

ABSTRACT

Na indústria vitivinícola, verifica-se actualmente uma procura acrescida de novas estirpes de leveduras, adaptadas a diferentes tipos e estilos de vinhos, no sentido da sua diversificação. Neste sentido, o Centro de Biologia Molecular e Ambiental (CBMA) da Universidade do Minho constituiu uma das maiores colecções de estirpes de *Saccharomyces cerevisiae*, obtidas a partir de ambientes vitivinícolas em Portugal e em França. Durante as vindimas de 2001 a 2009, 604 amostras de uvas foram colhidas em várias Regiões Vitivinícolas de Portugal (Vinho Verde, Dão, Douro, Bairrada, Estremadura, Palmela, Ribatejo, Açores) e França (Languedoc). As uvas pertenciam às castas Alvarinho, Aragonez, Arinto, Avesso, Baga, Bical, Castelão, Carignan, Loureiro, Maria Gomes, Terrantez, Verdelho e Touriga Nacional. A partir dos mostos extraídos que realizaram uma fermentação espontânea, foram isoladas populações de leveduras fermentativas. Das 258 fermentações que chegaram à fase final obtiveram-se 7.740 isolados, pertencentes maioritariamente à espécie *S. cerevisiae* (5.496 isolados). Para cada isolado foi realizada uma análise genética preliminar, com base nos polimorfismos dos tamanhos dos fragmentos de restrição do DNA mitocondrial (mtDNA RFLP), cariotipagem electroforética ou análise das sequências interdelta. As estirpes com perfis genéticos únicos foram ainda analisadas por um conjunto de 6 ou 11 locis de microssatélites polimórficos. Com base na distribuição alélica, os isolados analisados foram agrupados em 752 estirpes diferentes.

A resultante colecção das estirpes autóctones de *S. cerevisiae* é um recurso valioso para a selecção de estirpes enológicas, preservação da biodiversidade e partilha de dados genéticos. No âmbito de trabalhos em curso são seleccionadas "leveduras à la carte", com propriedades enológicas diferenciadoras e capazes de potenciar as características aromáticas de vinhos específicos. Informação detalhada acerca de cada estirpe está disponível no site da colecção, <http://scwsc.bio.uminho.pt/>.

INTRODUÇÃO

O uso de estirpes autóctones de *Saccharomyces cerevisiae* para a vinificação de mostos é preferível porque estas estirpes:

- ❖ estão mais adaptadas ao micro-ecossistema e clima de cada região;
- ❖ possuem melhor capacidade de predominar sobre a flora microbiana não desejável;
- ❖ contribuem de forma favorável para o perfil característico dos vinhos de cada região;
- ❖ garante fermentações consistentes e homogeneidade da qualidade dos vinhos em anos consecutivos.

No entanto, das cerca de 200 LSA existentes no mercado apenas três estirpes de *S. cerevisiae* foram isoladas em Portugal (Vinho Verde, Dão e Bairrada).

Foi constituída uma colecção de estirpes autóctones de *S. cerevisiae* a partir dos materiais biológicos recolhidos no âmbito de projectos de investigação realizados nos últimos dez anos ([1],[2], [3]). Estão disponíveis on-line um conjunto de dados relativos a cada estirpe da colecção no site: <http://scwsc.bio.uminho.pt/>.

RESULTADOS

Número de estirpes de *Saccharomyces cerevisiae* obtidas

	Nº amostras recolhidas	Fermentações Espontâneas	Nº de Isolados	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Vinhos Verdes	282	115	3450	516
Bairrada	126	22	660	137
Açores	88	49	1470	169
Languedoc	108	72	2160	103
Total	604	258	7740	752

A COLECÇÃO DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* PARA A SELECÇÃO DE NOVAS ESTIRPES DE VINIFICAÇÃO

E. Vieira^{1,3}; J. Drumonde-Neves^{1,2}; B. Gambon⁴; E. Valero⁵; A.C. Gomes⁶; S. Sousa⁶; M.T. Lima², I. Araújo³; M.A. Santos^{6,7}; S. Dequin⁴; M. Casal¹; D. Schuller¹

