinas *killer* y buen perfil enzimático (Nikolaou et al., 2006 Belda et al., 2014; Cioch-Skoneczny et al., 2020). Algunas levaduras se caracterizan por secretar una toxina proteica, llamada “toxina *killer*” que es letal para cepas sensibles de su misma especie o especies de diferentes géneros, pero siendo ellas mismas inmunes a sus propias toxinas (Belda et al., 2014). La ausencia de factor *killer* en las levaduras iniciadoras en procesos de fermentación controlados puede poner en peligro su implantación durante el proceso de vinificación (Belda et al., 2014). El fenotipo *killer* otorga a la levadura vínica una ventaja competitiva en procesos industriales, por ello, es una característica que se busca, ya que junto a otras propiedades enológicas son factores fundamentales para la selección de levaduras con características adecuadas para llevar a cabo los procesos de vinificación de mostos de uvas (Mannazzu et al., 2019).

En los últimos años, se ha observado un interés creciente en el uso de cepas nativas seleccionadas que le otorgan determinadas características a los vinos, tales como la complejidad, sensación en la boca, integración de sabores, con relación a los producidos con levaduras secas activas (LSA) comerciales (Varela & Borneman, 2017). En ese sentido, la obtención de un producto comercial a partir de levaduras autóctonas implica el desarrollo de numerosas etapas de aislamiento, caracterización e identificación de levaduras nativas, evaluación de sus características enológicas con el fin de establecer aquellas que puedan resultar promisorias con relación a levaduras comerciales y la optimización de las condiciones para producirlas a gran escala.

En Argentina, la vitivinicultura se está expandiendo fuera de las tradicionales provincias vitivinícolas, desarrollando vinos de destacada calidad y con ello nuevos mercados como el turismo regional. Las provincias de Neuquén, Río Negro, Entre Ríos, La Pampa, Tucumán, Chubut, Buenos Aires y Santa Fe aparecen posicionadas como nuevas productoras de vinos. En Entre Ríos no hay estudios enfocados a la diversidad de levaduras presentes en frutas, inclusive en uvas. El estudio planteado constituye un avance importante para la caracterización e identificación de la microflora vitícola. De esta manera, las cepas de levaduras aisladas podrían ser ofrecidas a los productores locales a fin de optimizar tanto los procesos fermentativos como las características organolépticas de los vinos y con ello mejorar su competitividad en el mercado.

## Marco metodológico

### Aislamiento de levaduras

Las muestras de las uvas de las variedades Tannat y Marselan se recolectaron durante las vendimias 2019, 2020 y 2021, aleatoriamente a lo largo de tres líneas del viñedo en el momento justo de la vendimia. Los racimos sanos y sin daños se colocaron en bolsas estériles, transportaron refrigeradas y conservaron en refrigeración a  $5\pm 2$  °C hasta el momento de realizar los ensayos.

El aislamiento y recuento de las levaduras nativas de las uvas se realizó siguiendo la metodología que se detalla a continuación. Se pesaron y descobajaron 200 g de uvas de ambas variedades y se estrujaron asépticamente en stomacher durante 20 segundos. Los mostos se suplementaron con 85 mg/L metabisulfito de sodio y se dejaron fermentar espontáneamente a  $25\pm 2$  °C durante 12 días. Periódicamente, se tomaron alícuotas para recuento de levaduras totales en agar YPDC (1% extracto de levadura, 2% peptona, 2% glucosa, 1,5% agar) con 30 µg/mL cloranfenicol, recuento de no-*Saccharomyces* en agar YPDC y 0,4 µg/mL cicloheximida (YPDCI) que inhibe *Saccharomyces* y agar diferencial WL (Oxoid). Se incubaron a  $25\pm 2$  °C durante 48 h. Las colonias representativas de levaduras obtenidas en el agar WL fueron seleccionadas y repicadas en agar YPD para posteriores estudios: características microscópicas (morfología, tipo de gemación, etc.). Para su conservación por largo plazo, se repicaron en caldo YPD, se incubaron a  $25\pm 2$  °C durante 48 horas y luego se congelaron a -80 °C utilizando glicerol estéril (15% v/v) como crioprotector.

### Seguimiento de las fermentaciones

La evolución de los procesos fermentativos espontáneos de las uvas Marselán y Tannat se realizaron en forma paralela al recuento de levaduras totales y no-*Saccharomyces*, utilizando los mismos mostos detallados en la etapa anterior, mediante la determinación de los siguientes parámetros fisicoquímicos en los tiempos 0, 2, 4, 6, 8 y 10 días:

**Sólidos Solubles:** método refractométrico, expresando los resultados en °Brix (corregidos por temperatura y acidez) con refractómetro.

**Acidez total:** mediante titulación potenciométrica con solución de hidróxido de sodio (NaOH) según técnica MA-E-AS313-01: R2015, OIV (2020). El resultado se expresó como g de ácido tartárico/L.

**Acidez volátil:** destilación por vapor (método Jaulmes), según técnica MA-E-AS313-02: R2015, OIV (2020). Los resultados se expresaron como g ácido acético/L.

**pH:** método potenciométrico, con peachímetro BOECO modelo BT-500 (Germany) según técnica MA-E-AS313-15: R2011, OIV (2020).

**Etanol:** método enzimático (Boehringer Mannheim/R-Biopharm, Cat. N° 10176290035). El resultado se expresó como % (v/v).

**Contenido de C:** método Dumas, digestión seca. Se cuantificó con equipo LECO CHN 628. La concentración de C total se expresó en g/100 g materia seca (LECO corporation, 2016).

### Identificación molecular de las levaduras

**Extracción de ADN:** las levaduras se inocularon en 10 mL de caldo YPD e incubaron a  $30\pm 2$  °C durante 24 horas. Posteriormente, se realizó la extracción de ADN según mé-

todo CTAB (bromuro de cetil - trimetil amonio) (Wilson, 2001). La calidad de ADN se observó en gel de agarosa al 1% (p/v) y bromuro de etidio (concentración final 0,4 µg/mL) con buffer TBE 1X (Tris, Borato, EDTA), utilizando marcador de 100 bp DNA Ladder (Genbiotech, Argentina). La electroforesis se corrió durante 60 min a 100 V y se observó en transiluminador de Luz Ultravioleta UV 1000 - 230 (Labnet International, Inc., USA). El ADN extraído se mantuvo a -18°C hasta su uso.

*Amplificación:* la región que comprende el gen ribosomal 5,8S y sus dos espaciadores transcritos internos (ITS1 e ITS2), se amplificaron con los primers ITS1 (5' TCCGTA-GGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Guillamón et al., 1998).

*Optimización de temperatura de annealing:* se realizó una PCR con gradiente de temperatura. La amplificación se llevó a cabo en un volumen de 12 µL que contenía 0,5 µL de ADN (50–100 mg/µL) y 11,5 µL de mezcla de amplificación. El master mix se formó de la siguiente manera: 10% buffer 1X; agua libre de DNAsas y RNAsas, 0,4mM de cada dNTPs, 0,6 µM de cada primers y 0,3 U de GoTaq G2 DNA polimerasa (Promega®, USA). Los parámetros del ciclo térmico fueron una desnaturalización inicial a 95°C durante 5 min, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 1 min; el annealing con el siguiente gradiente de temperaturas: 51,5 °C, 52,5 °C, 53,4 °C, 54,4 °C y 55,2 °C por 2 min y una extensión a 72° C durante 2 min, y finalmente 72°C durante 10 min. Se utilizó termociclador "LONGGENE" MG96G (China).

*Protocolo de PCR:* las reacciones de amplificación del ADN se realizaron en un volumen final de 40 µL que contenía 2 µL de ADN (50–100 mg/µL) y 38,0 µL de mezcla de amplificación. El mix de PCR se realizó como se detalló anteriormente. Condiciones de PCR: desnaturalización a 95° C durante 5 min, 35 ciclos de 95° C durante un min, 55,2° C por 2 min, 72° C por 2 min y una extensión final a 72° C durante 10 min.

*Electroforesis de los productos de PCR:* el producto amplificado fue detectado en gel de agarosa (1,5% p/v) y bromuro de etidio (concentración final 0,4 µg/mL) con buffer TBE 1X. La electroforesis se corrió durante 65 min a 100 V. La visualización del amplificado se realizó mediante transiluminador de Luz Ultravioleta UV 1000 - 230 (Labnet International, Inc., USA) y se comparó con marcador de 100 bp DNA Ladder (Genbiotech, Argentina).

*Digestión de productos de PCR:* se llevó a cabo la digestión enzimática de los productos de PCR utilizando las enzimas de restricción *CfoI*, *HaeIII* y *HinfI* (Promega®, USA). Se tomaron 8 µL de cada producto de PCR y fueron digeridos con las respectivas enzimas de restricción, según protocolo recomendado por el proveedor. Se incubaron 4 horas a 37°C. Los fragmentos de restricción fueron analizados por electroforesis en gel de agarosa al 2 % (p/v) teñidos con bromuro de etidio (concentración final 0,4 µg/mL) y buffer TBE 1X. La migración se realizó a 80 V por 140 min. Los patrones de RFLP obtenidos luego de la restricción se observaron mediante un transiluminador de Luz Ultravioleta UV 1000 - 230 (Labnet International, Inc., USA), con sistema de foto documentación digital y se compararon con marcador de 100 bp DNA Ladder (Genbiotech, Argentina).

*Cepas patrones:* se utilizaron como cepas patrones las siguientes levaduras: *S. cerevisiae* ATCC 9763 cedida por la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) "Dr. Carlos G. Malbrán", Argentina y *S. cerevisiae*, cepa comercial IOC 18-2007, del Institut Oenologique de Champagne, Francia.

## Propiedades enológicas

**Curva de calibrado:** se partió de una suspensión inicial de *S. cerevisiae*. A partir de ésta, se hicieron 5 diluciones seriadas con caldo YPD. Para todas las diluciones se determinó la densidad óptica (DO) mediante la lectura de la absorbancia a  $\lambda=620$  nm y se realizó recuento en agar YPD (se incubó 48 horas a  $25\pm 2$  °C).

**Obtención del inóculo:** todas las cepas de levaduras se inocularon previamente en 5 mL de caldo YPD e incubaron durante 24 horas en estufa a  $25\pm 2$  °C.

