

ORIGINAL

Levaduras para enología de mínima intervención: microbiota del terruño y diferenciación de sabores

Francisco Carrau¹, Eduardo Boido¹ y Antonio Morata²

¹ Área Enología y Biotecnología de Fermentaciones, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

² Grupo Enología, Enotecnia y Biotecnología Enológica, Departamento de Química y Tecnología de Alimentos, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, España

Recibido 29 de octubre de 2023 / Aceptado 07 de diciembre de 2023 / Publicado 1 de mayo de 2024

RESUMEN

Las flores de *Vitis vinifera* y sus frutos, la uva, son uno de los nichos ecosistémicos más interesantes para el desarrollo de levaduras autóctonas. Existen más de cien especies de levaduras en las uvas y millones de cepas que participan y contribuyen a diseñar el *terroir* microbiano. El concepto de terruño vinícola se entendió cuando se delimitaron las microrregiones de uva y vino por sus diferentes características de calidad, después de que el ser humano llevara cultivando la vid más de diez mil años. Las condiciones ambientales, como el clima, la composición del suelo, la gestión del agua, los vientos y la calidad del aire, la altitud, la fauna y la flora y los microbios, se consideran parte del terruño y contribuyen a un estilo de vino único. Si se aplican estrategias de "vinificación de mínima intervención", cabe esperar que el efecto *terroir* sea más auténtico en términos de diferenciación de la calidad. Curiosamente, el papel de la flora microbiana asociada a las vides ha sido muy poco estudiado hasta hace pocos años, cuando se desarrollaron nuevas tecnologías genéticas para la identificación masiva de especies. Estas biotecnologías permitieron seguir sus cambios ambientales y su efecto en la conformación de los perfiles microbianos de diferentes regiones vinícolas. En este artículo explicamos los interesantes efectos positivos sobre la diversidad de sabores y la calidad del vino obtenidos mediante el uso de levaduras *amigables* que permiten a la flora microbiana autóctona del terruño participar y contribuir durante la fermentación. Se discute su potencial aporte a una gestión basada en la enología de mínima intervención.

PALABRAS CLAVES

Levaduras autóctonas, uvas, fermentación, sabor del vino, no-*Saccharomyces*, *terroir*, cultivos mixtos.

1. INTRODUCCIÓN

El concepto de vinificación con mínima intervención fue introducido en los años 90 por unos pocos enólogos con experiencia práctica que descubrieron que la mínima manipulación de la uva y eludir algunas prácticas enológicas en la bodega mejoran la calidad del vino (Ramey, 1995). El concepto se basa en que cuanto menos se manipulan las uvas y los vinos se evitan fenómenos de oxidación o la pérdida de compuestos claves del color y el aroma de los vinos. Durante los años 70, se produjo un gran desarrollo y entrada en bodega de nuevas tecnologías, como depósitos de acero inoxidable, capacidad de refrigeración y filtración, tecnología de bombeo y prensado de la uva, ajustes del pH mediante la adición de ácido tartárico, métodos de clarificación, aplicaciones de levaduras comerciales, adición de sales de amonio y otros aditivos. Sin embargo, algunos vinicultores empezaron a detectar que algunas de estas operaciones de vinificación estaban afectando la composición, el color, el sabor, el cuerpo y el paladar del vino. Cuanto más se manipulan los mostos de uva y el vino, más se pierden antocianos, aromas y otros compuestos relacionados con la estructura, como proteínas, lípidos, fenoles y polisacáridos. El concepto de Enología de Mínima Intervención (EMI), procede del gran movimiento que se inició en los años 1970-1980 como reacción a la agricultura convencional, que triplicó o cuadruplicó el uso de fertilizantes y productos químicos durante el periodo 1960-1980. Algunas plantaciones masivas de materias primas aumentaron exponencialmente en esa época, con muchos efectos secundarios adversos para las condiciones alimentarias y medioambientales (Schaller, 1993).

Aunque no existe demasiada información científica en la bibliografía sobre estos temas en relación con las uvas y los vinos, se sabe claramente que en el entorno vinícola muchos enólogos empiezan a prestar más atención a

estos temas para obtener una mayor diferenciación de la calidad (Carrau et al. 2020). La industria del vino de calidad está creciendo exponencialmente y hoy en día se considera que este sector es el que tiene la mayor cantidad de marcas en competencia dentro de la industria alimentaria (Bellini y Resnick, 2018), con más de un millón de marcas de vino en el mercado. Los vinicultores del futuro tratarán de diferenciar su producto y centrarse en características regionales únicas (los conceptos de *terroir* y fenotipo de sabor). Los enólogos y los científicos del vino han empezado a comprender que el *terroir* o terruño microbiano existe y puede moldear la composición de levaduras autóctonas de las uvas durante la vendimia (Gilbert et al., 2014). El papel de las levaduras autóctonas dentro del concepto de terruño y cómo influyen en los vinos finales se había ignorado hasta hace poco. El hecho de que muchas levaduras autóctonas no estén adaptadas al mosto de uva o al ecosistema de la bodega o que puedan producir sabores extraños ha sido objeto de investigación durante muchas décadas. La contribución potencial o positiva de las levaduras no-*Saccharomyces* se subestimó (Ciani y Comitini, 2011; Jolly et al., 2014; Mar-

tin et al., 2018; Morata et al. 2020; Morata et al. 2023) y el objetivo principal durante décadas era obtener una fermentación completa y evitar la producción de aromas desagradables. Este reto mejoró claramente con el uso de cepas de levadura comerciales de *Saccharomyces cerevisiae*. En la mente de los vinicultores existía un conflicto entre el compromiso de la estandarización o asumir el riesgo de buscar la diversidad de sabores (Carrau et al., 2015). Sin embargo, más recientemente se ha descubierto que la diversidad o complejidad del sabor no se obtiene con la fermentación pura de cepas de fermentación muy eficientes, donde la producción de etanol es la principal capacidad de levaduras como *Saccharomyces cerevisiae*. Se identificaron muchas especies no-*Saccharomyces* como buenas productoras de intensos sabores en cultivos puros o mixtos con cepas de *Saccharomyces*, en comparación con la aplicación convencional de cultivos puros de *S. cerevisiae*. El aumento de la diversidad de levaduras incrementa la complejidad del sabor y podría completar la fermentación del mosto de uva y permitir al vinicultor expresar las diferencias de terruño que dan visibilidad a su marca en este enorme mercado del vino.

Powered by

Xpür[®]

NEUTRALIDAD AUMENTADA

Con un balance de CO₂ de - 395 gramos, Xpür[®] es uno de los tapones micro granulados de nueva generación de mayor rendimiento del mundo. La tecnología de fluido super crítico del siglo XXI elimina la necesidad de componentes artificiales para proteger las propiedades mecánicas y naturales del corcho.



