

27. Agroalimentos

Microorganismos presentes en uvas para vinificar con síntomas de podredumbre de la región vitivinícola DOC San Rafael.

Zamora Fabio

Fabioz_11@hotmail.com

Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria

Universidad Nacional de Cuyo

Resumen

La vid es susceptible al desarrollo de enfermedades y en particular aquellas que afectan su fruto resultan las más destructivas en términos de calidad y composición del vino. Se planteó como objetivo del presente trabajo detectar, diferenciar y enumerar los microorganismos presentes (hongos filamentosos, levaduras, bacterias acéticas y lácticas) en uvas para vinificar con síntomas de podredumbre de la región vitivinícola DOC San Rafael. Para ello se recolectaron 17 muestras pertenecientes a distintas variedades de uva para vinificar (Bonarda, Malbec, Cabernet, Cereza, Syrah, Criolla y Torrontés) de la región vitivinícola DOC San Rafael (La Llave, Cañada Seca, Rama Caída y Cuadro Nacional) que presentaron síntomas de podredumbre a tiempo de cosecha durante el año 2017. Las muestras fueron analizadas microbiológicamente mediante la metodología de diluciones seriadas y recuento en placa en medios diferenciales (GYC: recuento de levadura de glucosa-agar; DRBC: Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol-agar; MRS: Man, Rogosa y Sharpe -20% zumo de uva-agar) para cada grupo microbiano. Como resultado, los distintos microorganismos evaluados fueron detectados en las muestras analizadas y el agrupamiento de las muestras según la carga microbiana de los mismos sugeriría distintos tipos de podredumbres presentes en la región vitivinícola DOC San Rafael. Preliminarmente, estos agrupamientos no se correlacionarían con las zonas ni con las variedades de uva para vinificar analizadas. La continuación de este estudio permitirá definir los principales agentes etiológicos de las podredumbres presentes en uvas para vinificar de la región vitivinícola DOC San Rafael así como el desarrollo de una estrategia más precisa a la hora de prevenirlos.

Palabras clave: microorganismos, podredumbre, uva para vinificar, DOC San Rafael.

Introducción

La provincia de Mendoza es la principal productora de vinos en Argentina y en particular la región vitivinícola DOC (Denominación de Origen Controlada) “San Rafael”, ubicada al sur de la provincia, es responsable del 5% de la producción nacional de uvas para vinificar, transformando a la actividad vitivinícola en una de las principales de la región (INV, 2017). No obstante, la vid es susceptible al desarrollo de enfermedades y en particular aquellas que afectan su fruto resultan las más destructivas en términos de calidad y composición del vino (Steel y col., 2013).

En Argentina, bajo el nombre de podredumbres, se indica principalmente un tipo de sintomatología que involucra a cuatro enfermedades, cuya afección está centrada en el racimo y que influyen en la calidad de mostos y vinos (Cuchi y Becerra, 2009). Ellas son: podredumbre gris y podredumbre noble (que tienen como agente patógeno a *Botrytis cinerea*), podredumbre de los racimos (causada por un complejo etiológico donde intervienen principalmente hongos como *B. cinerea*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* spp., *Rhizopus negricans*, *Alternaria* spp., *Cladosporium herbarum* así como algunas levaduras y bacterias) y por último la podredumbre ácida (producida por levaduras y bacterias, fundamentalmente acéticas). Si bien algunas de estas podredumbres comparten agentes

causales alrededor del mundo (Ej.: *B. cinerea*), las cepas patógenas suelen ser específicas de cada región vitivinícola e inclusive se han reportado otros tipos de podredumbres con agentes etiológicos distintos (Briceño y col., 2009; Kakalikova y col., 2009; Navarrete y col., 2009). En la literatura científica, son escasos los reportes acerca de los microorganismos que ocasionan podredumbre en las diferentes regiones vitivinícolas argentinas (Nally y col., 2012; 2013; Orilani y col., 2009) y en particular ninguno comprende a la región vitivinícola DOC San Rafael.

Por todo lo expuesto, resulta importante el estudio de los microorganismos (hongos filamentosos, levaduras y bacterias) que ocasionan podredumbre en uva para vinificar de la DOC San Rafael tanto para definir los principales agentes etiológicos de la zona como para el desarrollo de una estrategia más precisa a la hora de prevenirlos.

Objetivo

Detectar, diferenciar y enumerar los microorganismos presentes (hongos filamentosos, levaduras y bacterias) en uvas para vinificar con síntomas de podredumbre de la región vitivinícola DOC San Rafael.