**Capacidad de fermentar glucosa:** se utilizaron tubos provistos de tapón *airlock*, con 30 mL de caldo YPD suplementado con 10% glucosa. Se inocularon 100  $\mu$ L de un inóculo de  $10^6$ - $10^8$  UFC/mL (se corroboró con la medida de la DO a  $\lambda=620$  nm), se incubaron durante 12 días en estufa a  $25\pm 2$  °C. La pérdida de peso se registró diariamente con balanza analítica, para valorar los gramos de CO<sub>2</sub> liberados. Los resultados se expresaron como g CO<sub>2</sub>/L de suspensión microbiana.

**Tolerancia a anhídrido sulfuroso:** se inocularon 50  $\mu$ L de la suspensión de levaduras  $10^6$ - $10^8$  UFC/mL (se corroboró con la medida de la DO a  $\lambda=620$  nm) en tubos con 5 mL de caldo YPD suplementado con metabisulfito de potasio, de manera de lograr 100 y 150 mg/L de anhídrido sulfuroso. Se incubaron en estufa a  $25\pm 2$  °C durante 72 horas. Se determinó el crecimiento mediante la observación de la turbidez del tubo.

**Tolerancia al etanol:** se inocularon 50  $\mu$ L de suspensión de levaduras  $10^6$ - $10^8$  UFC/mL (se corroboró con la medida de la DO a  $\lambda=620$  nm) en tubos con 5 mL de caldo YPD suplementado con 10, 12,5 y 15 % v/v de etanol. Se incubaron a  $25\pm 2$  °C por 48 horas. Se determinó el crecimiento mediante la observación de la turbidez del tubo.

**Propiedades de floculación:** 10 mL de caldo YPD se inocularon con 50  $\mu$ L de suspensión de levaduras  $10^6$ - $10^8$  UFC/mL (se corroboró con la medida de la DO a  $\lambda=620$  nm) y se incubaron a  $25\pm 2$  °C por 72 horas. El grado de floculación se determinó a simple vista, mediante una escala subjetiva: + (las células floculan), ++ (las células floculan en menor tiempo) y - (las células no floculan).

**Determinación de factor killer:** se evaluó la presencia del factor *killer* en las cepas de levaduras, empleando el agar YEPD-MB (0,3 % de extracto de levadura, 0,3 % de extracto de malta, 0,5 % de peptona, 1 % de glucosa, 1,5 % de agar y 0,003 % de azul de metileno) ajustado a pH 4,5. Se utilizó como referencia la cepa *S. cerevisiae* IOC 18-2007 Institut Oenologique de Champagne productora de toxina K<sub>2</sub>. La cepa sensible a la toxina K<sub>2</sub> (*S. cerevisiae* Lalvin 71B®) y las cepas a ensayar se incubaron en caldo YPD durante 24 horas a  $25 \pm 2$ °C. A partir de estos cultivos se prepararon inóculos de  $1 \times 10^6$  células/mL. Un volumen de 400  $\mu$ L del inóculo de la cepa sensible se depositó en placas de Petri con agar YEPD-MB, con hisopo estéril se formó un "césped" uniforme. Se dejó reposar aproximadamente 1 hora para eliminar el exceso de humedad. Posteriormente, sobre el césped, se inocularon las cepas de levaduras a evaluar en forma de estría gruesa. Se incubaron a  $25\pm 2$  °C por 72 horas. La presencia de una zona clara de inhibición delineada por un borde azul indicó la producción de toxina K<sub>2</sub> y por consecuencia la muerte celular de la levadura sensible; en cambio, la ausencia del halo demostró que la levadura no produce la toxina K<sub>2</sub>. Debido a que el interés de los vitivinicultores está orientado en la utilización de *S. cerevisiae* para la elaboración de vinos, esta actividad se realizó sólo para esta especie.

## Síntesis de resultados y conclusiones

### Aislamiento e identificación

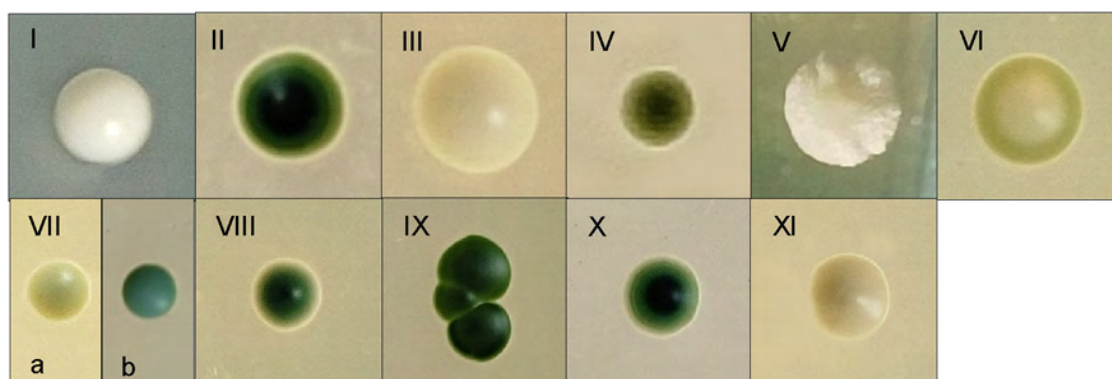
Se tomaron muestras de uvas de las variedades Tannat y Marselan de la Finca Renacer ubicada en La Criolla (departamento Concordia, Entre Ríos, latitud  $-31^{\circ}14'39''$ , longitud  $-58^{\circ}07'17''$ ), durante las vendimias 2019, 2020 y 2021. En total se aislaron 210 colonias de levaduras: 34, 35 y 41 de la variedad Tannat y 27, 38 y 35 de Marselan. Se eligió la siguiente nomenclatura para las levaduras aisladas: **T** para las procedentes de uvas Tannat y **M** para las provenientes de Marselan.

Las colonias de levaduras se analizaron según su morfología y color en agar nutritivo WL. Posteriormente se realizó la observación microscópica. Los resultados se muestran en la Tabla 1, en la que las levaduras aisladas se agruparon en función de estas características y los resultados de las pruebas moleculares de identificación; también se indica el número de cepas de cada una de las especies aisladas. Cavazza et al. (1992), Pallmann et al. (2001), Polizzotto et al. (2016) y Li et al. (2018) informaron que la mayoría de las especies de levadura que se encuentran típicamente en las fermentaciones de mostos de uva podrían diferenciarse según su morfología y/o color de colonia en medio WL. Sin embargo, se observó que el color de algunas colonias se modificó con el paso de los días. Como se puede observar en la Figura 1 (VII a, b), *C. parasilopsis* inicialmente formó colonias de color verde pálido con borde blanco, brillantes y después de 7 días, el color cambió a verde esmeralda.

**Tabla 1.** Características macroscópicas y microscópicas, productos de PCR y fragmentos de restricción de las levaduras aisladas a partir de uvas Tannat y Marselan.

Grupo de levaduras aisladas (N)	Morfología		PCR-ITS (bp)	Fragmentos de restricción (bp)			Especies de levaduras, mediante PCR-RFLP
	Macro	Micro		Hinf I	Cfol	HaeIII	
I (6)	Blancas, bordes y superficie lisa y definida, suaves y de consistencia cremosa.	Redondas y globosas	380	190-180	220-95-80	280-100	<i>M. pulcherrima</i>
II (2)	Verdes, centro negro, convexa con centro elevado	Ovaladas	420	230-100-100	130-100-90-85	280-120	<i>I. terricola</i>
III (1)	Color crema con borde blanco, consistencia cremosa.	Apiculadas	450	280-100-90	250-100-90	320-80	<i>P. occidentalis</i>
IV (2)	Color verde olive con centro negro	Ovaladas	450	280-220	150-100-80	310-110	<i>P. bruneiensis</i>
V (73)	Blancas, opacas, superficie irregular, convexas	Redondas	520	220-160-140	220-180-75-50	400-100	<i>P. kudriavzevii</i>
VI (3)	Color crema, brillantes, convexas con borde verde-grisáceo	Alargadas	550	280-270	290-260	450-100	<i>C. albicans</i>

VII (2)	Verde pálido con borde blanco brillante. A los 6 días, color verde esmeralda.	Alargadas	550	260-240	310-250	420-120	<i>C. parasilopsis</i>
VIII (7)	Verde oscuro, borde regular.	Alargadas	760	350-200-180	310-300-100	760	<i>H. opuntiae</i>
IX (28)	Color verde intenso con borde regular, planas, superficie suave y opaca, consistencia cremosa.	Ojivales	760	370-190-170	320-315-100	760	<i>H. uvarum</i>
X (2)	Color verde pálido con borde regular	Redondas	770	380-350	260-150-140	650-80	<i>H. vineae</i>
XI (84)	Color blanco, superficie y bordes lisos	Globosas/ovoidales	880	370-365-140	380-365-140	320-220-180-145	<i>S. cerevisiae</i>
XI	Color blanco, superficie y bordes lisos	Globosas/ovoidales	880	370-365-140	380-365-140	320-220-180-145	<i>S. cerevisiae</i> ATCC 9763



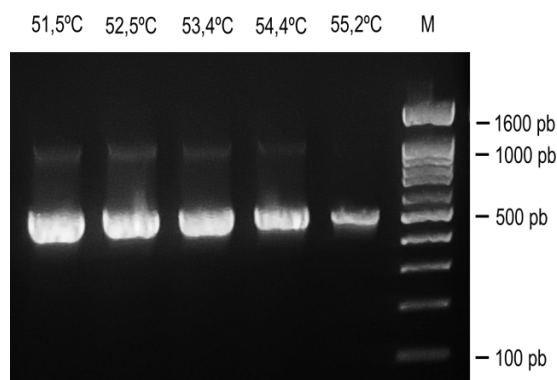
**Figura 1.** Fotografías de morfotipos de colonias de levaduras en agar WL. I: *M. pulcherrima*; II: *I. terricola*; III: *P. occidentalis*; IV: *P. bruneiensis*; V: *P. kudriavzevii*; VI: *C. albicans*; VII: *C. parasilopsis*, a: luego de 72 h. de la inoculación, b: luego de 7 días de la inoculación; VIII: *H. opuntiae*; IX: *H. uvarum*; X: *H. vineae*; XI: *S. cerevisiae*.

*H. opuntiae* y *P. occidentalis* han sido aisladas frecuentemente en mostos de uva y vinos (Drumonde-Neves et al., 2021); sin embargo, sus características macroscópicas en el agar WL, no han sido documentadas (Tabla 1, Figura 1). *P. bruneiensis*, se ha identificado en aislados de flores de hibisco (Sipiczki, 2012) y manzanas (Liu et al., 2022), pero no se la ha encontrado en uvas y vinos.