Instagram icon amorimcorkstoppers

amorimcork.com

AMORIM CORK

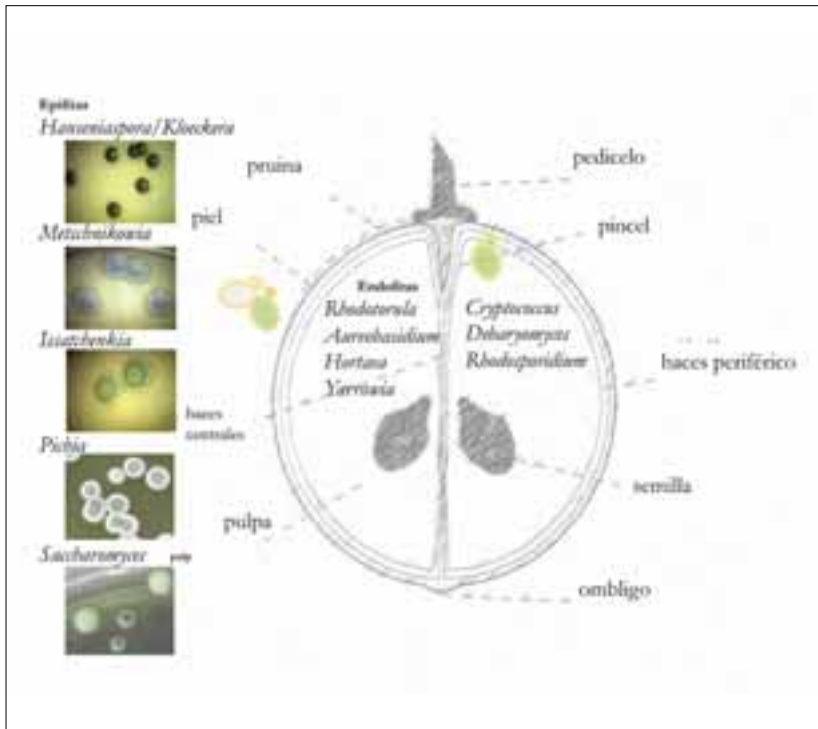


Figura 1. Estructura del grano de uva. En este esquema se muestra la estructura de la baya de uva junto con los principales géneros de levaduras identificados como epifitos y endófitos que se encontraron en la *Vitis vinifera tannat* utilizando métodos de cultivo y transcriptómicos (Godoy et al., 2018). Curiosamente, los endófitos son principalmente del grupo de levaduras basidiomicetos, y normalmente no tienen capacidad de fermentar, pero sí pueden aportar enzimas interesantes en las etapas de pre-fermentación. Las levaduras más abundantes en las cascaras de la uva se muestran con el tipo de colonia crecidas en placas del medio de cultivo WLN. De esta flora nativa presente en uvas, solo entre el 5 y el 10% de esta flora resultó ser antagonista frente a hongos patógenos, y un porcentaje similar contribuía con sabores superiores a la calidad del vino. Estos resultados demuestran que trabajar con fermentación espontánea sería una estrategia riesgosa para el enólogo. Una estrategia de vinificación de mínima intervención consistiría en aumentar esta flora beneficiosa en el viñedo mediante su selección y aplicación en las vides.

2. LEVADURAS Y DIVERSIDAD, IMPACTO SENSORIAL

La aplicación de las mismas cepas comerciales en diferentes regiones del mundo da lugar a productos menos diferenciados, lo que limita la diversidad del estilo de vino del productor. Algunos vinicultores consideran que ésta es una debilidad de la tecnología actual de vinificación y están interesados en producir vinos de estilo único, con una manipulación mínima y evitando el uso de algunos aditivos que empobrecen la composición final. Esta estrategia de vinificación es posible principalmente con vinos producidos a partir de uvas con una concentración óptima de los compuestos claves relacionados con la estabilidad y la calidad del vino, como un alto contenido en polifenoles, mayor extracto total y pH debajo de 3.5. La composición de las bayas de uva es el principal determinante de la composición del mosto antes de la fermentación. La manipulación de las vides tiene el potencial de influir en la composición de las bayas de uva y, en última instancia, en la composición del vino, lo que, a su vez, puede afectar su estabilidad frente al deterioro microbiano. Como se mencionó muchos de estos conceptos técnicos se denominaron "vinificación de mínima intervención" (Ramey, 1995) y, se plantea aquí que, después de obtener una alta calidad de la uva, la microflora natural y/o el tipo de cepa de levadura inoculada es el segundo paso clave en la vinificación para aumentar la calidad y la complejidad

(Carrau, 2006; Carrau, 2005). El concepto de terruño sigue siendo muy controvertido, como ha sido debatido recientemente por Pretorius (Pretorius, 2020). La importancia de respetar el terruño microbiano, las levaduras autóctonas o salvajes para diferenciar nuestros vinos y darles una identidad de origen es un tema para ser tomado en cuenta. La tecnología humana debe ser muy precisa y segura para dejar que el terroir microbiano influya en su producto final. Es la tecnología humana, en determinadas ubicaciones únicas de los viñedos, la que ha desarrollado una reputación regional basada en la calidad del vino hace cientos de años.

3. LA FLORA MICROBIANA NATIVA DEL VIÑEDO ES PARTE DEL 'TERROIR'

La flora microbiana autóctona como parte del concepto de terroir fue objeto de debate durante muchos años. Hoy en día, las tecnologías de secuenciación de nueva generación demuestran claramente que es una de las características clave de una determinada región vinícola (Bokulich et al., 2014; Curtin y Pretorius, 2014; Gilbert et al., 2014; Liu et al. 2019; Pretorius, 2020). El uso masivo de levaduras comerciales de la especie *S. cerevisiae* ha interferido, lo que podría ser el potencial de las levaduras autóctonas fermentando sus propias uvas. En la **Figura 1** se muestra la flora naturalmente presente en el grano de uva cuando estas están maduras.



PARSEC

air miXing[®]
MODULATED INJECTION

LA NUEVA ERA EN LA ELABORACIÓN DE TINTOS DE CALIDAD

El único sistema de inyección modulada con aire comprimido que permite un control total de la extracción.

¡El mejor sistema para aprovechar al máximo el potencial de tus uvas!



2014 - IT 1427181 - EU 3094715

PATENTED

¡DESCONFÍE DE LAS IMITACIONES!

Extracción eficaz y selectiva de toda la masa.

Disminución del tiempo de fermentación.

Homogeneización termo densimétrica en todo el depósito.

Mejora la Extracción de color, aromas y polifenoles.

Ahorro de más del 50% de frigorías en fermentación.

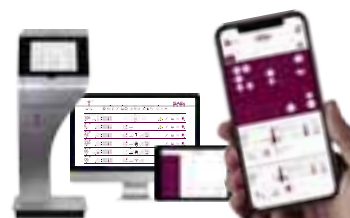
Importante disminución del uso de productos enológicos.

