



**ARGENTINA DE**

**IOLOGIA**



## Programa Científico

### Resúmenes

Asociación Argentina de Microbiología

**431 - 20724 - ESPECTRO ANTAGÓNICO DE LA TOXINA KILLER EN CEPAS DE LEVADURAS *Saccharomyces* Y NO- *Saccharomyces* DE USO ENOLÓGICO. MATORANO, YP<sup>1</sup>; NALLY, MC<sup>1</sup>; TORO, ME<sup>1</sup>; C DE FIGUEROA, LI<sup>2</sup>; VAZQUEZ, F<sup>1</sup>**

paolamaturano@yahoo.com.ar. <sup>1</sup>Instituto de Biotecnología-FI-UNSJ. Av. Lib. San Martín 1109 (Oeste) (5400) San Juan <sup>2</sup>PROIMI. Av. Belgrano y Pasaje Caseros. Tucumán. Argentina

Las levaduras asociadas a la vinificación se agrupan en *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces*. *Saccharomyces cerevisiae* es la especie más importante en el proceso, pero levaduras no-*Saccharomyces* contribuyen a éste significativamente. La producción de toxina Killer (y la sensibilidad a ésta) constituyen un parámetro de interés para establecer comparaciones poblacionales entre ambos grupos. Los géneros *Debaryomyces* spp., *Hanseniaspora* spp., *Hansenula* spp., *Kluyveromyces* spp., *Pichia* spp. y *Saccharomyces* spp. poseen especies con actividad Killer y producen toxinas con características diferentes. Por ejemplo, la toxina Killer K2, posee un pH óptimo entre 2,9 y 4,9 por lo cual si es secretada por levaduras *Saccharomyces* es relevante en cuanto al dominio del proceso, pero producida por cepas no-*Saccharomyces* puede, de acuerdo con sus características enológicas, aumentar su influencia en el vino o provocar fermentaciones ralentizadas o detenidas. El objetivo fue evaluar el espectro antagonístico, respecto del carácter Killer, entre cepas de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces*. Se emplearon 160 cepas de levadura del Instituto de Biotecnología-UNSJ: 41 no-*Saccharomyces* y 119 *Saccharomyces*. Prueba de fenotipo Killer en reacciones cruzadas: medio YEPD-MB agarizado, preparado con solución buffer citrato-fosfato 0,2 M, pH 4,6 y azul de metileno 40 mg.l<sup>-1</sup>. Las placas fueron incubadas a 25°C, durante 72h. Se utilizaron como cepas de referencia: *Pichia stipitis* NCYC1940 (Killer), *Saccharomyces cerevisiae* ATCC38636 (Sensible) y *Saccharomyces cerevisiae* ATCC36900 (Killer). Entre las levaduras que presentaron mayor actividad killer en las interacciones cruzadas, 2 cepas *Saccharomyces cerevisiae*, BSc432 y BSc490, lograron inhibir el crecimiento de 92 cepas en estudio, de las cuales eliminaron a 4 y 5 cepas no-*Saccharomyces*, respectivamente. Por otro lado, las cepas no-*Saccharomyces* *Candida sake* (BCs370) y *Candida parapsilosis* (BCp203) mostraron capacidad antagonística frente a 88 y 78 cepas sensibles a la toxina Killer, respectivamente. Estas cepas presentaron un amplio espectro de toxicidad frente a otras levaduras pertenecientes al mismo grupo, inhibiendo al 60,97% (BCs370) y 48,78% (BCp203) de las cepas no-*Saccharomyces*. CONCLUSION: Las levaduras Killer no-sacaromicéticas mostraron un mayor espectro de acción que las sacaromicéticas. La caracterización de la conducta Killer resulta de relevancia para predecir posibles relaciones de competencia con la biota indígena durante el proceso de vinificación.