Dado que *P. kudriavzevii* exhibió colonias blancas y opacas, muy similares a *S. cerevisiae*, su diferenciación se hizo dificultosa (Figura 1). Durante las etapas media y final de la fermentación espontánea, según la morfología de las colonias observada en agar WL, se pensó que la misma estaba dominada por *S. cerevisiae*. Sin embargo; los ensayos de identificación molecular demostraron que, además, estaba presente *P. kudriavzevii*. Asimismo, el crecimiento de esta especie en tubos con caldos mostró un comportamiento diferente ya que formó partículas aglomeradas blancas en la pared del tubo, por encima de la superficie del líquido (hasta 2 cm). Estas características no han sido reportadas por otros investigadores.



Para la identificación molecular, primeramente, se optimizó la reacción de PCR de la región ITS-5.8S, modificando la temperatura de *annealing*. La mejor temperatura encontrada fue 55,2 °C (Figura 2).



**Figura 2.** Amplificación de la región ITS-5.8S de levaduras con iniciadores ITS1 y ITS4, en gel de agarosa 1,5% y 0,4 µg/mL de bromuro de etidio. M: marcador de peso molecular (100 pb).

Las 210 cepas ensayadas mostraron productos de PCR de diferentes tamaños, desde 380 pb hasta 880 pb (Tabla 1). Posteriormente, estos productos fueron digeridos con las enzimas de restricción *CfoI*, *HaeIII* y *HinfI* (Pham et al., 2011). La digestión produjo 11 perfiles de restricción diferentes (Tabla 1).

*S. cerevisiae* y *P. kudriavzevii* fueron las especies en las que más cepas fueron aisladas. Contribuyeron con el 40 % y el 35 % de todos los aislamientos en ambas variedades, seguidas por *H. uvarum* (13 %). Otras especies distintas de *Saccharomyces* se identificaron con menor frecuencia (Tabla 1). *M. pulcherrima* se aisló de ambas variedades, mientras que *P. occidentalis*, *P. bruneiensis*, *C. albicans* y *C. parasilopsis* se encontraron solo en Marselan y *H. opuntiae*, *I. terricola* y *H. vineae*, en uva Tannat. Algunas de estas especies de levadura (*H. uvarum*, *H. vineae*, *C. albicans*, *P. opuntiae*, *C. parasilopsis*, *I. terricola* y *P. kudriavzevii*) han sido ampliamente descritas en uvas de otras regiones (Drumonde-Neves et al., 2021; Guaragnella et al., 2020; Raymond Eder et al., 2017; Zabuvec et al., 2020)

Es bien sabido que *S. cerevisiae* es la especie dominante en la fermentación espontánea de mostos de uva. Sin embargo, existen pocos estudios que reconozcan a *P. kudriavzevii* como una especie fermentadora apta para procesos de vinificación (Aponte & Blaiotta, 2016; del Mónaco et al., 2016; Shi et al., 2019).

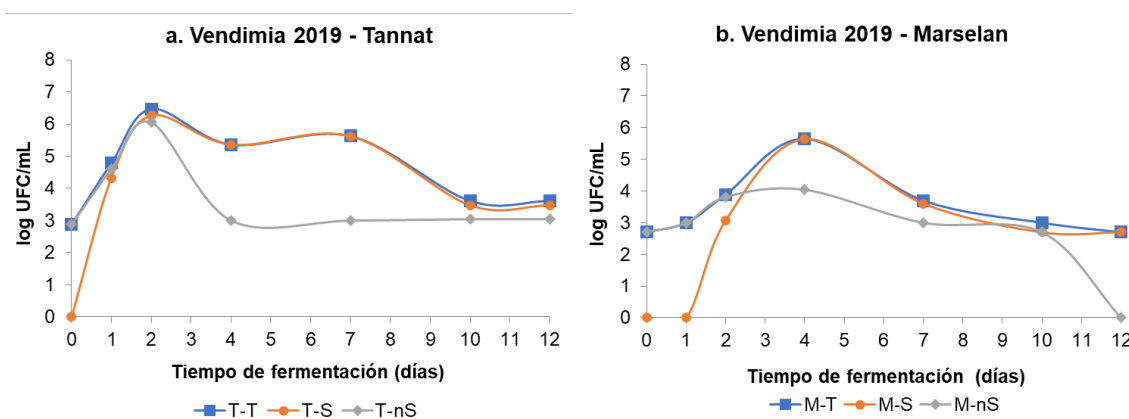
## Evolución de las fermentaciones espontáneas

### Recuentos microbianos

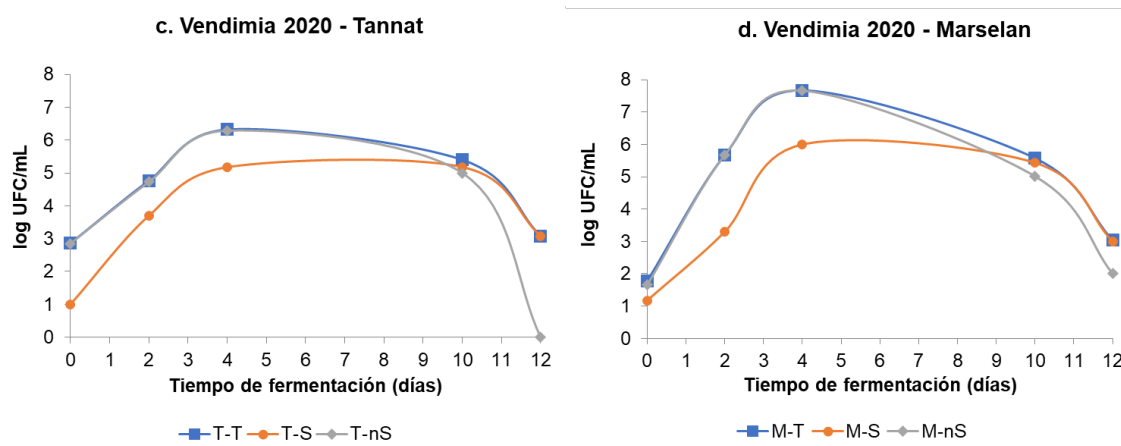
Levaduras no-*Saccharomyces* es un término coloquial que se usa entre los microbiólogos de la industria del vino, que incluye muchas especies de levaduras diferentes y se pueden aislar de las uvas y de los mostos en los primeros días de fermentación espontánea (Barragán-Castillo et al., 2020; Raymond Eder et al., 2017).

Durante las fermentaciones espontáneas de los mostos de uvas se realizaron recuentos de levaduras totales y de levaduras no-*Saccharomyces*. En las Figuras 2, 3 y 4 se observa que el recuento total de levaduras al inicio de la fermentación coincide con el de las no-*Saccharomyces* y su valor es cercano a 3 Log UFC/g, similar al reportado

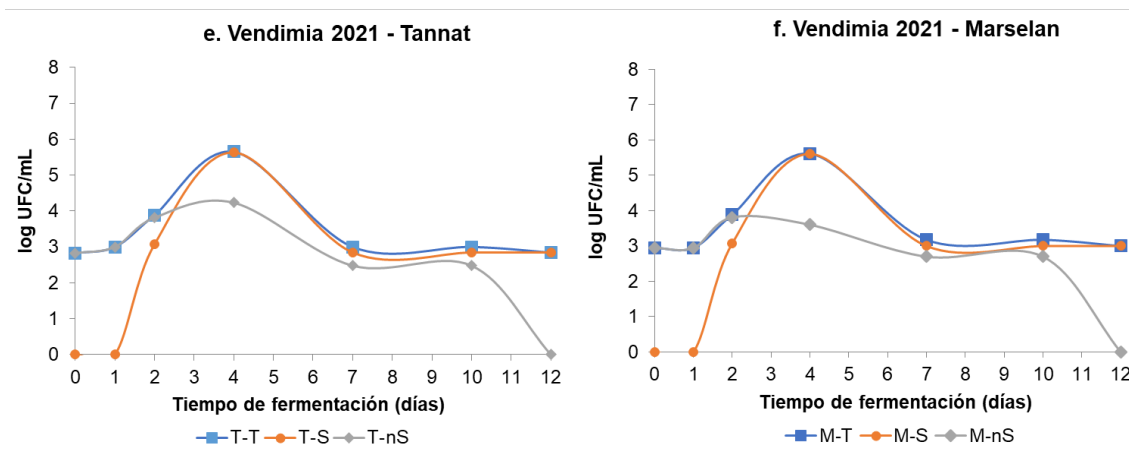
por otros autores (Barragán-Castillo et al., 2020; Mendes et al., 2017; Raymond Eder et al., 2017). Con el transcurso de los días, los recuentos totales aumentan por encima de 6 Log UFC/g, de igual manera que lo informado por Raymond Eder et al. (2017). Al mismo tiempo, aparecen las levaduras *Saccharomyces*, en detrimento de las no-*Saccharomyces* que disminuyen hasta valores no detectables en la placa de Petri, excepto en la variedad Tannat de la vendimia 2019 que mantuvo un valor cercano a 3 Log UFC/g y en Marselan de la vendimia 2020 con un valor de 2 Log UFC/g.



**Figura 2.** Fermentación espontánea de mostos. a) Dinámica de la población de levaduras de uvas Tannat, vendimia 2019: levaduras totales (T-T), *Saccharomyces* sp. (T-S) y no *Saccharomyces* sp. (T-nS). b) Dinámica de la población de levaduras de uvas Marselan, vendimia 2019: levaduras totales (M-T), *Saccharomyces* sp. (M-S) y no *Saccharomyces* sp. (M-nS).