VINITECH BORDEAUX

SIMEI MILANO



2022 | LA TECNOLOGIA PARSEC MULTI GALARDONADA



SAEN 5000

El único sistema multiprocesador, multifunción, modular, integrado e interactivo **para el control total de los procesos enológicos.**

Plaza San Adrián n.2, 26007 Logroño
Polígono Industrial Campollano, C/B 118, 02007 Albacete
Tel +34 967 046 901 (solo whatsapp)
www.parsecsrl.net | sales@parsecsrl.net

STAND
A1F073





Figura 2. Las flores y frutas son un nicho ideal para el desarrollo de levaduras, es por esto que son parte del terruño microbiano asociado no solo a la variedad de uva plantada sino también a las especies de flora y fauna nativas del nicho geográfico. A la izquierda la flor de la vid, a la derecha se ve la flor del *Senecio brasiliensis*, conocida también como *María mole*, flor nativa en el noreste de Uruguay. Los insectos y aves en este caso intercambiarían levaduras entre ambas microbiotas de las flores y frutas de plantas nativas con las de la viña ya que florecen simultáneamente en la primavera.

Curiosamente, se sabe que la dispersión regional de células de levaduras nativas por insectos como las abejas melíferas se estimó en no más de 10 km desde su origen (Goddard et al., 2010). Esto asegura un límite restringido para la diversidad de la microbiota dentro de unos pocos viñedos de una determinada microrregión (Figura 2). En realidad, el grano de uva se ha desarrollado por la *Vitis* para que las semillas sean dispersadas por las aves, siendo el color, el aroma y el gusto lo que atrae a diversas especies de aves cuando estas maduran. La mayoría de las aves que se alimentan de uva solo dispersan las semillas apenas unos kilómetros. Algunas aves como las palomas pueden volar unos 60 km desde sus nidos para alimentar sus crías con uvas (Godoy et al. 2018). Las aves migratorias pueden dispersarse aun muchos más kilómetros, pero solo se han identificado algunas cepas de *Saccharomyces* que podrían resistir estos trayectos (Francesca et al., 2012), aunque las aves migratorias normalmente no se alimentan de uvas. Las cepas no-*Saccharomyces* están probablemente más restringidas a terruños regionales locales que *Saccharomyces*, por su mayor sensibilidad al cambio de nicho. Estos datos y los estudios más recientes de secuenciación genética masiva mencionados de la microbiota de cada viñedo coinciden que esta flora estará restringida a zonas no más extensas que unos kilómetros y esto dará características particulares a las levaduras nativas.

Daremos aquí algunos ejemplos, de cómo podrían seleccionarse las levaduras autóctonas para la producción de vinos únicos altamente diferenciados. Se discutirá el uso

de levaduras seleccionadas, y el concepto de cepas "amistosas" con respecto a las convencionales *Saccharomyces*, y cómo comparten su nicho de fermentación con la flora de levaduras naturales de un determinado emplazamiento vitícola o terruño específico, lo que permite obtener una mayor diversidad de levaduras que contribuirán a la complejidad del sabor del vino. Por el contrario, la mayoría de las cepas de *Saccharomyces* no permiten esto cuando se utilizan convencionalmente. Estos conceptos microbianos aplicados contribuirán a ayudar a desarrollar nuevas estrategias para que los enólogos eviten las pérdidas de características sensoriales en diferentes ecosistemas vitivinícolas o terruños. Al mismo tiempo evitar el riesgo de utilizar fermentaciones espontáneas con levaduras autóctonas normalmente desconocidas o no controladas en la bodega.

4. ENOLOGÍA DE MÍNIMA INTERVENCIÓN Y LEVADURAS

Desde un punto de vista práctico, hay muchos ejemplos que pueden mostrar la importancia de una manipulación mínima de las uvas y los mostos antes y después de la vinificación. Muchos fenómenos físicos y químicos afectan a la calidad del vino en los pasos previos a la fermentación, y esto, junto con las interacciones microbianas durante todo el proceso, afectará a las características sensoriales del producto final. Hace unos años se ha demostrado, con dos cepas modelo de *Saccharomyces*, un ejemplo interesante de cómo las adiciones de fosfato di-amónico (DAP) en los años 70 se incrementaron para resolver las características de alta demanda de nitrógeno

Francisco Carrau, Eduardo Boido y Antonio Morata

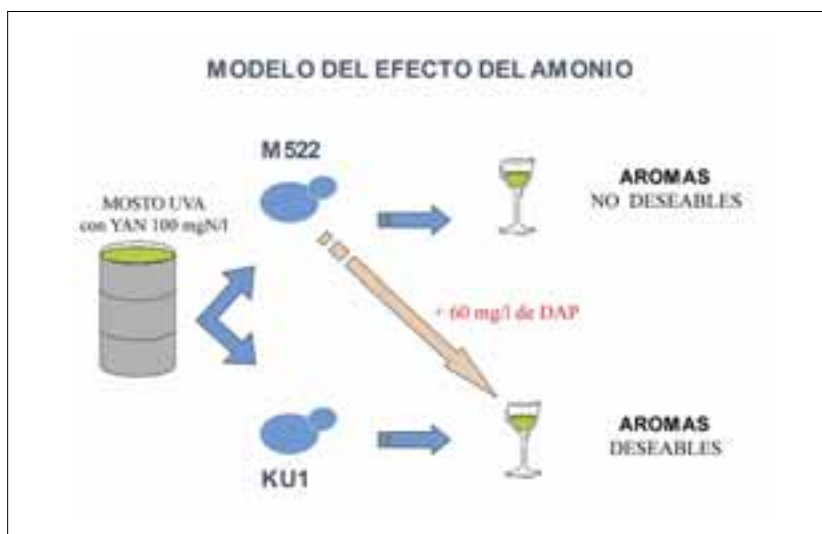


Figura 3. La selección de levaduras de baja demanda de nitrógeno asimilable YAN, es una de las claves para evitar la adición de sales de amonio (DAP) durante la vinificación, y este es un ejemplo de la estrategia de la Enología de Mínima intervención. La síntesis de los principales compuestos aromáticos se ve afectada negativamente por las adiciones de DAP, como los tioles, bencenoides, sesquiterpenos, lactonas, y compuestos derivados de los aminoácidos como el acetato de feniletilo. Algunas cepas comerciales como la de este modelo, la M522, solo produce ésteres agradables con niveles mayores a 200 mgN/L de YAN. Mientras que la cepa KU1 produce mayor concentración de ésteres con aromas agradables con menos YAN (Carrau et al., 2008), evitando así el uso de adiciones de DAP.

de unas pocas cepas comerciales que había en esa época, como Montrachet 522 (Carrau, 2006, Carrau, 2005). La pregunta es, ¿por qué existen algunas cepas seleccionadas de *Saccharomyces* que, incluso con niveles de nitrógeno asimilable de más de 200 mgN/l, producen un fenotipo de sabor no deseable con notas a reducción? (Carrau et al., 2008). Curiosamente, dentro de las cepas *Saccharomyces*, se demostró que la cepa comercial M522 aumenta la producción de ésteres por adición de DAP y que la cepa nativa KU1 disminuye la producción por encima de 125-180 mgN/l. El mismo mosto dará lugar a vinos diferentes dependiendo de la cepa de levadura utilizada (ver la [Figura 3](#)).