# Espectro antagónico de la toxina killer en cepas de levaduras *Saccharomyces* y no- *Saccharomyces* de uso enológico.

MATURANO Y.P.<sup>1</sup>, NALLY M.C.1, TORO M.E.1 CASTELLANOS DE FIGUEROA L.I.2, & VAZQUEZ F.1  
(1) Instituto de Biotecnología–FI–UNSJ.Av.Lib.San Martín1109(Oeste)(5400) San Juan.  
(2) PROIMI. Av. Belgrano y Pasaje Caseros. Tucumán.  
paolamaturano@yahoo.com.ar

**RESUMEN:** Las levaduras asociadas a la vinificación se agrupan en *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces*. *Saccharomyces cerevisiae* es la especie más importante en el proceso, pero levaduras no-*Saccharomyces* contribuyen a este significativamente. La producción de toxinas *Killer* (y la sensibilidad a esta) constituyen un parámetro de interés para establecer comparaciones poblacionales entre ambos grupos. Los géneros *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Pichia* y *Saccharomyces* poseen especies con actividad *Killer* y producen toxinas con características diferentes. Por ejemplo, la toxina *Killer* K2, posee un pH óptimo entre 2,9 y 4,9 por lo cual si es secretada por levaduras *Saccharomyces* es relevante en cuanto al dominio del proceso, pero producida por cepas no-*Saccharomyces* pueden, de acuerdo con sus características enológicas, aumentar su influencia en el vino o provocar fermentaciones ralentizadas o detenidas. El objetivo fue evaluar el espectro antagónico, respecto del carácter *Killer*, entre cepas de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces*. Se emplearon 160 cepas de levadura del Cepario del Instituto de Biotecnología-UNSJ: 41 no-*Saccharomyces* y 119 *Saccharomyces*. Prueba de fenotipo *Killer* en reacciones cruzadas: Medio YEPD-MB agarizado, preparado con solución buffer citrato-fosfato 0,2 M, pH 4,6 y azul de metileno en una concentración final de 40 mg.l<sup>-1</sup>. Las placas fueron incubadas a 25°C, durante 72 horas. Se utilizaron como cepas de referencia: *Pichia stipitis* NCYC1940 (*Killer*), *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 38636 (Sensible) y *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 36900 (*Killer*). Entre las levaduras que presentaron mayor actividad *Killer* en las interacciones cruzadas, dos cepas *Saccharomyces cerevisiae*, BSc432 y BSc490, lograron inhibir el crecimiento de 92 cepas en estudio, de las cuales eliminaron a 4 y 5 cepas no-*Saccharomyces*, respectivamente. Por otro lado, las cepas no-*Saccharomyces* *Candida sake* (BCs370) y *Candida parapsilosis* (BCp203) mostraron capacidad antagónica frente a 88 y 78 cepas sensibles a la toxina *Killer*, respectivamente. Estas cepas presentaron un amplio espectro de toxicidad frente a otras levaduras pertenecientes al mismo grupo, inhibiendo al 60,97% (BCs370) y 48,78% (BCp203) de las cepas no-*Saccharomyces*. Las levaduras *Killer* no-saccharométicas mostraron un mayor espectro de acción que las saccharométicas. La caracterización de la conducta *Killer* resulta de relevancia para predecir posibles relaciones de competencia con la biota indígena durante el proceso de vinificación.

## INTRODUCCION

Las levaduras asociadas a la vinificación se agrupan en *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces*. *Saccharomyces cerevisiae* es la especie más importante en el proceso, pero levaduras no-*Saccharomyces* contribuyen a este significativamente. La producción de toxinas *Killer* (y la sensibilidad a esta) constituyen un parámetro de interés para establecer comparaciones poblacionales entre ambos grupos. Los géneros *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Pichia* y *Saccharomyces* poseen especies con actividad *Killer* y producen toxinas con características diferentes. Por ejemplo, la toxina *Killer* K2, posee un pH óptimo entre 2,9 y 4,9 por lo cual si es secretada por levaduras *Saccharomyces* es relevante en cuanto al dominio del proceso, pero producida por cepas no-*Saccharomyces* pueden, de acuerdo con sus características enológicas, aumentar su influencia en el vino o provocar fermentaciones ralentizadas o detenidas.

El objetivo fue evaluar el espectro antagónico, respecto del carácter *Killer*, entre cepas de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces*.