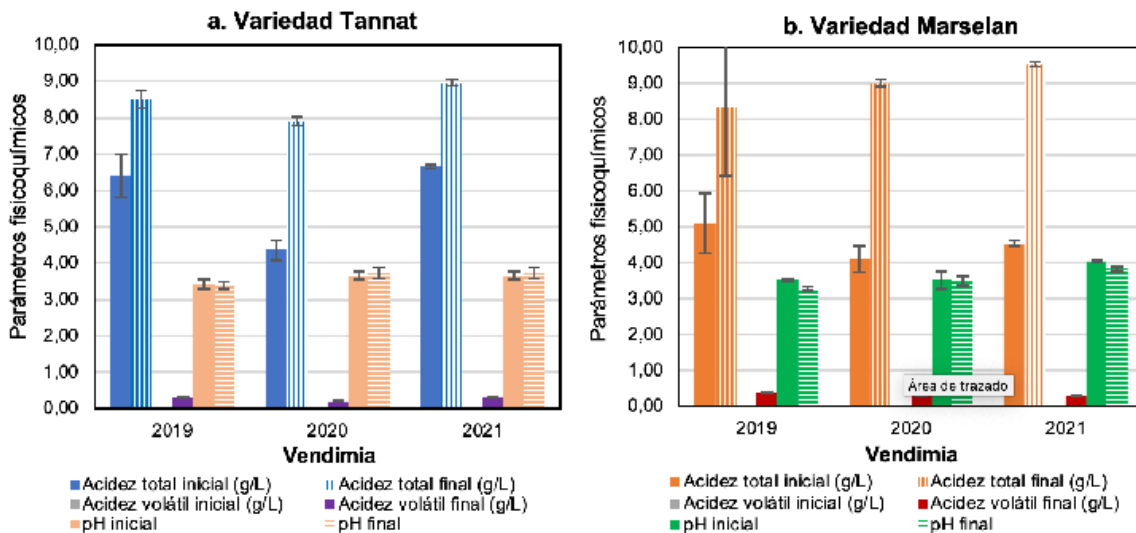
**Figura 3.** Fermentación espontánea de mostos. c) Dinámica de la población de levaduras de uvas Tannat, vendimia 2020: levaduras totales (T-T), *Saccharomyces* sp. (T-S) y no *Saccharomyces* sp. (T-nS). d) Dinámica de la población de levaduras de uvas Marselan, vendimia 2020: levaduras totales (M-T), *Saccharomyces* sp. (M-S) y no *Saccharomyces* sp. (M-nS).



**Figura 4.** Fermentación espontánea de mostos. e) Dinámica de la población de levaduras de uvas Tannat, vendimia 2021: levaduras totales (T-T), *Saccharomyces* sp. (T-S) y no *Saccharomyces* sp. (T-nS). f) Dinámica de la población de levaduras de uvas Marselan, vendimia 2021: levaduras totales (M-T), *Saccharomyces* sp. (M-S) y no *Saccharomyces* sp. (M-nS).

### Parámetros fisicoquímicos

La mayor acidez inicial se registró en uvas de la variedad Tannat de las vendimias 2019 y 2021 (Figura 5a), mientras que los menores valores fueron para la variedad Marselan de la vendimia 2020 (Figura 5b). Para las tres vendimias, en ambas variedades, la acidez titulable determinada al finalizar los procesos fermentativos, resultó levemente superior a lo informado en otros estudios (Franco-Bañuelos et al., 2017; Piccardo & Zamora, 2021). A pesar de este aumento, los valores son igualmente bajos. Para otras variedades, otros autores han reportado una disminución de este parámetro en condiciones similares (Raymond Eder et al., 2017, 2018).

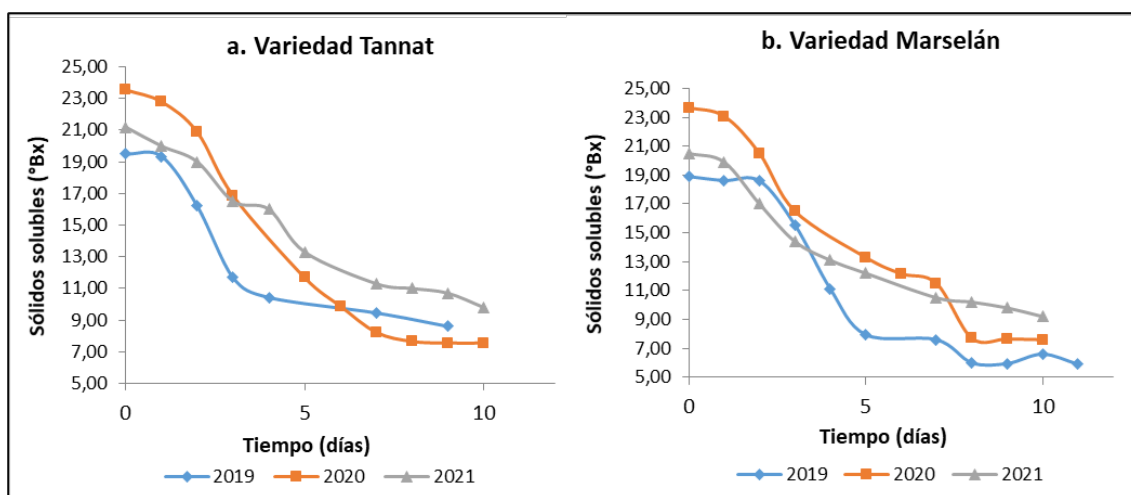


**Figura 5.** Acidez total, acidez volátil y pH de los mostos de uvas Tannat (a) y Marselan (b) al inicio y final de las fermentaciones espontáneas.

Durante la fermentación alcohólica, las levaduras producen cantidades variables de acidez volátil, según la cepa de levadura, el contenido de azúcar y la temperatura de

fermentación. Cioch-Skoneczny et al. (2021), indicaron que se permiten valores entre 0,2 y 0,8 g/L, aunque sin exceder los 1,3 g/L. Las determinaciones en ambas variedades, durante las tres vendimias, estuvieron comprendidas entre 0,20 y 0,38 g ácido acético/L (Figura 5), por lo que se consideran mostos aceptables.

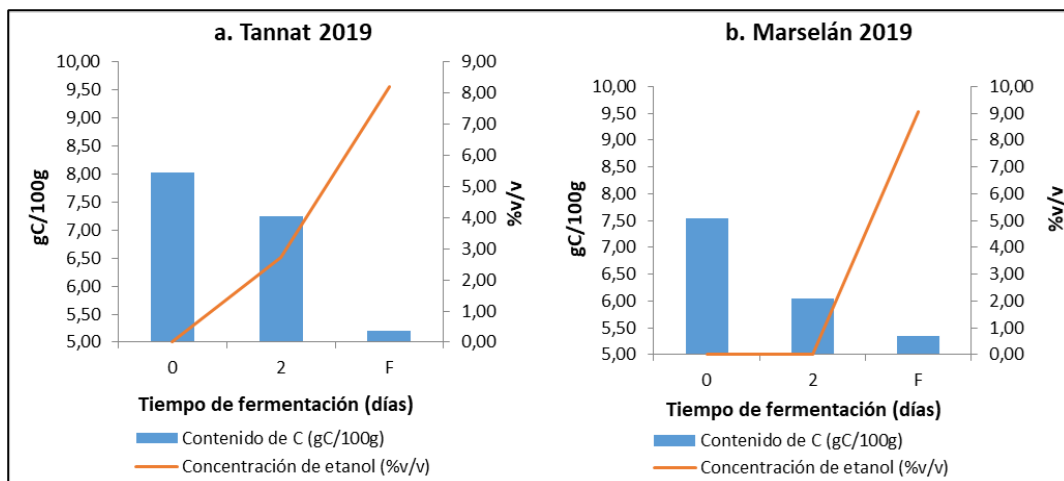
La evolución de las fermentaciones espontáneas de los mostos de ambas variedades se indica en las Figuras 6a y 6b. En general, se aprecia la detención del proceso fermentativo a los 8 días del inicio. Los sólidos solubles para ambas variedades resultaron mayores en la vendimia 2020, observándose luego de las fermentaciones la mayor disminución de este parámetro para la misma vendimia. Los valores obtenidos son del orden de otras uvas tintas estudiadas (Biniari et al., 2020).



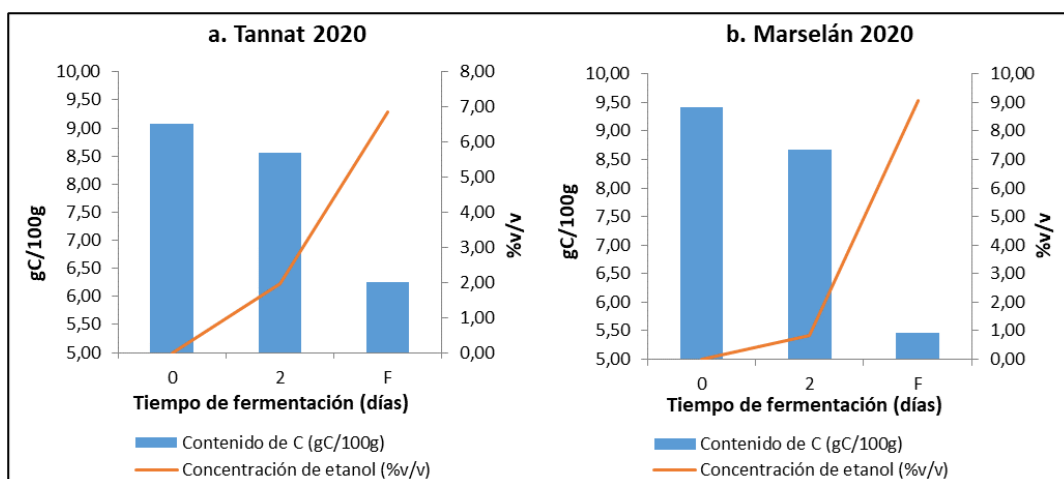
**Figura 6.** Evolución de sólidos solubles en mostos de Tannat (a) y Marselan (b) fermentados espontáneamente.

Las concentraciones finales de etanol son del orden de otras informadas en fermentaciones alcohólicas realizadas con similares concentraciones iniciales de sólidos solubles y parámetros ambientales (Raymond Eder et al., 2017, 2018).

