

**Biodiversità 2018**  
XII Convegno nazionale



# XII Convegno Nazionale **Biodiversità Ambienti, Salute**

Università degli Studi di Teramo  
Campus A. Saliceti | 13-15 Giugno 2018



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI TERAMO



# Biodiversità genetica e fisiologica, potenziale alterativo, di una popolazione di *B. bruxellensis* isolata da vini italiani

## Genotypic, and physiological biodiversity, and its spoilage potential, of a *B. bruxellensis* population isolated from Italian wines

Raffaele Guzzon<sup>1</sup>, Tomas Roman<sup>1</sup>, Rosa Guarcello<sup>2</sup>, Nicola Francesca<sup>2</sup>, Luca Settanni<sup>2</sup> e Giancarlo Moschetti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fondazione Edmund Mach. Via Edmund Mach 1. 38010 San Michele all'Adige (TN). raffaele.guzzon@fmach.it - +39 0461 - 615184

<sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali. Università di Palermo. Viale delle Scienze 4. 90128 Palermo.

### RIASSUNTO

#### INTRODUZIONE

*B. bruxellensis* è il principale microrganismo alterativo in ambito enologico, in grado di deprezzare fortemente i vini nei quali dovesse svilupparsi. Questo lievito è da sempre diffuso in cantina, ma i cambiamenti ambientali e tecnologici intervenuti negli ultimi anni ne hanno accentuato la pericolosità. Un approfondimento riguardo alla biodiversità intrinseca alla specie *B. bruxellensis*, e dunque al suo potenziale alterativo, è necessario per ottimizzare le strategie di controllo.

#### RISULTATI

Una collezione di più di 70 isolati, presumibilmente *B. bruxellensis*, è stata ottenuta dall'analisi di vini italiani nel triennio 2014-2017. Gli isolati sono stati sottoposti a strain-typing mediante ISS-PCR e l'appartenenza alla specie è stata confermata mediante sequenziamento del 26s-RNA. Sono stati individuati 51 ceppi di *B. bruxellensis*, segno di una notevole variabilità intraspecifica, non strettamente correlata ai territori di origine dei vini.

Sui 51 ceppi di *B. bruxellensis* sono

Tab. 1. Misura citofluorimetrica della popolazione cellulare caratteristica di diversi ceppi di *B. bruxellensis* dopo 10 giorni di sviluppo in mezzo sintetico o vino (SO<sub>2</sub>) caratterizzati da differenti fattori limitanti (Dati medi, n=2).

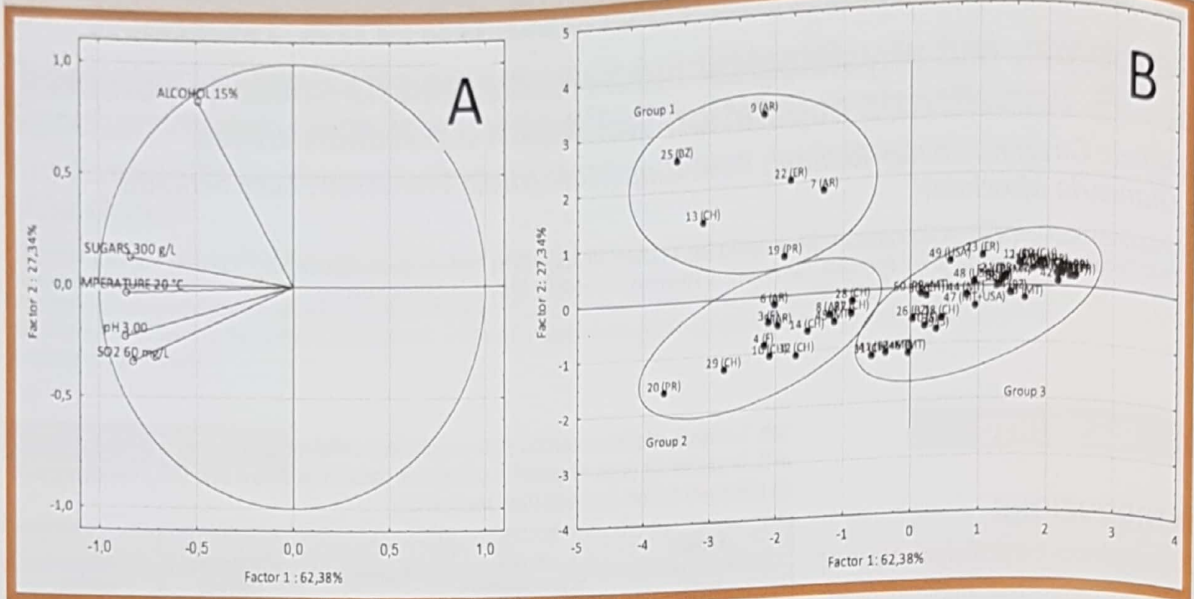
Fattore (concentrazione limite)	Ceppo di <i>Brettanomyces</i>	Resistenza	Cellule vive (cell/mL)	Cellule morte (cell/mL)
pH 3.00	20	Alta	2.9E+10 <sup>7</sup>	3.6E+10 <sup>4</sup>
	33	Bassa	2.9E+10 <sup>3</sup>	6.5E+10 <sup>3</sup>
Etanolo 15 %	5	Alta	2.9E+10 <sup>6</sup>	1.1E+10 <sup>4</sup>
	43	Bassa	1.1E+10 <sup>3</sup>	2.7E+10 <sup>3</sup>
Zuccheri 300 g/L	75	Alta	7.9E+10 <sup>7</sup>	2.9E+10 <sup>4</sup>
	60	Bassa	2.1E+10 <sup>5</sup>	1.7E+10 <sup>3</sup>
Temperatura 15 °C	1	Alta	3.3E+10 <sup>7</sup>	1.8E+10 <sup>4</sup>
	29	Bassa	6.3E+10 <sup>4</sup>	2.1E+10 <sup>3</sup>
SO <sub>2</sub> (Totale) 60 mg/L	20	Alta	3.4E+10 <sup>7</sup>	5.5E+10 <sup>4</sup>
	42	Bassa	3.2E+10 <sup>2</sup>	2.9E+10 <sup>3</sup>