## MATERIALES Y METODOS

Se emplearon 160 cepas de levadura del Cepario del Instituto de Biotecnología-UNSJ: 41 no-*Saccharomyces* y 119 *Saccharomyces*. Prueba de fenotipo *Killer* en reacciones cruzadas: Medio YEPD-MB agarizado, césped de levaduras (concentración de 2x10<sup>8</sup>cel/ml), preparado con solución buffer citrato-fosfato 0,2 M, pH 4,6 y azul de metileno en una concentración final de 40 mg.l<sup>-1</sup>. Las placas fueron incubadas a 25°C, durante 72 horas. Se utilizaron como cepas de referencia: *Pichia stipitis* NCYC1940 (*Killer*), *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 38636 (Sensible) y *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 36900 (*Killer*).

## RESULTADOS

Entre las levaduras que presentaron mayor actividad *Killer* en las interacciones cruzadas, dos cepas *Saccharomyces cerevisiae*, BSc432 y BSc490, lograron inhibir el crecimiento de 92 cepas en estudio, de las cuales eliminaron a 4 y 5 cepas no-*Saccharomyces*, respectivamente. Por otro lado, las cepas no-*Saccharomyces* *Candida sake* (BCs370) y *Candida parapsilosis* (BCp203) mostraron capacidad antagónica frente a 88 y 78 cepas sensibles a la toxina *Killer*, respectivamente. Los aislamientos de levadura BCs370 y BCp203 presentaron un amplio espectro de toxicidad frente a otras levaduras pertenecientes al mismo grupo, inhibiendo al 60,97% (25/41) y 48,78% (20/41) de las cepas no-*Saccharomyces*, respectivamente (Figura 1 y Tabla1).

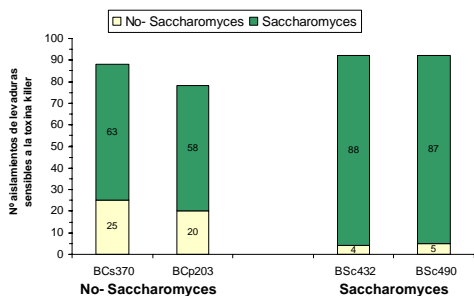


Figura 1: Aislamientos de levaduras con amplio espectro antagónico killer

Especies	Nº de aislamientos				
	BCs 370	BCp203	BSc432	BSc490	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	95	52	43	68	69
<i>Saccharomyces chevalieri</i>	8	5	4	8	6
<i>Saccharomyces steineri</i>	5	2	4	4	5
<i>Saccharomyces kluyveri</i>	2	0	2	2	2
<i>Saccharomyces bayanus</i>	7	4	5	6	5
<i>Dekkera anomala</i>	2	2	1	0	0
<i>Pichia fermentans</i>	1	1	1	1	0
<i>Pichia guilliermondii</i>	1	1	1	0	0
<i>Pichia membranifaciens</i>	1	0	0	0	1
<i>Candida sake</i>	6	2	4	0	1
<i>Candida diversa</i>	1	1	0	1	1
<i>Candida steatolytica</i>	1	0	0	1	0
<i>Candida intermedia</i>	2	2	1	0	0
<i>Candida stellata</i>	1	1	0	0	0
<i>Candida cantarelli</i>	1	1	1	0	0
<i>Candida catenulata</i>	2	1	1	0	0
<i>Candida apsis</i>	1	1	0	0	0
<i>Candida rugosa</i>	1	1	1	0	0
<i>Candida quercitrusa</i>	1	1	0	0	0
<i>Candida parapsilosis</i>	3	1	1	0	0
<i>Candida famata</i>	3	2	2	1	0
<i>Candida coliculosa</i>	2	1	1	0	0
<i>Torulasporea delbrueckii</i>	2	0	1	0	0
<i>Hanseniaspora vineae</i>	2	2	0	0	0
<i>Hanseniaspora osmophylla</i>	1	1	1	0	0
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	1	1	0	0	0
<i>Debaryomyces hansenii</i>	5	0	3	0	0
<i>Debaryomyces varrijiae</i>	1	1	0	0	1
<b>TOTAL</b>	<b>160</b>	<b>88</b>	<b>78</b>	<b>92</b>	<b>92</b>

Tabla1: Listado de especies de levaduras sensibles a la toxina killer emitida por BSc370, BCp203, BSc432 y BSc490

## CONCLUSIONES

Las levaduras *Killer* no-saccharométicas mostraron un mayor espectro de acción que las saccharométicas. La caracterización de la conducta *Killer* resulta de relevancia para predecir posibles relaciones de competencia con la biota indígena durante el proceso de vinificación.