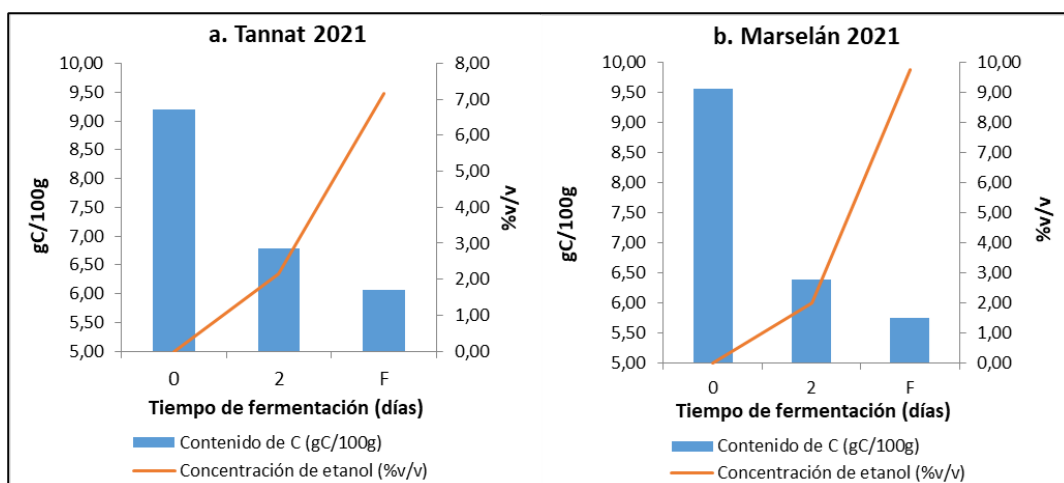
La constante reducción de la concentración de Carbono hacia el final de todos los procesos ensayados se observa en las Figuras 7, 8 y 9. Esto se relaciona con la pérdida de dióxido de carbono producido durante la fermentación alcohólica. Asimismo, se aprecia el incremento en la concentración de etanol, en los mismos periodos muestreados, indicativo del avance del proceso fermentativo.



**Figura 7.** Concentración de etanol y contenido de Carbono durante la fermentación espontánea de mostos de Tannat (a) y Marselán (b), vendimia 2019.



**Figura 8.** Concentración de etanol y contenido de Carbono durante la fermentación espontánea de mostos de Tannat (a) y Marselán (b), vendimia 2020.



**Figura 9.** Concentración de etanol y contenido de Carbono durante la fermentación espontánea de mostos de Tannat (a) y Marselán (b), vendimia 2021.

### Propiedades enológicas

Debido a que no todas las cepas de levaduras nativas que pueden ser aisladas de las uvas son relevantes para llevar a cabo fermentaciones alcohólicas exitosas en mostos de uvas, se realizó una evaluación de las principales características enológicas de las cepas aisladas para su posible uso en la producción de vino. Además, se incluyó dos cepas de *S. cerevisiae*, una de ellas conocida por su potencial enológico previamente informado (*S. cerevisiae*, IOC 18-2007) y *S. cerevisiae* ATCC 9763. Para ello, se determinaron algunas características esenciales, como la capacidad de tolerar hasta 15,0% (v/v) de etanol, el poder fermentativo, capacidad de floculación y la tolerancia al  $\text{SO}_2$ .

**Poder fermentativo:** las levaduras que se utilizan en fermentaciones de mostos de uvas deben ser capaces de consumir en un tiempo razonable los azúcares presentes, garantizando que el proceso de vinificación llegue a término. Para determinar la capacidad de fermentación de la glucosa, se utilizaron tubos con tapón *airlock* que permitió observar el desprendimiento de  $\text{CO}_2$  como consecuencia de la misma. El proceso fue monitoreado registrando la pérdida de peso de cada tubo como medida indicativa del desprendimiento de  $\text{CO}_2$ . Luego de que transcurrieron 12 días, el peso se mantuvo constante y se dio por terminada la fermentación.

Algunos autores definen el “vigor fermentativo” como la cantidad de  $\text{CO}_2$  producido por las cepas hasta el tercer día de fermentación de la glucosa, es decir durante la fase tumultuosa (Acuña-Fontecilla et al., 2017; Vaudano et al., 2019). Si se tiene en cuenta como valor mínimo de referencia, al obtenido de la fermentación de la glucosa con la levadura comercial para vinificación (IOC 18-2007) (63 g  $\text{CO}_2$ /L), el 49,06 % de las cepas de levaduras nativas aisladas de Tannat produjeron desprendimiento de  $\text{CO}_2$  mayores a 63 g  $\text{CO}_2$ /L en ese periodo. El 38,68 % registraron valores entre 30 y 63 g  $\text{CO}_2$ /L, mientras que en el restante 12,26 %, la producción fue inferior a 30 g  $\text{CO}_2$ /L. Para la variedad Marselan, se observa que el 31,68 % de las cepas de levaduras aisladas presentaron valores superiores a 63 g  $\text{CO}_2$ /L, mientras que el 49,50 % produjeron entre 30 y 63 g  $\text{CO}_2$ /L. De acuerdo a los resultados obtenidos, se observa que la mayor proporción de cepas de levaduras nativas con elevado vigor fermentativo, como así también los valores máximos registrados, corresponden a la variedad Tannat. El vigor fermentativo de las levaduras nativas ensayadas permitió una primera selección de cepas potencialmente aptas para una adecuada vinificación: *P. kudriavzevii* (33 cepas, 16% del total de aislados), *H. uvarum* (9 cepas, 4% del total de aislados), *S. cerevisiae* (39 cepas, 19% del total de aislados).

Se destaca que en algunos aislados estudiados se observó una disminución pronunciada del contenido de sólidos solubles (indicando el consumo de glucosa) y gran desprendimiento de gas. Dentro de las cepas se encuentran las identificadas como *P. kudriavzevii* (5 cepas), *M. pulcherrima* (1 cepa), *H. uvarum* (2 cepas); *H. vineae* (2 cepas) y *S. cerevisiae*: (9 cepas).

**Tolerancia al etanol:** de acuerdo a los resultados hallados se observa que, el 50,47 % de las cepas ensayadas se desarrollaron en 15% v/v de etanol, demostrando su tolerancia al mismo. De éstas, el 35,71 % se corresponde a cepas aisladas de Tannat y el 14,76 % a las aisladas de Marselan. Si sólo se tiene en cuenta las cepas señaladas con un mayor poder fermentativo del apartado anterior, sólo algunas de ellas toleraron el 15% v/v de etanol: *P. kudriavzevii* (17 cepas), *H. uvarum* (5 cepas), *S. cerevisiae* (23 cepas).

**Tolerancia al  $\text{SO}_2$ :** existen levaduras que pueden ser seleccionadas en base a la capacidad de resistir diferentes concentraciones de  $\text{SO}_2$ . Las múltiples propiedades que

presenta este compuesto en la elaboración de los vinos han supuesto que en la actualidad no exista ninguna otra sustancia o tratamiento alguno capaz de sustituirlo (Girard, 2004). Las propiedades positivas del dióxido de azufre superan ampliamente las negativas, siendo hoy en día un instrumento indispensable en la tecnología de elaboración y conservación de vinos. Dentro de las primeras cabe destacar los efectos antioxidantes y sus propiedades antimicrobianas selectivas especialmente frente a bacterias, entre otros (Ribéreau Gayon et al., 2003). En general, la mayoría de las cepas aisladas demostraron una resistencia a 100 y a 150 ppm de  $\text{SO}_2$ ; además, se observó que algunos aislados tuvieron un abundante crecimiento con la máxima concentración de  $\text{SO}_2$ , aunque no evidenciaron vigor fermentativo ni resistencia al 15 % (v/v) de etanol: *P. kudriavzevii* (3 cepas), *M. pulcherrima* (1 cepa), *H. opuntiae* (1 cepa) y *S. cerevisiae* (1 cepa). Por otro lado, todas las cepas que se destacaron por su capacidad fermentativa y resistencia al 15% (v/v) de etanol, se desarrollaron a la máxima concentración de  $\text{SO}_2$  ensayada. Hay que tener en cuenta que, al realizar este ensayo se utilizó una alta concentración de  $\text{SO}_2$ , que rara vez se utiliza durante la fermentación enológica (Vaudano et al., 2019).

**Floculación:** la floculación es una característica peculiar de las levaduras y permite la clarificación de los mostos en fermentación. Este carácter fisiológico puede describirse como una aptitud natural de las cepas de levadura para formar una biomasa microbiana compacta que desciende al fondo del medio de fermentación y evita etapas posteriores de filtración (Suranská et al., 2016). Algunas cepas que se destacaron por su capacidad fermentativa, resistencia al 15% (v/v) de etanol y a 150 ppm de  $\text{SO}_2$  demostraron su capacidad de floculación, dentro de los grupos reconocidos como: *P. kudriavzevii* (12 cepas), *H. uvarum* (5 cepas) y *S. cerevisiae* (15 cepas). Además, 7 cepas identificadas como *P. kudriavzevii* se desarrollaron produciendo abundante gas, dejando el medio de cultivo efervescente y con abundante espuma. En la bibliografía consultada no se ha encontrado que otros autores hicieran mención a estas diferencias en el crecimiento de *P. kudriavzevii*.

**Factor killer:** el fenotipo *killer* en una cepa de levadura vínica otorga a ésta una ventaja competitiva en procesos industriales frente a las cepas sensibles de su misma u otras especies. La ausencia de este factor en las levaduras iniciadoras de procesos de fermentación puede poner en peligro su implantación durante la vinificación. Por ello, la búsqueda de la toxina *killer* se suma al resto de parámetros analizados para la selección de levaduras con propiedades enológicas óptimas (Ribéreau Gayon et al., 2003).

Se realizó la evaluación del efecto *killer* de 84 cepas de levaduras nativas identificadas como *S. cerevisiae* (41 obtenidas a partir de la variedad Marselan y 43 de Tannat). Se observó que el 40,48% de las cepas de *S. cerevisiae* ensayadas presentaron el factor *killer*. Los halos de inhibición y muerte de la cepa sensible, variaron entre 1,3 a 4,5 mm, encontrándose los mayores diámetros para las cepas M36 (4,5mm), M39 (3,5mm) provenientes de uvas Marselan y T70 (3,7 mm) de Tannat. Estos valores resultaron superiores al producido por la cepa de referencia (*S. cerevisiae* IOC 18-2007) que fue de 2,9mm.

Como se ha mencionado previamente, la presencia del fenotipo *killer* en las levaduras destinadas a vinificación es una característica deseable. Por lo tanto, si tenemos en cuenta todos los resultados de las pruebas enológicas realizadas y la producción de la toxina *killer*, las cepas de levaduras nativas T44, T69, T70, T87, T96, T98, T100, M47, M60, podrían ser una primera selección para ensayarlas como fermento iniciador en mostos de uvas destinados a vinificación.