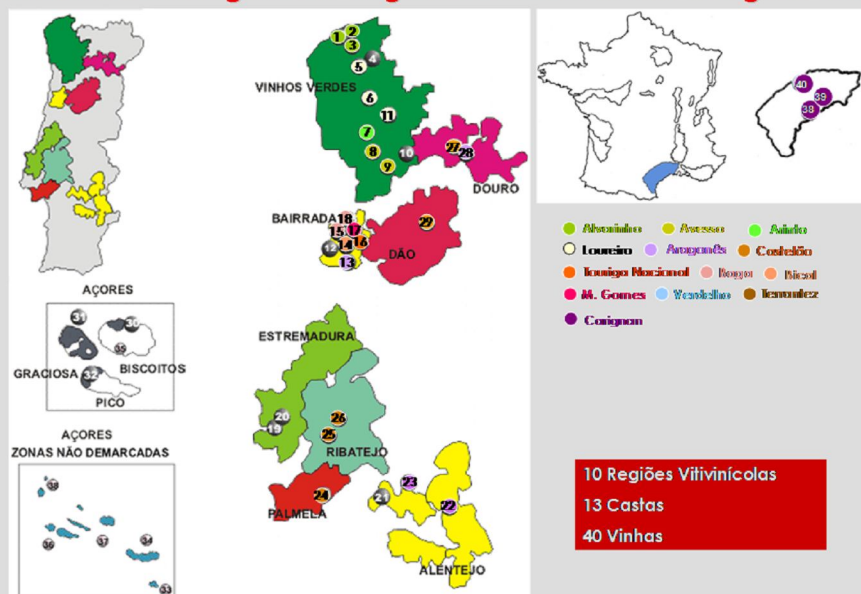
- (1) Centro de Biologia Molecular e Ambiental (CBMA)/ Departamento de Biologia/ Universidade do Minho, Braga, Portugal
- (2) Centro de Investigação de Tecnologias Agrárias, Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo, Portugal
- (3) Vinalia - Soluções de Biotecnologia para a Vitivinicultura, Spin-off da Universidade do Minho, Braga, Portugal
- (4) INRA Montpellier SupAgro, Montpellier, França
- (5) Dep. De Biologia molecular e Engenharia Bioquímica, Universidade de Pablo de Olavide, Sevilha, Espanha
- (6) BIOCANT, Centro de Inovação em Biotecnologia, Cantanhede, Portugal
- (7) CESAM e Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal

eugenia.vieira@vinalia.com.pt



MÉTODOS

Locais de amostragem nas Regiões Vitivinícolas de Portugal e França

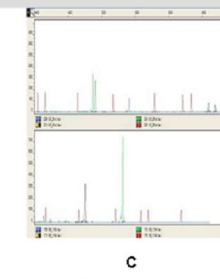
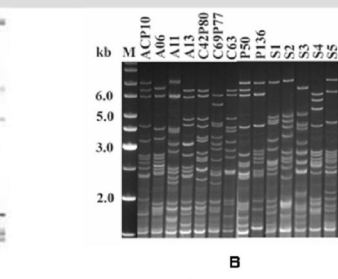
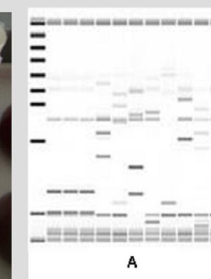


Isolamento de leveduras

Colheram-se asepticamente 2kg de uvas em 6 locais de amostragem por vinha. Realizaram-se fermentações espontâneas a partir do mosto, que foram seguidas diariamente pela determinação da perda de peso. Na fase final de cada fermentação obtiveram-se 30 colónias que foram armazenadas (-80°C) para posterior extracção de DNA e identificação molecular.

Caracterização de estirpes de *S. cerevisiae*

Todos os isolados foram caracterizados pela análise de sequências interdelta (A) ou perfis de restrição de DNA mitocondrial (B). Uma estirpe representativa de cada conjunto de isolados que partilhavam o mesmo perfil, foi ainda analisada quanto à sua combinação alélica de 6 microssatélites polimórficos (C).



CONCLUSÕES

A colecção de estirpes de *S. cerevisiae* constitui um recurso importante para:

- ❖ a selecção de estirpes que poderão ser utilizadas na produção vinhos com aromas diferenciadores;
- ❖ estudos ecológicos e de conservação da biodiversidade;
- ❖ desenvolvimento sustentável de recursos genéticos;
- ❖ partilha de dados genéticos e fenotípicos.

Os trabalhos em curso pretendem avaliar as características enológicas das estirpes da colecção de modo a seleccionar leveduras apropriadas para a vinificação e a manutenção da tipicidade dos vinhos de um determinado local – "leveduras à la Carte".

Bibliografia

- [1] Schuller, D., et al. FEMS Microbiol Letters, **2004**, 231:19-26
- [2] Schuller, D., et al. FEMS Microbiology Ecology, **2005**, 51: 167-177.
- [3] Schuller, D., M. Casal, Antonie Van Leeuwenhoek, **2007**, 91(2): 137-150

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelos programas POCI 2010 (FEDER/FCT, POCTI/AGR/56102/2004), PTDC (AGR-AUI/103392/2008) e do Sétimo Programa Quadro da Comunidade Europeia (7PQ / 2007-2013) sob o contrato n.º 232454.