stati condotti test fisiologici per verificarne la resistenza ai fattori limitanti del vino (pH, zuccheri/etanolo, temperatura e SO<sub>2</sub>) e la produzione di fenoli volatili, i principali *off-flavours* caratteristici di questo lievito, in 5 differenti vini. I test fisiologici sono stati svolti prevalentemente in terreno sintetico, monitorando lo sviluppo microbico mediante spettrofotometria e citofluorimetria. I ceppi di lievito presentano una variabilità significativa in termini di resistenza ai fattori limitanti, ma generalmente una tolleranza minore a quanto riportato in bibliografia (Tabella 1). È dunque lecito supporre che il graduale adat-

tamento di *B. bruxellensis* ai fattori limitanti, dovuto all'ingresso di questo lievito in cantina con le uve all'inizio della vinificazione, induca l'attivazione di risposte metaboliche in grado di aumentarne la resistenza a condizioni ambientali ostili. L'analisi statistica dei dati ha premesso di raggruppare i ceppi di *Brettanomyces* in 3 sub-popolazioni omogenee (Figura 1) confermando l'assenza di legame tra caratteri fisiologici e provenienza geografica, laddove le condizioni di vinificazione possono giocare un ruolo determinante nella selezione di ceppi di lievito alterativi. Tutti i ceppi di *B. bruxellensis* hanno



Fig. 1 - PCA della crescita cellulare di una popolazione di ceppi di *B. bruxellensis*, sviluppatasi in presenza di diversi fattori limitanti enologici. A) Proiezione delle variabili nel piano 1+2; B) Proiezione dei casi nel piano 1+2. Sono evidenti 3 sub popolazioni con diverse resistenze. Le sigle associate ai ceppi si riferiscono all'origine geografica F = Borgogna (Francia); AR = Arezzo (Toscana); S = Chianti (Toscana); PR = "Piana Rotaliana" (Trentino); BZ = Bolzano (Sud Tirolo); ER = Reggio Emilia (Emilia Romagna); MT = Montalcino (Toscana); Cagliari (Sardegna); MT = Montalcino (Toscana).



accumulato 4-etifenolo e 4-etilguaiacolo, ma si osservano differenze tra le concentrazioni di queste molecole in funzione del ceppo di lievito e delle caratteristiche del vino (Figura 2). Il contenuto di etanolo si è dimostrato correlabile alla concentrazione di etilfenoli, mentre gli altri fattori limitanti presenti nei vini hanno minore impatto sull'attività dei lieviti.

**CONCLUSIONI**

Le indagini condotte hanno rivelato una notevole biodiversità interna alla specie *B. bruxellensis*, solitamente trascurata da approcci di prevenzione e controllo standardizzati.

Questa biodiversità si manifesta sia in termini di resistenza ai fattori ambientali limitanti sia nel differente potenziale alterativo di ogni ceppo

di lievito.

Occorre dunque approfondire lo studio della microflora alterativa di ogni produzione vitivinicola al fine di identificarne resistenze e punti critici affinando le strategie di contrasto adeguate ad ogni tipologia di vino. ♦

Fig. 2 - Accumulo di 4-etifenolo e 4-etilguaiacolo da parte di una collezione di ceppi di *B. bruxellensis* in 5 diversi vini.