## Discusión general de características enológicas

Luego de realizar los ensayos de las propiedades enológicas de las 210 cepas de levaduras aisladas de uvas Tannat y Marselan, se seleccionaron para ser probadas en mostos de uvas todas aquellas que presentaron gran poder fermentativo, es decir pérdida de CO<sub>2</sub> mayores a 63 g/L, crecimiento y resistencia a 15% (v/v) de etanol y 150 ppm de SO<sub>2</sub> y floculación adecuada. Las mismas son: *P. kudriavzevii* (12 cepas), *H. uvarum* (5) y *S. cerevisiae* (15). Es ampliamente conocido que *S. cerevisiae* es la especie más utilizada en la elaboración de vinos y *H. uvarum* ha sido reportada en vinificación por algunos autores en los últimos años (Capozzi et al., 2019; Guaragnella et al., 2020; Prestianni et al., 2022). En cuanto a *P. kudriavzevii*, hay estudios que destacan el uso de esta especie por sus capacidades fermentativas y aportes aromáticos al vino (del Mónaco et al., 2014, 2016; Pongcharoen et al., 2018; Shi et al., 2019; Nieto-Sarabia et al., 2022).

## CONCLUSIONES

Se aislaron e identificaron levaduras nativas de la fermentación espontánea de uvas de las variedades Tannat y Marselan del departamento Concordia, Entre Ríos. En las mismas, se observó que *P. kudriavzevii* (levadura no *Saccharomyces*) coexistió con *S. cerevisiae* en las diferentes etapas de la fermentación alcohólica. *S. cerevisiae* y *P. kudriavzevii* fueron las especies en las que más cepas fueron aisladas. Contribuyeron con el 40 % y el 35 % de todos los aislamientos en ambas variedades, seguidas por *H. uvarum* (13 %). Otras levaduras identificadas fueron: *M. pulcherrima*, *I. terricola*, *P. occidentalis*, *P. bruneiensis*, *C. albicans*, *C. parasilopsis*, *H. opuntiae* y *H. vineae*. Además, se evaluaron las principales características enológicas de las levaduras aisladas: capacidad de tolerar hasta 15,0% (v/v) de etanol, poder fermentativo, capacidad de floculación, tolerancia al SO<sub>2</sub> y el factor *killer*. De acuerdo a los resultados, 32 cepas podrían ser aptas para procesos de vinificación: 5 *H. uvarum*, 12 *P. kudriavzevii* y 15 *S. cerevisiae*. Es necesario continuar estudios para determinar el rol de *P. kudriavzevii* en las fermentaciones de mosto de uva, así como el comportamiento enológico en cofermentaciones con *S. cerevisiae*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña-Fontecilla, A., Silva-Moreno, E., Ganga, M. A., & Godoy, L. (2017). Evaluation of antimicrobial activity from native wine yeast against food industry pathogenic microorganisms. *CYTA - Journal of Food*, 15(3), 457–465. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1297961>
- Albergaria, H. & Arneborg, N. (2016). Dominance of *Saccharomyces cerevisiae* in alcoholic fermentation processes: role of physiological fitness and microbial interactions. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100: 2035-46. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7255-0>
- Aponte, M. & Blaiotta, G. (2016). Potential role of yeast strains isolated from grapes in the production of Taurasi DOCG *Frontiers in Microbiology*, 1: 809. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00809>
- Barragán-Castillo, Y. M., Miranda-Castilleja, D. E., Aldrete-Tapia, J. A., Arvizu-Medrano, S. M., & Martínez-Peniche, R. Á. (2020). Native yeast from distinct organs of grapevines



- established in Queretaro, Mexico, and their potential oenological utilization. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 35(1), 30–41. <https://doi.org/10.1051/ctv/20203501030>
- Belda, I., Navascués, E., Alonso, A., Marquina, D., & Santos, A. (2014). Microbiología del proceso de vinificación: selección de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* autóctonas con óptimas propiedades enológicas. *Reduca (Biología). Serie Microbiología*, 7(1), 1–14. <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/1593>
- Biniari, K., Xenaki, M., Daskalakis, I., Rusjan, D., Bouza, D., & Stavrakaki, M. (2020). Polyphenolic compounds and antioxidants of skin and berry grapes of Greek *Vitis vinifera* cultivars in relation to climate conditions. *Food Chemistry*, 307(May 2019), 125518. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125518>
- Capozzi, V., Berbegal, C., Tufariello, M., Grieco, F., & Spano, G. (2019). Impact of co-inoculation of *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora uvarum* and *Oenococcus oeni* autochthonous strains in controlled multi starter grape must fermentations. *LWT*, 109(March), 241–249. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.045>
- Cavazza, A., Grando, M., & Zini, C. (1992). Rilevazione della flora microbica di mosti e vini. *Dossier Biotecnologie*, 9, 1–4.
- Cioch-Skoneczny, M., Satora, P., Skoneczny, S., & Pater, A. (2020). Determination of the oenological properties of yeast strains isolated from spontaneously fermented grape musts obtained from cool climate grape varieties. *European Food Research and Technology*, 246(11), 2299–2307. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03574-0>
- del Mónaco, S. M., Barda, N. B., Rubio, N. C., & Caballero, A. C. (2014). Selection and characterization of a Patagonian *Pichia kudriavzevii* for wine deacidification. *Journal of Applied Microbiology*, 117(2), 451–464. <https://doi.org/10.1111/jam.12547>
- del Mónaco, S. M., Rodríguez, M. E., & Lopes, C. A. (2016). *Pichia kudriavzevii* as a representative yeast of North Patagonian winemaking terroir. *International Journal of Food Microbiology*, 230, 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.04.017>
- Drumonde-Neves, J., Fernandes, T., Lima, T., Pais, C., & Franco-Duarte, R. (2021). Learning from 80 years of studies: A comprehensive catalogue of non-*Saccharomyces* yeasts associated with viticulture and winemaking. *FEMS Yeast Research*, 21(3), 1–13. <https://doi.org/10.1093/femsyr/foab017>
- Fleet, G. H. (2008). Wine yeasts for the future. *FEMS Yeast Res*, 8, 979–995. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00427.x>
- Franco-Bañuelos, A., Contreras-Martínez, C. S., Carranza-Téllez, J., & Carranza-Concha, J. (2017). Total phenolic content and antioxidant capacity of non-native wine grapes grown in zacatecas, Mexico. *Agrociencia*, 51(6), 661–671.
- Girard, G. (2004). Bases científicas y tecnológicas de la enología. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- Guaragnella, N., Chiara, M., Capece, A., Romano, P., Pietrafesa, R., Siesto, G., Manzari, C., & Pesole, G. (2020). Genome sequencing and comparative analysis of three *Hanseniaspora uvarum* indigenous wine strains reveal remarkable biotechnological potential. *Frontiers in Microbiology*, 10(January), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03133>
- Guillamón, J. M., Sabaté, J., Barrio, E., Cano, J., & Querol, A. (1998). Rapid identification of wine yeast species based on RFLP analysis of the ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region. *Archives of Microbiology*, 169, 387–392.
- Jiang, X., Lu, Y., & Liu, S. Q. (2020). Effects of different yeasts on physicochemical and oenological properties of red dragon fruit wine fermented with *Saccharomyces cer-*

- evisiae*, *Torulaspota delbrueckii* and *Lachancea thermotolerans*. *Microorganisms*, 8(315), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109929>
- Li, J., Hu, W., Huang, X., & Xu, Y. (2018). Investigation of yeast population diversity and dynamics in spontaneous fermentation of Vidal blanc icewine by traditional culture-dependent and high-throughput sequencing methods. *Food Research International*, 112(June), 66–77. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.011>
- Liu, L., Zhao, P.T., Hu, C.Y., Tian, D., Deng, H. & Meng, Y.H., (2022). Screening low-methanol and high-aroma produced yeasts for cider fermentation by transcriptive characterization. *Frontiers in Microbiology*, 13: 1042613. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1042613>
- Mannazzu, I., Domizio, P., Carboni, G., Zara, S., Zara, G., Comitini, F., Budroni, M., & Ciani, M. (2019). Yeast killer toxins: from ecological significance to application. *Critical Reviews in Biotechnology*, 39(5), 603–617. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1601679>
- Martin, V., Valera, M., Medina, K., Boido, E., & Carrau, F. (2018). Oenological impact of the *Hanseniaspora/Kloeckera* yeast genus on wines—A Review. *Fermentation*, 4(3), 76. <https://doi.org/10.3390/fermentation4030076>
- Maturano, Y. P., Mestre, M. V., Kuchen, B., Toro, M. E., Mercado, L. A., Vazquez, F., & Comбина, M. (2019). Optimization of fermentation-relevant factors: A strategy to reduce ethanol in red wine by sequential culture of native yeasts. *International Journal of Food Microbiology*, 289, 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.016>
- Mendes, S. D. C., Ramírez-Castrillón, M., Feldberg, N. P., Bertoldi, F. C., & Valente, P. (2017). Environmental yeast communities in vineyards in the mountains of Santa Catarina State, Brazil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(6), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2298-2>
- Nieto-Sarabia, V. L., Ballinas-Cesatti, C. B., Melgar-Lalanne, G., Cristiani-Urbina, E., & Morales-Barrera, L. (2022). Isolation, identification, and kinetic and thermodynamic characterization of a *Pichia kudriavzevii* yeast strain capable of fermentation. *Food and Bioprocess Technology*, 131, 109–124. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.10.013>
- OIV Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis, (2020). Volume 1, Paris, France: International Organisation of Vine and Wine.
- Ortiz, M. J., Barrajon, N., Alves Baffi, M., Arévalo-Villena, M., & Briones, A. (2013). Spontaneous must fermentation: Identification and biotechnological properties of wine yeasts. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 371–377. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.09.019>
- Padilla, B., Gil, J. V., & Manzanares, P. (2016). Past and future of non-*Saccharomyces* yeasts: from spoilage microorganisms to biotechnological tools for improving wine aroma complexity. *Frontiers in Microbiology*, 7(411), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00411>
- Pallmann, C. L., Brown, J. A., Olineka, T. L., Cocolin, L., Mills, D. A., & Bisson, L. F. (2001). Use of WL medium to profile native flora fermentations. *American Journal Enology and Viticulture*, 52(3), 198–203.
- Pham, T., Wimalasena, T., Box, W.G., Koivuranta, K., Storgårds, E., Smart, K.A. & Gibson, B.R., (2011). Evaluation of ITS PCR and RFLP for differentiation and identification of brewing yeast and brewery “wild” yeast contaminants. *Journal of the Institute of Brewing*, 117 (4): 556–68. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2011.tb00504.x>