Las estrategias de vinificación de mínima intervención deben buscar métodos preventivos, como cepas seleccionadas, que no requieran adición de nutrientes. Tal sería el uso de una cepa seleccionada para procesos con bajo contenido en nitrógeno asimilable, como la cepa KU1 del modelo mencionado, que está adaptada al entorno natural de los mostos de uva con bajo contenido en nitrógeno. Hay muchos ejemplos de compuestos aromáticos que disminuyen cuando el nitrógeno asimilable por la levadura es alto o se añade fosfato de amonio (DAP) a un mosto de uva. Se ha demostrado para muchos compuestos producidos por *Saccharomyces*, como alcoholes superiores, algunos ésteres, lactonas, algunos compuestos azufrados, bencenoides, sesquiterpenos y otros fenilpropanoides (Carrau et al., 2017; Martin et al., 2016; Carrau et al. 2020). Más recientemente, también se demostró una disminución de algunos com-

puestos importantes derivados del azufre, como los tioles precursores varietales, que son típicos en variedades como *sauvignon blanc* (Alegre et al., 2017). Sin embargo, en la literatura se encuentran algunos resultados inconsistentes sobre la ventaja de trabajar con niveles bajos de nitrógeno asimilable y evitar la adición de DAP. Esto se debe a que hay muchos datos experimentales que no consideran el nivel de disponibilidad de nitrógeno ni la flora competitiva, mixta y natural que aparece en los mostos de uva de vinificación reales cuando se aplican levaduras secas comerciales (Carrau et al., 2017). Para seleccionar cepas con baja demanda de nitrógeno se diseñó un medio sintético de fermentación similar al de la uva que permite un rápido *screening* del sabor que producen con un nivel de nitrógeno asimilable de 100 mgN/L (Carrau et al., 2015), así como un análisis sensorial sencillo del cultivo puro. Este medio al ser sintético compuesto por todos los aminoácidos permite también estudiar el efecto del agregado de DAP y cómo afecta algunos aromas varietales típicos de las uvas. Con este ejemplo de selección de levaduras para la enología de mínima intervención, mostraremos otros aspectos de este concepto relacionados a las levaduras y su potencial contribución al mejoramiento de los procesos para disminuir la manipulación de los vinos.

5. LA ALTERNATIVA: CULTIVOS MIXTOS Y LEVADURAS NO-SACCHAROMYCES

Los cultivos mixtos fueron la estrategia principal para la búsqueda de complejidad sensorial, y se utilizaron aña-

Levaduras para enología de mínima intervención: microbiota del terruño y diferenciación de sabores



Figura 4. Selección de levaduras por degustación. Solo el 5 a 10% de las levaduras que llegan con la uva tienen aromas agradables o superiores favoreciendo el vino final. Esto significa un riesgo para el enólogo que pretenda fermentar espontáneamente. De ahí la importancia de seleccionar las mismas mediante un pie de cuba, si se quiere utilizar la flora nativa por fermentación espontánea, o seleccionar las cepas antes de las vendimias anuales. Las levaduras que llamamos amigables significa que aseguran el inicio de fermentación pero dejan crecer la flora nativa presente en la vid, incrementando la diversidad y la complejidad de los vinos.

diendo una cepa *Saccharomyces* después de inocular una cepa no-*Saccharomyces* (inoculación secuencial) para finalizar la fermentación cuando el alcohol supera aproximadamente el 10% vol. Se ha demostrado que el efecto inicial de diversas cepas no-*Saccharomyces* influyó significativa y positivamente en el sabor final del vino. Algunas publicaciones han proporcionado ensayos para probar estos resultados a escala de laboratorio con algunos géneros de levadura, como *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Torulasporea*, *Metschnikowia*, *Lachancea* y *Schizosaccharomyces* (Anfang, Brajkovich & Goddard, 2009; Carrau et al. 2015; Ciani & Comitini, 2011; Fleet, 2003; Jolly et al., 2014; Thailandier et al., 2014; Seguinot et al., 2020). Algunas referencias más recientes han demostrado también el incremento de complejidad química y sensorial por el uso de cultivos mixtos entre varias especies como *Lachancea thermotolerans* con otras especies no-*Saccharomyces* como *H. vineae*, *H. opuntiae*, *M. pulcherrima*, *Sch. pombe* y *T. delbrueckii* (Loira et al, 2018; Morata et al, 2018; Morata et al, 2022b; Morata et al, 2020; Morata et al, 2021; Morata et al., 2023; del Fresno et al, 2021a; del Fresno et al, 2022; Vaquero et al, 2021b; Morata et al, 2019b; Escott et al, 2022), y en condiciones reales de vinificación (Lleixà et al., 2016; Medina et al., 2013). El crecimiento inicial de levaduras no-*Saccharomyces* en la fermentación tuvo un efecto inhibitorio sobre el crecimiento posterior de *S. cerevisiae*. En la mayoría de los procesos de cultivo mixto descritos se observó un perfil de fermentación más lento. Aunque esto podría ser interesante para la calidad y la baja demanda de energía para el control de la temperatura de fermentación, esta inhibición podría estar implicada en fermentaciones len-

tas con el riesgo de una detención final. Estos problemas pueden evitarse añadiendo algunas vitaminas clave o extractos de células de levadura cuando *Saccharomyces* se inocula o empieza a crecer de forma natural a mitad de la fermentación y los nutrientes son consumidos por la flora inicial (Martin et al., 2018; Medina et al., 2012; Gobert et al. 2019). Se ha visto que la co-inoculación también ha evitado que la cepa de *Saccharomyces* involucrada se enlentezca en el proceso final de fermentación, y con solo un 20% del inoculo con *Saccharomyces* y 80% *H. vineae* se logra la misma velocidad de fermentación que la cepa pura (Gallo et al. 2023). Existe una gran controversia en cuanto al efecto de dejar crecer espontáneamente las levaduras autóctonas sobre la calidad organoléptica de los vinos, debido al riesgo de producción de grandes cantidades de acetato de etilo, ácido acético o sulfuro de hidrógeno. En nuestra experiencia utilizando el análisis sensorial, examinamos levaduras autóctonas aisladas de uvas sanas de *tannat*, y los resultados mostraron que solo alrededor del 10% de las cepas eran productoras de características sensoriales agradables o superiores (Carrau et al. 2015). Este hecho explicó por qué la fermentación espontánea no es una alternativa para los enólogos en la actualidad. Dentro de las limitadas cepas seleccionadas por este método (Figura 4), descubrimos muchas cepas de *Hanseniaspora vineae*, *Metschnikowia pulcherrima* y *M. fructicola* que producían sabores superiores. En cultivos mixtos secuenciales con *Saccharomyces* se obtuvieron aromas afrutados intensos que contribuyeron a aumentar el carácter varietal de la variedad *tannat* utilizada (Medina et al, 2021). Los vinos obtenidos a nivel indus-