Materiales y Métodos

Se tomaron 17 muestras de uva para vinificar pertenecientes a distintas

variedades (Bonarda, Malbec, Cabernet, Cereza, Syrah, Criolla y Torrontés) de distintas zonas (La Llave, Cañada seca, Cuadro Nacional, Rama Caída) de la región vitivinícola DOC San Rafael (Fig. 1) que presentaron síntomas de podredumbre a tiempo de cosecha año 2017.

Se procedió de acuerdo a metodología previamente descrita para la detección, diferenciación y enumeración de microorganismos (recuento en placa) (Castellucci, 2010).

Brevemente, se procesaron 100 g de muestra con 900 mL de agua peptona (0.1%) en licuadora y se procedió a realizar diluciones seriadas por duplicado (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4}). Se realizó la siembra de 100 μ l de las mismas en placas de Petri con medios diferenciales para aislar hongos y levaduras (DRBC- Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol- agar), bacterias acéticas (GYC- recuento de levadura de glucosa- agar) y bacterias lácticas (MRS, Man, Rogosa y Sharpe -20% zumo de uva- agar). Se incubaron a 25°C durante 4 días (GYC) y 5-7 días (DRBC) en aerobiosis y 11 días en microaerofilia (MRS -20% zumo de uva). Al finalizar el periodo de incubación, se determinó la carga microbiana de hongos filamentosos, levaduras y bacterias sembradas en los distintos medios por muestra (mediante el recuento de las unidades formadoras de colonia -UFC).

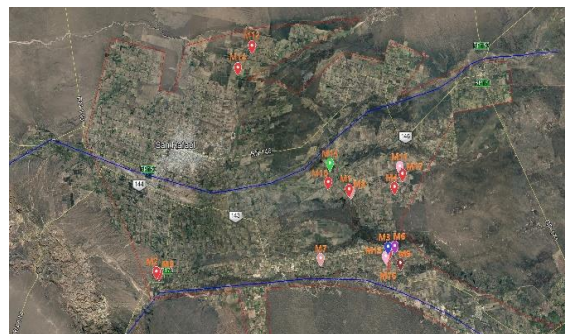


Figura 1: Localización espacial de las muestras de uvas de distintas variedades con síntomas de podredumbre recolectadas en la región vitivinícola DOC San Rafael, vendimia 2017. La Llave: M1, M4, M8, M11, M10, M15, M17; Cañada Seca: M3, M6, M7, M9, M13, M16; Cuadro Nacional: M12 y M14; Rama caída: M2 y M5. **Bonarda; Malbec; Syrah; Criollas, Cereza; Cabernet Sauvignon; Torrontés Riojano.**

Para agrupar y simplificar los resultados obtenidos para las diferentes muestras, se aplicó el análisis de componentes principales (CPA), representado en un gráfico de tipo biplot.

Para el análisis por zonas (La llave, Cañada Seca, Cuadro Nacional, Rama caída) de las muestras Bonarda con podredumbre se aplicó el análisis multivariado de varianza (MANOVA), seguido por el test de Hotelling-Bonferroni para determinar diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ellas.

Resultados y Discusión

Los distintos microorganismos presentes (hongos filamentosos, levaduras y bacterias) pudieron ser detectados y diferenciados en los distintos medios empleados como se observa en la figura 2. Así mismo, la tabla 1 muestra los resultados obtenidos a partir del recuento en placa de los distintos microorganismos crecidos en los diferentes medios para cada muestra con podredumbre.

El análisis de los componentes principales (Fig. 3, Grafico Biplot) permitió representar de manera simplificada la agrupación de las muestras con podredumbre según la carga microbiana de los diferentes microorganismos evaluados. Los dos primeros componentes principales fueron capaces de explicar el 77.7% de la variación total (CP1: 57.5% y CP2: 20.2%). La variable dependiente hongos se relacionó exclusiva y positivamente con el componente CP1, mientras que las otras 2 variables si bien se relacionan mayormente de manera positiva con este componente, también se relacionan con el componente CP2 positiva (bacterias en MRS) y negativamente (levadura, bacterias en GYC).