- Piccardo, D., Favre, G., Pascual, O., Canals, J. M., Zamora, F., & González-Neves, G. (2019). Influence of the use of unripe grapes to reduce ethanol content and pH on the color, polyphenol and polysaccharide composition of conventional and hot macerated Pinot Noir and Tannat wines. *European Food Research and Technology*, 245(6), 1321–1335. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03258-4>
- Piccardo, D., & Zamora, F. (2021). Desarrollo y evaluación de alternativas tecnológicas para reducir el contenido de alcohol y el pH de vinos tintos. *Memoria Investigaciones En Ingeniería*, 20, 24–33. <https://doi.org/10.36561/ing.20.4>
- Polizzotto, G., Barone, E., Ponticello, G., Fasciana, T., Barbera, D., Corona, O., Amore, G., Giammanco, A., & Oliva, D. (2016). Isolation, identification and oenological characterization of non-*Saccharomyces* yeasts in a Mediterranean island. *Letters in Applied Microbiology*, 63(2), 131–138. <https://doi.org/10.1111/lam.12599>
- Pongcharoen, P., Chawneua, J., & Tawong, W. (2018). High temperature alcoholic fermentation by new thermotolerant yeast strains *Pichia kudriavzevii* isolated from sugarcane field soil. *Agriculture and Natural Resources*, 52(6), 511–518. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.11.017>
- Prestianni, R., Matraxia, M., Naselli, V., Pirrone, A., Badalamenti, N., Ingrassia, M., Gaglio, R., Settanni, L., Columba, P., Maggio, A., Bruno, M., Francesca, N., Moschetti, G., & Alfonzo, A. (2022). Use of sequentially inoculation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Hanseniaspora uvarum* strains isolated from honey by-products to improve and stabilize the quality of mead produced in Sicily. *Food Microbiology*, 107(December 2021), 104064. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104064>
- Qvirist, L. A., De Filippo, C., Strati, F., Stefanini, I., Sordo, M., Andlid, T., Felis, G. E., Mattarelli, P., & Cavaleri, D. (2016). Isolation, identification and characterization of yeasts from fermented goat milk of the Yaghnob Valley in Tajikistan. *Frontiers in Microbiology*, 7(1690), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01690>
- Raspor, P., Zupan, J., & Čadež, N. (2007). Validation of yeast identification by in silico RFLP. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 15(3), 267–281. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4581.2007.00097.x>
- Raymond Eder, M. L., Conti, F., & Rosa, A. L. (2018). Differences between indigenous yeast populations in spontaneously fermenting musts from *V. vinifera* L. and *V. labrusca* L. grapes harvested in the same geographic location. *Frontiers in Microbiology*, 9(1320), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01320>
- Raymond Eder, M. L., Reynoso, C., Lauret, S. C., & Rosa, A. L. (2017). Isolation and identification of the indigenous yeast population during spontaneous fermentation of Isabella (*Vitis labrusca* L.) grape must. *Frontiers in Microbiology*, 8(532), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00532>
- Riberéau Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B. & Lonvaud, A. (2003). Tratado de Enología. Tomo 1. Microbiología del vino. Vinificaciones. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Segura, L. E., Kirchmayr, M. R., Flores, E. P., & Gschaedler, Anne, C. (2010). PCR-RFLP de las regiones ITS-5.8S como herramienta de identificación de levaduras: ventajas y desventajas. *E-Gnosis (Online)*, 8, 1–12.
- Shi, W. K., Wang, J., Chen, F. S., & Zhang, X. Y. (2019). Effect of *Issatchenkia terricola* and *Pichia kudriavzevii* on wine flavor and quality through simultaneous and sequential co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. *LWT*, 116. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108477>

- Sipiczki, M., 2012. *Pichia bruneiensis* sp. nov., a biofilm-producing dimorphic yeast species isolated from flowers in Borneo. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62: 3099–3104. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.044974-0>
- Suranská, H., Vránová, D., & Omelková, J. (2016). Isolation, identification and characterization of regional indigenous *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1), 181–190. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.010>
- Varela, C., & Borneman, A. R. (2017). Yeasts found in vineyards and wineries. *Yeast*, 34(3), 111–128. <https://doi.org/10.1002/yea.3219>
- Vaudano, E., Quintero, G., Costantini, A., Pulcini, L., Pessione, E., & Garcia-Moruno, E. (2019). Yeast distribution in Grignolino grapes growing in a new vineyard in Piedmont and the technological characterization of indigenous *Saccharomyces* spp. strains. *International Journal of Food Microbiology*, 289, 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.016>
- OIV Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis, 2020. Volume 1, Paris, France: International Organisation of Vine and Wine;
- Wilson, K., 2001. Preparation of Genomic DNA from Bacteria. *Current Protocols in Molecular Biology*, 56: 2.4.1-2.4.5. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb0204s56>
- Zabukovec, P., Čadež, N. & Čuš, F. (2020). Isolation and identification of indigenous wine yeasts and their use in alcoholic fermentation. *Food Technology and Biotechnology*, 58 (3): 337-47. <https://doi.org/10.17113/ftb.58.03.20.6677>

## INDICADORES DE PRODUCCIÓN

### PUBLICACIÓN:

Isolation and identification of native yeasts from the spontaneous fermentation of grape musts. Autores: Gerard Liliana M, Corrado M. Belén, Davies Cristina V., Soldá Carina A., Dalzotto M. Gabriela, Esteche Sofia. Manuscrito enviado para su publicación en la revista *Food Microbiology* (11/03/2023).

### Presentaciones a Congresos Nacionales

XIX Jornadas Argentinas de Microbiología: “Estudios de levaduras nativas aisladas de fermentaciones espontáneas en uvas de la variedad Marselan de Concordia (ER).” Autores: Corrado, María Belén, Soldá, Carina Alejandra, Davies, Cristina Verónica, Esteche, Sofía Magalí, Gerard, Liliana Mabel. Modalidad: presentación oral virtual y publicación en Libro de Resúmenes. Asociación Argentina de Microbiología (AAM). Tucumán, Argentina, octubre 2021.

Congreso Argentino de Ingeniería (5° CADI, 11° CAEDI y 3° CLADI) edición 2021. “Compuestos fenólicos y actividad antioxidante en uvas de la variedad Tannat de la región de Concordia, Entre Ríos”. Autores: Soldá C.A., Davies C.V., Rojas M.C., Gerard L.M., Corrado M.B. Modalidad: presentación oral y publicación de trabajo completo en Actas del Congreso Argentino y Latinoamericano de Ingeniería 2021. CABA, Argentina, octubre 2021. Certificados pendientes de entrega.

Congreso Argentino de Ingeniería (5° CADI, 11° CAEDI y 3° CLADI) edición 2021. “Implementación de trabajos de investigación con exposiciones virtuales en el dictado de Biotecnología”. Autores: Soldá C.A., Davies C.V., Segovia, S.A. Modalidad: poster y publicación de trabajo completo en Actas del Congreso Argentino y Latinoamericano de Ingeniería 2021. CABA, Argentina, octubre 2021. Certificados pendientes de entrega.

XV Congreso Argentino de Microbiología (CAM 2019), V Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos (V CAMA), V Congreso Latinoamericano de Microbiología de Medicamentos y Cosméticos (CLAMME 2019). "Evolución de la población de levaduras en mostos de uvas de las variedades Tannat y Marselán". Autores: Corrado M. B., Mongelat S., Soldá C., Davies C., Gerard L. Modalidad: póster y publicación en *Libro de Resúmenes del XV Congreso Argentino de Microbiología*. CABA, Argentina, septiembre 2019.

### **Presentaciones a Congresos Internacionales**

9° COSIMP - Congresso de Ciências Farmacêuticas do Mercosul - 9° Simpósio em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Mercosul - XIII CISDEM - Forum de la Catedra Iberoamericana-Suiza de Desarrollo de Medicamentos - VI EPPGCF - Encontro de Pesquisa e Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (forma híbrida: remota y presencial). "Caracterización Físicoquímica de Vinos Tintos Regionales de la Provincia de Entre Ríos, Argentina". Autores: Davies, Cristina; Gerard, Liliana M.; Bello, Fernando; Lare, M. Vanesa; Dalzotto, M. Gabriela; Urroz, Karla; Soldá, Carina A.; Corrado, M. Belén. Modalidad: presentación de resumen y poster. Brasil, noviembre 2022.

VIII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICYTAC 2022). "Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos tintos entrerrianos". Autores: Davies, CV, Dalzotto, MG, Gerard, LM, Soldá, CA, Corrado, MB, Bello, F, Lare, MV. Modalidad: presentación de resumen y exposición en formato poster. Córdoba, Argentina, octubre 2022.

VIII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICYTAC 2022). "Características de uvas de las variedades Tannat y Marselán de la zona de Concordia, Entre Ríos". Autores: Soldá CA, Monetta SD, Davies CV, Corrado MB, Gerard, LM, Dalzotto, MG, Fernández Martínez, MV. Modalidad: presentación de resumen y exposición en formato poster. Córdoba, Argentina, octubre 2022.

VIII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICYTAC 2022). "Estudio del fenotipo *killer* de levaduras vínicas autóctonas de uvas". Autores: Corrado MB, Schvindt Wehren YA, Nieto Centurión MC, Dalzotto MG, Soldá CA, Davies CV, Gerard LM. Modalidad: presentación de resumen y exposición en formato poster. Córdoba, Argentina, octubre 2022.

Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas (CLICAP). "Estudio de la fermentación espontánea de uvas Tannat y Marselan durante la vendimia 2021". Autores: Corrado, M. Belén; Davies, Cristina V.; Soldá, Carina A.; Irigoyen, Franco D.; Nieto Centurión, M. Catalina; Gerard, Liliana M. Modalidad: presentación de resumen y exposición en formato poster. Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria, Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, Argentina, abril 2022.

XXVIII Jornadas de Jóvenes Investigadores. Asociación de Universidades Grupo Montevideo. "Caracterización molecular de levaduras autóctonas aisladas de uvas de Concordia". Autores: Esteche, Sofía M.; Lupiañez, M. Victoria; Gerard, Liliana. Modalidad: trabajo aprobado para su presentación durante las jornadas. Universidad Nacional de Chile. 10 al 12 de Noviembre 2021.

XXV Congreso Latinoamericano de Microbiología (ALAM 2021). "Selección y evaluación de propiedades enológicas de levaduras nativas aisladas de uvas de la variedad Tannat". Autores: María Belén Corrado, Cristina V. Davies, Carina A. Soldá, Fernando Bello, Vanesa Lare, Liliana M. Gerard. Modalidad: exposición oral y publicación de

resumen en Libro del Congreso (pendiente de entrega). Asunción, Paraguay, 25 al 28 de agosto de 2021.