Francisco Carrau, Eduardo Boido y Antonio Morata



Figura 5. Mayor diversidad de levaduras en la vinificación resulta en mayor complejidad sensorial y mayor estabilidad microbiana de los vinos terminados. El objetivo de seleccionar levaduras amigables es porque estas cepas no son tan competitivas como las convencionales *Saccharomyces* dejando entonces crecer otras especies a lo largo de la vinificación (Carrau & Henschke, 2021). Se considera que este proceso aumenta la diversidad de levaduras e incrementa la complejidad del sabor, la estabilidad microbiana y la diferenciación del vino en el mercado. Las estrategias de vinificación de mínima intervención se ven favorecidas por el aumento de la diversidad de levaduras ofreciendo mayor identidad regional.

trial fueron más afrutados, con mayor color y similar acidez volátil y grado alcohólico en comparación con la vinificación pura con *Saccharomyces* (Medina et al., 2018). Resultados similares se obtuvieron con fermentaciones de *chardonnay* en barrica (Medina et al., 2013). Durante experimentos con fermentaciones espontáneas, observamos que algunas inoculaciones con cepas no-*Saccharomyces* empezaron a fermentar lentamente y se comportaron de forma similar a los tratamientos espontáneos desde el punto de vista de la cinética de fermentación, pero siempre con aromas agradables. Los métodos de identificación molecular confirmaron que

incluso estos tratamientos tienen más diversidad de cepas de levadura en el proceso que el espontáneo (Medina et al., 2013; Martín et al., 2018). Estos resultados llevaron a considerar que existen levaduras más y menos competitivas durante la fermentación. Estas últimas serían una forma amigable de compartir el medio de fermentación si el *starter* permite que otras especies de levaduras crecieran (Carrau & Henschke, 2021), y contribuyeran con diversos metabolitos en comparación con una fermentación de una sola cepa como sucede normalmente con las levaduras convencionales como *Saccharomyces*. Ver [Figura 5](#).

VinoTEC

Soluciones Tecnológicas de Gestión para Bodegas
POWERED BY

Súmate al Programa AIM vitivinícola

Accelerate | Innovate | Move

Una iniciativa gratuita de Microsoft para comprender el potencial de la nube. Se inicia una nueva era en el software de gestión empresarial impulsada por la inteligencia artificial.

IMPLEMENTA VINOTEC APROVECHANDO LAS AYUDAS DEL KIT DIGITAL.

www.vinotec.net

941 202 069

VinoTEC es una marca registrada propiedad de TIPSA S.L.

6. LAS LEVADURAS AMIGABLES COMPARTEN LA FERMENTACIÓN CON LA MICROBIOTA DEL TERRUÑO

El método de selección en medio de bajo nitrógeno (Carrau et al. 2008), contribuye a la selección de una nueva generación de cepas de levaduras autóctonas adaptadas a estrategias de vinificación de mínima intervención, en las que se puede evitar la adición de sales de amonio, por ejemplo, y respetar el perfil natural de aminoácidos de una determinada variedad (Carrau et al., 2015). Durante los ensayos de vinificación con Chardonnay fermentado en barrica con cepas de *Hanseniaspora vineae* (Medina et al., 2013), se observó que las barricas convencionales inoculadas con *S. cerevisiae* ALG804 estaban inmediatamente dominadas por esta cepa a los tres días y totalmente al día 10. En los ensayos espontáneos se encontraron cuatro cepas diferentes compartiendo el proceso en el día 10, en el cultivo mixto de *H. vineae* con *S. cerevisiae* se identificaron seis cepas dife-

rentes en el día 10, y en el cultivo único de *H. vineae* se identificaron más de ocho cepas diferentes en el día 10 (Carrau & Henschke, 2021).

7. ALGUNAS APLICACIONES DE LEVADURAS PARA LA ENOLOGÍA DE MÍNIMA INTERVENCIÓN

Se han ido investigando otras aplicaciones de las levaduras para disminuir la intervención. En la [Tabla 1](#) enumeramos una serie de aplicaciones que permiten optimizar el proceso enológico con el objetivo de disminuir el uso de aditivos, se indican las referencias correspondientes.

8. CONCLUSIONES

En esta revisión se trata de llamar la atención sobre el importante concepto de las tecnologías de mínima intervención para proteger el sabor de la principal bebida fermentada, el vino. Se hace hincapié en las

Fabricando bombas desde 1970






EQUIPOS DE BOMBEO
www.bombasparralamanca.com



Poligono Industrial Serycal - Avda. Julián Sáez, nº 38 - PEDRO MUÑOZ - Ciudad Real



bombas parra

Tel. 926 58 60 72 - info@bombasparralamanca.com



@bombasparra

Francisco Carrau, Eduardo Boido y Antonio Morata

| Objetivo | Fenómeno | Levadura | Referencias |
|---|--|--|---|
| Evitar pérdidas de color | Estabilidad de color y síntesis de compuestos derivados de antocianos. | Levaduras <i>Saccharomyces</i> y no- <i>Saccharomyces</i> sintetizan derivados de antocianos que mejoran el color. | Medina et al., 2005; Medina et al., 2018; |
| Aumento de acidez | Aumento de acidez total mediante la producción de ácido láctico. | <i>Lachancea thermotolerans</i> produce ácido láctico. | Morata et al, 2022 |
| Disminución de acidez | Disminución de la acidez total mediante el consumo de ácido málico. | <i>Schizosaccharomyces pombe</i> consume ácido málico. | Loira et al., 2018; |
| Disminuir uso de SO ₂ | Bioprotección por levaduras no fermentadoras evitan el uso de SO ₂ en la recepción y estrujado de las uvas | <i>Metschnikowia</i> , <i>Pichia</i> , <i>Lachancea</i> . | Canónico et al., 2023; Englezos et al, 2022; Di Gianvito et al, 2022 Oro et al., 2014; Simonin et al. 2020. Sipiczki 2020; Windholtz et al, 2021. |
| Cuerpo en boca | Lisis celular más rápida que <i>Saccharomyces</i> . Síntesis de manoproteínas. | <i>Hanseniaspora vineae</i> | Carrau et al. 2020; Del Fresno et al. 2021; Schwartz et al., 2022 |
| Disminuir el alcohol | Cepas que producen más glicerol o cultivos mixtos que aumentan metabolismo secundario. | Levaduras no- <i>Saccharomyces</i> y cultivos mixtos. | González et al., 2013 |
| Disminución de pérdida de aromas bajando el uso de bentonita. | Cepas con actividad proteasa disminuyen las proteínas inestables. | Algunas cepas no- <i>Saccharomyces</i> como <i>Hanseniaspora vineae</i> | Martin et al. 2022; 2023. |
| Control biológico por levaduras en el viñedo. | Antagonismo de levaduras contra hongos fitopatógenos. Competencia por nutrientes y síntesis de compuestos inhibidores. | <i>Metschnikowia pulcherrima</i> y <i>fructicola</i> . <i>Hanseniaspora uvarum</i> y <i>vineae</i> . | Rabosto et al. 2006. Spadaro&Droby, 2016. Carrau et al. 2023. |
| Clarificación y estabilidad microbiana para embotellar. | Floculación, consumo total de YAN, sensibilidad a sulfitos, etc. | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Inóculos en cultivos mixtos | Cibrario et al. 2019; Carrau et al. 2020. |