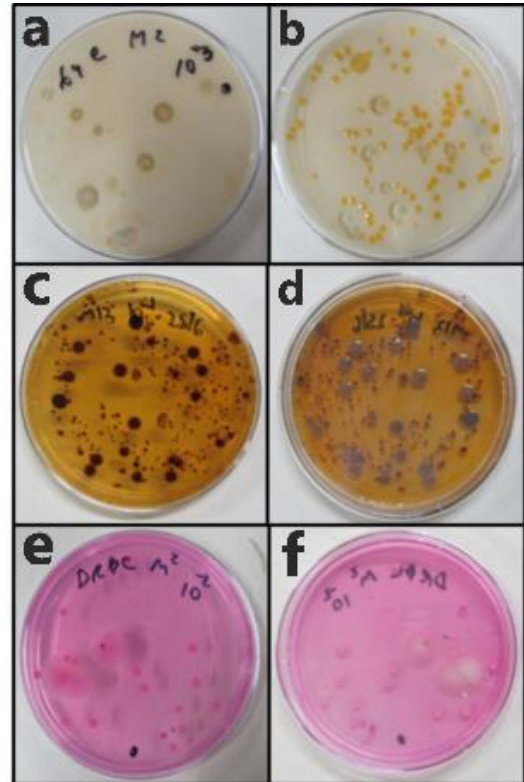


Figura 2: Distintos grupos microbianos (bacterias, levaduras y hongos filamentosos) presentes en los medios diferenciales a partir de la siembra de 100 μ L de diluciones de las muestras. Muestra 2 dilución 10^{-3} en medio GYC: a) anverso, b) reverso. Muestra 13 dilución 10^{-1} en medio MRS: b) anverso, c) reverso. Muestra 2 dilución 10^{-2} en medio DRBC: d) anverso, e) reverso

Tabla 1: Población de hongos filamentosos, levaduras y bacterias (UFC/mL) en muestras de uva para vinificar con síntomas de podredumbre de diferentes zonas de la DOC San Rafael vendimia 2017.

Muestra	Variedad	Población ^a			
		Hongos filamentosos ^b	Levaduras ^b	Bacterias ^c	Bacterias ^d
M1	Bonarda	200000	200000	300000-3000000	8000
M2	Bonarda	550	18000	935000	59000
M3	Malbec	1250000	295000	300000-3.000000	54000
M4	Bonarda	ND	ND	211000	380000
M5	Bonarda	155000	175000	220000	73100
M6	Syrah	545000	310000	300000-3000000	1675000
M7	Cereza	100	175500	300000-3000000	17200
M8	Criolla	750	16400	420000	990000
M9	Cabernet	80000	340000	300000-3000000	70500
M10	Bonarda	100	18000	15500	24650
M11	Cereza	650	15000	300000-3000000	500
M12	Bonarda	100	38000	65000	4050
M13	Criollas	150000	225000	18000	22900
M14	Bonarda	ND	85000	72000	58000
M15	Torrontes	ND	150000	200000	167500
M16	Bonarda	ND	16800	300000-3000000	13000
M17	Bonarda	40000	555000	300000-3000000	635000

a) Promedio correspondiente a las UFC obtenidas del duplicado de dilución de muestra empleada.

b) Incubación a 25 °C 5 días en DRBC (Dicloran rosa de bengala agar).

c) Incubación 4 días a 25 °C en GYC (recuento de levadura de glucosa agar)

d) Incubación 11 días a 25 °C en MRS agar, condiciones de microaerofilia.

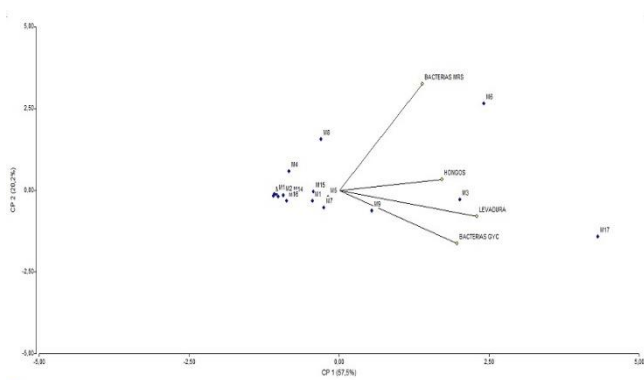


Figura 3: Gráfico Biplot de los 2 primeros componentes principales de las UFC de hongos, levaduras, bacterias en GYC y bacterias en MRS.

Tanto la muestra M4 (Bonarda, La Llave) como la M8 (Criolla, La Llave) presentaron una alta población de bacterias en MRS (lácticas) y una baja población en hongos, levaduras y bacterias en GYC (acéticas). Mientras que la muestra M6 (Syrah, Cañada Seca), con la mayor población de bacterias en MRS (lácticas), presentó también una alta población de las demás

variables. Por otro lado, la muestra M3 (Malbec, Cañada Seca), que presentó la mayor población de hongos filamentosos, presentó también una gran población de levaduras y de bacterias en GYC (acéticas). Tanto la muestra M9 (Cabernet, Cañada Seca) como la M17 (Bonarda, La Llave) presentaron una gran población de bacterias en GYC (acéticas) acompañadas por una gran población de levaduras (la mayor en M17). El resto de las muestras, fueron agrupadas similarmente por presentar poblaciones bajas de todos los grupos microbianos analizados, sugiriendo un bajo nivel de podredumbre en las mismas.