XXV Congreso Latinoamericano de Microbiología (ALAM 2021). “Estudio de la fermentación espontánea de uvas de viñedos de Concordia (Entre Ríos-Argentina)”. Autores: María Belén Corrado, Cristina V. Davies, Carina A. Soldá, María Victoria Lupiañez, Cecilia Cabrera, Liliana M. Gerard. Modalidad: exposición oral y publicación de resumen en Libro del Congreso (pendiente de entrega). Asunción, Paraguay, 25 al 28 de agosto de 2021.

### **Cursos dictados como consecuencia de la investigación realizada**

Conferencia virtual: “Microorganismos de importancia biotecnológica: aislamiento, identificación y caracterización”, 1 hora reloj, febrero de 2023. Disertante: Liliana Gerard. Universidad Autónoma de Tlaxcala – Centro de Investigación en Ciencias Biológicas – Maestría en Biotecnología y Manejo de Recursos Naturales. Ixtacuixtla, Tlaxcala, México.

Conferencia virtual: “Procesos biotecnológicos aplicados al aprovechamiento de materias primas regionales del litoral argentino”, 1 hora reloj, octubre de 2022. Disertante: Cristina Davies. Universidad Autónoma de Tlaxcala – Centro de Investigación en Ciencias Biológicas – Maestría en Biotecnología y Manejo de Recursos Naturales. Ixtacuixtla, Tlaxcala, México.

Curso de capacitación para productores y estudiantes de la Tecnicatura Superior en Enología y Fruticultura (Escuela Normal Superior Dr. L. Ingold): “Estudio de levaduras nativas aptas para vinificación a partir de uvas de la región de Concordia”. 27 de septiembre de 2022. Disertantes: Belén Corrado y Carina Soldá. Villa Elisa, Entre Ríos.

Dictado de curso-crédito “Alimentos Fermentados”, 30 horas reloj, Docentes: Cristina Davies, Liliana Gerard, Carina Soldá, Belén Corrado y Gabriela Dalzotto. Agosto-septiembre 2022 (Res. C.D. N° 634/22) y agosto-septiembre 2021 (Res. C.D. N° 631/21). Facultad de Ciencias de la Alimentación, UNER, Concordia, E. Ríos.

Dictado del Crédito “Microbiología Aplicada a los Alimentos”, 30 horas reloj, 2022, 2021, 2020. Docentes: Liliana Gerard y María Belén Corrado. Res. C.D. N° 198/22, 138/21 y 31/20. Facultad de Ciencias de la Alimentación, UNER, Concordia, E. Ríos.

### **CURSOS DE POSGRADO REALIZADOS**

Curso de posgrado virtual: “Verificación de métodos microbiológicos en alimentos según la norma ISO 16140-3:2021: Interpretación y aplicación práctica”. Asociación Argentina de Microbiología (AAM). Noviembre 2022. Participante: Belén Corrado.

Curso de posgrado “Metodologías de Caracterización Sensorial de Alimentos” (Res. C.D. N° 505/21), 45 horas reloj. Facultad de Ciencias de la Alimentación, UNER. Junio-julio 2022. Participante: Cristina Davies. Aprobado.

Curso: “Bioseguridad en el Laboratorio Microbiológico”, 24 horas reloj. Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Junio-julio 2022. Participante: María Verónica Fernández Martínez. Aprobado.

Curso corto de posgrado internacional: “Procesamiento de Alimentos: Simulación, Optimización e Innovación”, 100 horas reloj. Universidad de Mondragón, (España), junio a octubre 2022. Participante: Gabriela Dalzotto. Aprobado.

Simposio en Ciencia y Tecnología Enológica, organizado por el Centro de Investigación, Desarrollo, Extensión y Servicios “Padre Francisco Oreglia”, Facultad Don Bosco de Enología y Ciencias de la Alimentación, Universidad Católica de Cuyo. Maipú, Mendoza. Noviembre 2021. Participantes: Cristina Davies, Liliana Gerard y Belén Corrado.

Curso de Posgrado: “Desafíos y Prospectivas en Biotecnología Farmacéutica y Alimentaria”, 120 horas reloj. CONICET, Instituto de Biotecnología Farmacéutica y Alimentaria, Tucumán, Argentina, 19 de octubre al 3 de noviembre de 2020. Participante: Cristina Davies. Aprobado.

Curso de Posgrado: “Métodos de Biología Molecular”, 30 horas reloj. Fundación Química Argentina. Agosto-Setiembre 2020. Participante: Liliana Gerard. Aprobado.

Curso: “Análisis microbiológico de bebidas alcohólicas”, 25 horas cátedra. Asociación Argentina de Microbiología (AAM). Abril 2020. Participante: Belén Corrado. Aprobado.

### **Cursos doctorales realizados**

Curso doctoral: “Aplicaciones de Bacterias Lácticas: desde lo tradicional a lo moderno. Alimentos fermentados, nutraceúticos y seguridad alimentaria”. 40 horas. Universidad Nacional de Tucumán (UNT) y Centro de Referencia de Lactobacilos (CERELA). Julio/Septiembre 2021. Participantes: Belén Corrado y Carina Soldá. Aprobado.

Curso doctoral: “Estadística y diseño de investigación”. 90 horas. Facultad de Ciencias de la Alimentación, UNER. Agosto 2021. Participantes: Belén Corrado y Carina Soldá. Aprobado.

Curso doctoral: “Principios en Biología Molecular y análisis informático para la identificación de organismos y sus aplicaciones biotecnológicas”. 60 horas. Escuela de Posgrado, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy. Julio 2021. Participante: Belén Corrado. Aprobado.

Curso doctoral: “Genética y Biología Molecular para el mejoramiento de la Calidad de la Carne”. 30 horas. Facultad de Ciencias de la Alimentación, UNER. Febrero 2020. Participante: Carina Soldá. Aprobado.

### **Presentaciones en Jornadas**

IV Jornadas de Difusión de Actividades de Doctorandos e Investigación: “Biotecnología del proceso de vinificación en tinto a partir de dos variedades de *Vitis vinifera* de la región de Concordia (Entre Ríos, Argentina) utilizando una levadura autóctona”, noviembre de 2021, Concordia, Entre Ríos (Res. C.D. N° 773/21). Disertante: Carina Soldá.

IV Jornadas de Difusión de Actividades de Doctorandos e Investigación: “Aislamiento y caracterización de levaduras vínicas nativas provenientes de frutos de la vid (*Vitis vinifera*) de los cultivares Tannat y Marselán de la región de Concordia (Entre Ríos, Argentina) con potencial biotecnológico”, noviembre de 2021, Concordia, Entre Ríos (Res. C.D. N° 773/21). Disertante: Belén Corrado.

Jornadas Virtuales sobre “Actualización en Levaduras Enológicas”. 7,5 horas reloj. Asociación Argentina de Microbiología Filial Cuyo. Agosto 2021. Asistente: Cristina Davies.

### **Actividades de extensión realizadas**

Taller “Tu pasantía en la FCAL”. Expositoras: Cristina Davies, Verónica Fernández, Carina Soldá, Gabriela Dalzotto y Belén Corrado. Facultad de Ciencias de la Alimentación (UNER), Concordia, Entre Ríos, 6 al 16 de junio de 2022.

- Feria "Viví la UNER". Docentes expositoras: Carina Soldá y Belén Corrado. Universidad Nacional de Entre Ríos, Concordia, Entre Ríos, 31 de agosto de 2022.
- "V Encuentro Regional Escuelas Agrotécnicas". Expositoras: Cristina Davies, Verónica Fernández, Carina Soldá y Belén Corrado. Facultad de Ciencias de la Alimentación (UNER), Concordia, Entre Ríos, 6 de septiembre de 2022.
- Programa de Estrategias de Articulación Territorial: "Saberes y prácticas en relación a la elaboración de alimentos para emprendedores/as de la Región de Salto Grande". Directora: Soldá, Carina. Septiembre 2021 (Res. Rector N° 507/21).
- "Jornadas de Puertas Abiertas a las Ciencias", ediciones XII y XIV. Disertantes: Davies, Cristina; Gerard, Liliana; Corrado, M. Belén; Soldá, Carina; Fernández, Verónica, Gabriela Dalzotto. Fac. de Ciencias de la Alimentación (UNER), Concordia, E. Ríos, octubre 2020 y mayo 2022.
- "Curso de Ambientación a la Vida Universitaria". Disertantes: Davies Cristina, Corrado Belén, Soldá Carina. Facultad de Ciencias de la Alimentación (UNER), Concordia, E. Ríos, febrero 2020 y 2022.
- Semana Nacional de la Ciencia y la Tecnología, ediciones 2019 y 2022. Ministerio de Educación, Cultura, Ciencia y Tecnología. Presidencia de la Nación. Septiembre 2019 y octubre 2022. Disertantes: Davies Cristina, Gerard Liliana, Corrado M. Belén, Soldá Carina, Fernández M. Verónica.



**PID 8109 Denominación del Proyecto**

Aislamiento, caracterización e identificación de levaduras de frutos de la vid (*Vitis vinifera*) de la región de Concordia

**Directora**

Davies, Cristina Verónica

**Codirectora:**

Gerard, Liliana Mabel

**Unidad de Ejecución**

Universidad Nacional de Entre Ríos

**Dependencia**

Facultad de Ciencias de la Alimentación

**Cátedra/s, área o disciplina científica**

Biotecnología, Microbiología General

**Instituciones Intervinientes**

Universidad Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Educação, Universidad Nacional de Entre Ríos, FCEDU. Observatorio de Políticas Educativas.

**Contacto**

[cristina.daviesc@uner.edu.ar](mailto:cristina.daviesc@uner.edu.ar) / [liliana.gerard@uner.edu.ar](mailto:liliana.gerard@uner.edu.ar)

**Integrantes del proyecto**

Corrado, María Belén; Soldá, Carina Alejandra; Fernández, María Verónica; Dalzotto, María Gabriela; Segovia, Sebastián Alberto; Mongelat, Sandra (fecha de baja: 03/06/2021). Todos los integrantes pertenecen a la Facultad de Ciencias de la Alimentación (UNER).

Becarios: Sofía M. Esteche (10/2019-07/2021); Victoria Lupiañez (08/2020-07/2021); Cecilia Rojas (08/2020-07/2021); Daiana Monetta (09/2021-03/2022); Azul Y. Schwindt Wehren (09/2021-08/2022).

**Fechas de iniciación y de finalización efectivas**

15/08/2019 y 7/07/2022

Aprobación del Informe Final por Resolución C.S. N° 185/23 (30/06/2023)