Figura 6. La comprensión del terruño y las tecnologías de vinificación de mínima intervención nos permitirán mostrar y buscar las verdaderas características particulares de nuestros vinos regionales. Como se ha mostrado, aunque haya otros viñedos cercanos, los recursos naturales y los diversos factores que se detallan en esta figura con algunos ejemplos muy característicos de una microrregión, como el clima, aire, suelo, agua, etc. Se muestran aspectos que son claramente influidos por la tecnología humana, como el riego, fertilización y agregado de levaduras comerciales. El compromiso de mantener la diversidad en el caso de las levaduras utilizadas es cuidar el uso de cepas de *Saccharomyces* porque rápidamente excluyen la flora nativa. Con el objetivo de diferenciación de los vinos, la búsqueda de inóculos iniciadores con especies no-*Saccharomyces*, que llamamos “amigables” es una estrategia que permitiría incrementar la diversidad en la fermentación.

levaduras y como estas colaboran o podrían colaborar en las estrategias del enólogo para aplicar mínima intervención en la elaboración de vinos. Muchos de los conceptos aquí tratados se aplican perfectamente a otras bebidas fermentadas, como la sidra, la cerveza, el sake o el kéfir. Los sabores son moléculas muy ligeras, y es fácil comprender que cuanto menos manipulamos los procesos entre la fermentación y el producto final acabado, menos sabores perderemos. Los alimentos fermentados están creciendo en todo el mundo, ya que se ha demostrado que son más saludables que muchos productos no fermentados. Esto no sólo se debe al aumento de probióticos que contribuyen con la microbiota humana y animal, sino también al hecho de que los microbios crecen en una materia prima y esto asegura la ausencia o inocuidad de potenciales agroquímicos de riesgo del alimento. Además, y no menos importante, las características sensoriales de los alimentos crudos en la cosecha se enriquecen con muchos compuestos secundarios, principalmente sabores producidos por la flora microbiana que participa en el proceso de fermentación. Así pues, tanto las explicaciones saludables como las sensoriales son los rasgos más importantes y las fuerzas de compra que, hoy en día, tienen en cuenta los consumidores para disfrutar de los alimentos.

En la **Figura 6** se muestra un esquema general del concepto de *terroir* o terruño y vinificación de mínima intervención. Hemos mostrado muchos ejemplos de cómo se

pueden aplicar estos principios en la vinificación y cómo un viticultor puede mejorar su estrategia para competir en este mercado masivo del vino, dejando que el terruño natural se exprese en los vinos a través de su fenotipo del sabor. Se han realizado enormes avances en la calidad de la fermentación gracias a la mejora de las levaduras en la fermentación de bodega, pero esto a uniformizado en algunos aspectos el perfil sensorial de los vinos. En estos últimos años nos hemos dado cuenta de que debemos desarrollar mayor diversidad de sabores para diferenciar y dar mayor identidad al vino en un mercado de los más grandes dentro de la industria de alimentos. La integración de los conocimientos desarrollados por numerosos procesos interdisciplinarios de innovación, como la biodinámica agrícola, la viticultura sustentable, la diversidad varietal de la vid, la selección microbiana, la gestión sostenible de la vinificación, el perfeccionamiento en la degustación, etc., dará lugar a una diferenciación sensorial intensa de lo que puede definirse como "vinos de terruño".

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha tenido el apoyo de diversas fuentes de financiación durante muchos años. Agradecemos la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC-UdeLaR) Grupos Proyecto nº 656, Uruguay. A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII), proyecto Alianza y Articulación Academia-Industria ANII ART_X_2022_1_172795 con Lage y Cia Uruguay/Oeno-

brands Francia, para la aplicación de nuevas levaduras no-*Saccharomyces* en los alimentos. El Prof. Antonio Morata de la UPM agradece al Proyecto ENOINNOVA-PRESS-PID2021-124250OB-100 Ministerio de Ciencia e Innovación, España.