Estos distintos agrupamientos de muestras podrían corresponderse con diferentes tipos de podredumbres con agentes etiológicos característicos, pero será necesario continuar con la identificación para confirmar esta posibilidad. Asimismo la cantidad de agrupamientos sugiere variabilidad en los tipos de podredumbre presentes en la región vitivinícola DOC San Rafael. En principio, si bien sería necesario un mayor número de muestras, los agrupamientos no se corresponderían con las variedades de uva para vinificar ni con las zonas muestreadas.

Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas entre las poblaciones de hongos, levaduras, bacterias en MRS (lácticas) y bacterias en GYC (acéticas) (MANAVA, Hotelling

Bonferroni, $p > 0.05$) obtenidas a partir de muestras con podredumbre de la variedad Bonarda pertenecientes a las diferentes zonas de la DOC San Rafael muestreadas (La llave; Cañada Seca; Cuadro Nacional; Rama Caída) (Fig. 1). Esto podría sugerir que la localización de las podredumbres en las diferentes zonas muestreadas no sería un factor de variabilidad.

Conclusiones

- Se detectó la presencia de distintos microorganismos (hongos filamentosos, levaduras y bacterias) en muestras de uva para vinificar con síntomas de podredumbre recolectadas en la región vitivinícola DOC San Rafael mediante la metodología empleada.
- El agrupamiento de las muestras con podredumbre según la carga microbiana de los microorganismos evaluados, obtenido por el análisis de los componentes principales (ACP), permitió inferir distintos tipos de podredumbres presentes en la región vitivinícola DOC San Rafael.
- La recolección de muestras con síntomas de podredumbre de la variedad Bonarda de diferentes zonas de la DOC San Rafael no generó diferencias en la carga microbiana de los organismos evaluados.

Bibliografía

Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV). (2017). Producción total de uva según origen del viñedo. Elaborado: Departamento de Estadísticas y Estudios de Mercado.

Steel, C.C., Blackman, J.W., Schmidtke, M. (2013). Grapevine bunch rots: Impacts on wine composition, quality and potential procedures for the removal of wine faults. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 5189-5206.

Cuchi, N. y Becerra, V. (2009). Manual de tratamientos fitosanitarios para cultivos de clima templado bajo riego sección III: Vid.

Briceño, E. X., Latorre, B. A., & Schwarze, E. B. (2009). Effect of *Cladosporium* rot on the composition and aromatic compounds of red wine. *Spanish Journal of Agricultural Research*, (1), 119-128.

Kakalikova, L., Jankura, E., Srobarova, A. (2009). First report of *Alternaria* bunch rot of grapevines in Slovakia. *Australasian Plant Disease Notes*, 4, 68-69.

Navarrete, F., Abreo, E., Bettucci, L., Martínez, S., & Lupo, S. (2009). First report of *Greeneria uvicola* as cause of grapevine dead-arm dieback in Uruguay. *Australasian Plant Disease Notes*, 4(1), 117-119.

Nally, M.C., Pesce, V., M., Maturano, Y. P., Munoz, C.J., Combina, M.,

Toro, M. E., Castellanos de Figueroa, L.I., Vazquez, F. (2012). Biocontrol of Botrytis cinerea in table grapes by non-pathogenic indigenous Saccharomyces cerevisiae yeasts isolated from viticultural environments in Argentina. *Postharvest Biology and Technology*, 64, 40–48.

Nally, M. C., Pesce, V. M., Maturano, Y. P., Toro, M. E., Combina, M., Castellanos de Figueroa L. I., Vazquez, F. (2013). Biocontrol of fungi isolated from sour rot infected table grapes by Saccharomyces and other yeast species. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 456–462.

Oriolani, E. J. A., Rodriguez Romera, M. C., & Combina, M. (2009). La podredumbre ácida de los racimos de la vid en los viñedos de San Juan y Mendoza. In *Simposio Internacional de Uva de Mesa y Pasa*. 2. 2009 11 05-07, 5, 6 y 7 de noviembre de 2009. Pocito, San Juan. AR.

Castellucci, F. (2010). *Microbiological Analysis of Wines and Musts Detection, Differentiation and Counting of Micro-organisms*.

(I+D+i) de la Universidad Nacional de Cuyo (06P32): “Beneficios para la salud mediante aplicación biotecnológica de residuos de la vitivinicultura de Mendoza. Más salud, más valor.” 2015-2019.

Financiamiento

Proyecto UNCUYO
(L016): “Microorganismos del ecosistema uva-mosto-vino con potencial biotecnológico. Biocontrol y enzimas liberadoras de compuestos con actividad biológica”. 2017-2019. Programa de Investigación, desarrollo e innovación