REFERENCIAS

- Alegre, Y., Culleré, L., Ferreira, V., & Hernández-Orte, P. Study of the influence of varietal amino acid profiles on the polyfunctional mercaptans released from their precursors. *Food Research International*, 2017. 100, 740-747.
- Anfang, N., Brajkovich, M., & Goddard, M. R. Co-fermentation with *Pichia kluyveri* increases varietal thiol concentrations in Sauvignon Blanc. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 2009. 15 (1), 1-8.
- Bellini, N., Resnick, E. The luxury turn in wine tourism: Still good for local development? in: *Gastronomy and Local Development: The Quality of Products, Places and Experiences*. 2018. <https://doi.org/10.4324/9781315188713>
- Bokulich, N.A., Thorngate, J.H., Richardson, P.M., Mills, D.A., Microbial biogeography of wine grapes is conditioned by cultivar, vintage, and climate. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2014. 111, E139–E148.
- Canonico, L.; Agarbati, A.; Galli, E.; Comitini, F.; Ciani, M. *Metschnikowia pulcherrima* as biocontrol agent and wine aroma enhancer in combination with a native *Saccharomyces cerevisiae*. *LWT* 2023, 181, 114758. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114758>
- Carrau, F., Native yeasts for low input winemaking: Searching for wine diversity and increased complexity., in: *International Wine Microbiology Symposium*, 2006. C.S.U. (Ed.), *International Wine Microbiology Symposium*. California State University USA, Tenaya Lodge, CA, pp. 33–39.
- Carrau, F., Boido, E., Dellacassa, E., Yeast Diversity and Flavor Compounds, in: Jean-Michel Mérillon Kishan Gopal Ramawat (Ed.), *Fungal Metabolites*. 2017. Springer, Cham, pp. 569–597. https://doi.org/10.1007/978-3-319-19456-1_32-1
- Carrau, F., Gaggero, C., Aguilar, P.S., Yeast diversity and native vigor for flavor phenotypes. *Trends Biotechnol.* 2015. 33, 148–154.
- Carrau, F.M., Levaduras nativas para enología de mínima intervención: biodiversidad, selección y caracterización. *Agrociencia* 2005. 9, 387–399. <https://doi.org/10.2477/VOL9ISS1-2PP387-399>.
- Carrau, F.M., Medina, K., Farina, L., Boido, E., Henschke, P.A., Dellacassa, E., 2008. Production of fermentation aroma compounds by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts: Effects of yeast assimilable nitrogen on two model strains. *FEMS Yeast Res.* 8, 1196–1207. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00412>.
- Carrau, F., Boido, E., & Ramey, D. Yeasts for low input winemaking: microbial terroir and flavor differentiation. *Advances in Applied Microbiology*, 2020. 111, 89-121.
- Carrau, F., & Henschke, P. A. *Hanseniaspora vineae* and the concept of friendly yeasts to increase autochthonous wine flavor diversity. *Frontiers in Microbiology*, 2021. 12, 702093.
- Carrau, F., Dellacassa, E., Boido, E., Medina, K., Valera, M. J., Fariña, L. & Balestrazzi, L. Biology and physiology of *Hanseniaspora vineae*: metabolic diversity and increase flavour complexity for food fermentation. *FEMS Yeast Research*, 2023. 23, foad010.
- Ciani, M., Comitini, F. Non-*Saccharomyces* wine yeasts have a promising role in biotechnological approaches to winemaking. *Ann. Microbiol.* 2011. 61, 25–32.
- Cibrario, A., Avramova, M., Dimopoulou, M., Magani, M., Miot-Sertier, C., Mas, A., Dols-Lafargue, M., *Brettanomyces bruxellensis* wine isolates show high geographical dispersal and long persistence in cellars. *PLoS One* 2019. 14 (12).
- Curtin, C.D., Pretorius, I.S. Genomic insights into the evolution of industrial yeast species *Brettanomyces bruxellensis*. *FEMS Yeast Res.* 2014. 14, 997–1005. <https://doi.org/10.1111/1567-1364.12198>
- Del Fresno, J.M.; Escott, C.; Carrau, F.; Herbert-Pucheta, J.E.; Vaquero, C.; González, C.; Morata, A. Improving Aroma Complexity with *Hanseniaspora spp.*: Terpenes, Acetate Esters, and Safranal. *Fermentation* 2022, 8, 654. <https://doi.org/10.3390/fermentation8110654>
- Del Fresno, J.M.; Escott, C.; Loira, I.; Carrau, F.; Cuerda, R.; Schneider, R.; Bañuelos, M.A.; González, C.; Suárez-Lepe, J.A.; Morata, A. The Impact of *Hanseniaspora vineae* fermentation and ageing on lees on the terpenic aromatic profile of white wines of the Albillo variety. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 2195. <https://doi.org/10.3390/ijms22042195>
- Di Gianvito, P.; Englezos, V.; Rantsiou, K.; Cocolin, L. Bioprotection strategies in winemaking. *International Journal of Food Microbiology*, 2022, 364, 109532. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109532>
- Englezos, V.; Di Gianvito, P.; Peyer, L.; Giacosa, S.; Río Segade, S.; Edwards, N.; Rolle, L.; Rantsiou, K.; Cocolin, L. Bioprotective Effect of *Pichia kluyveri* and *Lactiplantibacillus plantarum* in Winemaking Conditions. *Am J Enol Vitic.* 2022 : ajev.2022.22008; <https://doi.org/10.5344/ajev.2022.22008>

Levaduras para enología de mínima intervención: microbiota del terruño y diferenciación de sabores

- Francesca, N., Canale, D. E., Settanni, L., & Moschetti, G.. Dissemination of wine-related yeasts by migratory birds. *Environmental microbiology reports*, 2012. 4(1), 105-112.
- Fleet, G.H., Yeast interactions and wine flavour. *Int. J. Food Microbiol.* 2003. 86, 11–22.
[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00245-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00245-9)
- Gallo, A., Larcher, R., Cappello, N., Paolini, M., Moser, S., Carrau, F., & Roman, T. Insights into the grape must composition effect on *Hanseniaspora vineae* performance and metabolic aroma compounds in Chardonnay base wine for sparkling wine production. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2023. 123, 105514.
- Gilbert, J.A., van der Lelie, D., Zarraonaindia, I., Microbial terroir for wine grapes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2014. 111, 5–6.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1320471110>
- Gobert, A., Tourdot-Maréchal, R., Sparrow, C., Morge, C., & Alexandre, H. (2019). Influence of nitrogen status in wine alcoholic fermentation. *Food Microbiology*, 83, 71-85.
- Goddard, M. R., Anfang, N., Tang, R., Gardner, R. C., & Jun, C. A distinct population of *Saccharomyces cerevisiae* in New Zealand: evidence for local dispersal by insects and human-aided global dispersal in oak barrels. *Environmental microbiology*, 2010. 12(1), 63-73.
- Godoy A , Da Silva, C. Martin, V. Medina K, Carrau, F. Endophytic yeasts associated with *Vitis vinifera tannat* grape of Uruguay. *Proceedings of ISSY 34*. 2018. Bariloche Argentina.
- González, R., Quirós, M., Morales, P. Yeast respiration of sugars by non-*Saccharomyces* yeast species: A promising and barely explored approach to lowering alcohol content of wines. *Trends Food Sci. Technol.* 2013. 29, 55–61.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2012.06.015>
- Jolly, N.P., Varela, C., Pretorius, I.S. Not your ordinary yeast: Non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered. *FEMS Yeast Res.* 2014. 14, 215–237.
<https://doi.org/10.1111/1567-1364.12111>
- Liu, D., Zhang, P., Chen, D., Howell, K.S., From the vineyard to the winery: how microbial ecology drives regional distinctiveness of wine. *Front. Microbiol.* 2019.10, 2679.
- Lleixà, J., Martín, V., Portillo, M. del C., Carrau, F., Beltran, G., Mas, A. Comparison of fermentation and wines produced by inoculation of *Hanseniaspora vineae* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Front. Microbiol.* 2016. 7.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00338>
- Loira, I.; Morata, A.; Palomero, F.; González, C.; Suárez-Lepe, J.A. *Schizosaccharomyces pombe*: A Promising Biotechnology for Modulating Wine Composition. *Fermentation* 2018, 4, 70.
- Martin, V., Boido, E., Giorello, F., Mas, A., Dellacassa, E., Carrau, F. Effect of yeast assimilable nitrogen on the synthesis of phenolic aroma compounds by *Hanseniaspora vineae* strains. *Yeast* 2016. 33, 323–328.
<https://doi.org/10.1002/yea.3159>
- Martin, V., Jose Valera, M., Medina, K., Boido, E., Carrau, F., Oenological impact of the *Hanseniaspora/Kloeckera* yeast genus on wines — A review. *Fermentation*. 2018. <https://doi.org/10.3390/fermentation4030076>
- Martin, V., Valera, M. J., Medina, K., Dellacassa, E., Schneider, R., Boido, E., & Carrau, F. Application of *Hanseniaspora vineae* to improve white wine quality. *White Wine Technology*, 2022. 99-115.
- Martin, V., Risso, C., Listur, B., Medina, K., Valera, M. J., Schneider, R., ... & Carrau, F. Proteolytic activity under white wine fermentation by *Hanseniaspora vineae* yeast strains. In *BIO Web of Conferences* 2023. (Vol. 56, p. 02020). EDP Sciences.
- Medina, K, Boido, E., Fariña, L., Gioia, O., Gomez, M.E., Barquet, M., Gaggero, C., Dellacassa, E., Carrau, F., Increased flavour diversity of *chardonnay* wines by spontaneous fermentation and co-fermentation with *Hanseniaspora vineae*. *Food Chem.* 2013. 141, 2513–2521.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.056>
- Medina, K., Boido, E., Dellacassa, E., Carrau, F., Yeast interactions with anthocyanins during red wine fermentation. *Am. J. Enol. Vitic.* 2005. 56, 104–109.
- Medina, K., Boido, E., Dellacassa, E., Carrau, F. Growth of non-*Saccharomyces* yeasts affects nutrient availability for *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* 2012. 157, 245–250.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.012>
- Medina, K., Boido, E., Dellacassa, E., Carrau, F., Effects of non-*Saccharomyces* yeasts on color, anthocyanin, and anthocyanin-derived pigments of Tannat grapes during fermentation. *Am. J. Enol. Vitic.* 2018. 69.
<https://doi.org/10.5344/ajev.2017.17055>
- Medina, K., Boido, E., Fariña, L., Ares, G., Dellacassa, E., & Carrau, F. Impacto en el aroma de vinos *tannat* producidos por diferentes levaduras en tres sistemas de vinificación. *South Florida Journal of Development*, 2021 2(2), 1565-1571.
<https://doi.org/10.46932/sfjdv2n2-034>

- Morata, A.; Arroyo, T.; Bañuelos, M. A.; Blanco, P.; Briones, A.; Cantoral, J. M.; Castrillo, D.; Cordero-Bueso, G.; Del Fresno, J. M.; Escott, C.; Escribano-Viana, R.; Fernández-González, M.; Ferrer, S.; García, M.; González, C.; Gutiérrez, A. R.; Loira, I.; Malfeito-Ferreira, M.; Martínez, A.; Pardo, I.; Ramírez, M.; Ruiz-Muñoz, M.; Santamaría, P.; Suárez-Lepe, J. A.; Vilela, A.; Capozzi, V. Wine yeast selection in the Iberian Peninsula: *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* as drivers of innovation in Spanish and Portuguese wine industries. *CritRevFoodSciNutr*. 2022, 10, 1-29.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2083574>
- Morata, A.; Escott, C.; Bañuelos, M.A.; Loira, I.; del Fresno, J.M.; González, C.; Suárez-Lepe, J.A. Contribution of Non-*Saccharomyces* Yeasts to Wine Freshness. A Review. *Biomolecules* 2020, 10, 34.
<https://doi.org/10.3390/biom10010034>
- Morata, A.; Loira, I.; Escott, C.; del Fresno, J.M.; Bañuelos, M.A.; Suárez-Lepe, J.A. Applications of *Metschnikowia pulcherrima* in wine biotechnology. *Fermentation* 2019, 5, 63.
<https://doi.org/10.3390/fermentation5030063>
- Morata, A.; Loira, I.; González, C.; Escott, C. Non-*Saccharomyces* as biotools to control the production of off-flavors in wines. *Molecules* 2021, 26, 4571.
<https://doi.org/10.3390/molecules26154571>
- Morata, A., Escott, C., C. González, I. Loira, F. Palomero1, M^a A. Bañuelos, J M del Fresno, C. Vaquero1, C. López, JM. Heras, J A. Suárez Lepe. Selección de levaduras para la mejora de la acidez, control del pH, modulación de la expresión aromática y aumento del volumen en boca en vinos de zonas cálidas. *Proyecto Freshwines. Enólogos2023*. 141 (64-73).
- Oro, L.; Ciani, M.; Comitini, F. Antimicrobial activity of *Metschnikowia pulcherrima* on wine yeasts. *Journal of Applied Microbiology*, 2014, 116, 1209-1217.
<https://doi.org/10.1111/jam.12446>
- Pretorius, I. S. Tasting the terroir of wine yeast innovation. *FEMS yeast research*, 2020. 20(1), foz084.T.
- Rabosto, X., Carrau, M., Paz, A., Boido, E., Dellacassa, E., Carrau, F.M., Grapes and vineyard soils as sources of microorganisms for biological control of *Botrytis cinerea*. *Am. J. Enol. Vitic.* 2006. 57, 332–338.
- Ramey, D., Low input winemaking- let nature do the work. in: C.S. Stockley R.S. Johnstone and T.H. Lee, A.N.S. (Ed.), *Proceedings Australian Wine Industry Technical Conference*. 1995. Adelaide, Australia, pp. 26–29.
- Schaller, N., The concept of agricultural sustainability. *Agric. Ecosyst. Environ.* 1993. 46, 89–97.
- Schwarz, L. V., Valera, M. J., Delamare, A. P. L., Carrau, F., & Echeverrigaray, S. A peculiar cell cycle arrest at g2/m stage during the stationary phase of growth in the wine yeast *Hanseniaspora vineae*. *Current Research in Microbial Sciences*, 2022.3, 100129.
- Seguinot, P., Bloem, A., Brial, P., Meudec, E., Ortiz-Julien, A., & Camarasa, C. (). Analysing the impact of the nature of the nitrogen source on the formation of volatile compounds to unravel the aroma metabolism of two non-*Saccharomyces* strains. *International journal of food microbiology* 2020., 316, 108441.
- Simonin, S.; Roullier-Gall, C.; Ballester, J.; Schmitt-Kopplin, P.; Quintanilla-Casas, B.; Vichi, S.; Peyron, D.; Alexandre, H.; Tourdot-Maréchal, R. Bio-Protection as an Alternative to Sulphites: Impact on Chemical and Microbial Characteristics of Red Wines. *Front. Microbiol.* 2020, 11, 1308.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01308>
- Sipiczki, M. *Metschnikowia pulcherrima* and related pulcherrimin-producing yeasts: fuzzy species boundaries and complex antimicrobial antagonism. *Microorganisms* 2020, 8, 1029. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071029>
- Spadaro, D., Droby, S. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends Food Sci. Technol.* 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.003>
- Taillandier, P., Lai, Q. P., Julien-Ortiz, A., & Brandam, C. Interactions between *Torulopsis delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* in wine fermentation: influence of inoculation and nitrogen content. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2014. 30, 1959-1967.
- Vaquero, C.; Loira, I.; Heras, J.M.; Carrau, F.; González, C.; Morata, A. Biocompatibility in ternary fermentations with *Lachancea thermotolerans*, other Non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces cerevisiae* to control pH and improve the sensory profile of wines from warm areas. *Front. Microbiol.* 2021, 12, 656262.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.656262>
- Windholtz, S.; Redon, P.; Lacampagne, S.; Farris, L.; Lytra, G.; Cameleyre, M.; Barbe, J.C.; Coulon, J.; Thibon, J.; Masneuf-Pomarède, I. Non-*Saccharomyces* yeasts as bioprotection in the composition of red wine and in the reduction of sulfur dioxide. *LWT* 2021, 149, 111781.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111781>