**Estudio del fenotipo *killer* de levaduras vínicas autóctonas de uvas**

Corrado MB (1), Schvindt Wehren YA (1), Nieto Centurión MC (1), Dalzotto MG (1), Soldá CA (1), Davies CV (1), Gerard LM (1).

(1) Facultad de Ciencias de la Alimentación, Monseñor Tavella N° 1450, Concordia, Entre Ríos, Argentina.

belen.corrado@uner.edu.ar

Las uvas constituyen un reservorio para gran cantidad de especies de levaduras, debido a su alta concentración de azúcares simples y bajo pH. Algunas de ellas, llamadas “*killer*”, se caracterizan por secretar una toxina proteica, que es letal para cepas sensibles de su misma especie o especies de diferentes géneros, pero siendo ellas mismas inmunes a sus propias toxinas. Según la producción de ésta se clasifican en tres fenotipos: cepas *killer*, las que la sintetizan y que tienen un efecto letal para las células de fenotipo sensible, las de fenotipo “neutro” que no la secretan, pero son resistentes a su acción y por último, las de fenotipo “sensible”, que ni sintetizan la toxina ni son resistentes a la misma. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la presencia del factor *killer* en *Saccharomyces cerevisiae* aisladas de uvas de las variedades Tannat (9 cepas) y Marselán (13 cepas) de la región de Concordia, Entre Ríos, Argentina. Estudios anteriores han demostrado que estas levaduras poseen una alta capacidad de floculación sin formar películas superficiales, que toleran hasta 15 % v/v de etanol y son resistentes a 150 ppm anhídrido sulfuroso. Estas propiedades sumadas a la característica *killer* permitiría su uso en procesos de vinificación. Se empleó el agar YEPD-MB (0,3 % de extracto de levadura, 0,3 % de extracto de malta, 0,5 % de peptona, 1 % de glucosa, 1,5 % de agar y 0,003 % de azul de metileno) ajustado a pH 4,5. Como cepa sensible se utilizó *S. cerevisiae* Lalvin 71B® (CS) y como productora de toxina *K2* (CK), una levadura vínica comercial, *S. cerevisiae* IOC 18-2007 Institut Oenologique de Champagne*.* Se prepararon inóculos de 1x106 células/mL de la CS, se depositaron 400 μL en placas de Petri y se dispersaron con hisopos estériles para generar un “césped” uniforme. Una vez eliminado el exceso de humedad, se inocularon las cepas a evaluar y la CK en forma de estría gruesa. Se incubaron a 25±2 °C por 72 horas. La presencia de una zona clara de inhibición delineada por un borde azul indicó la producción de toxina *K2*. Se observó que el 80% de las cepas ensayadas presenta el factor *killer*, siendo las restantes sensibles (15 %) o neutras (5%). Los halos de inhibición y muerte de la cepa sensible, variaron entre 1,3 a 4,5 mm; encontrándose los mayores diámetros para las cepas M36 (4,5mm), M39 (3,5mm) provenientes de uvas Marselan y T70 (3,7 mm) de Tannat, siendo estos valores mayores al producido por CK (2,9mm). La observación del fenotipo *killer* en las levaduras vínicas (*S. cerevisiae*) es una característica deseable en un fermento iniciador destinado a vinificación, por lo tanto estas levaduras nativas podrían ser empleadas en dichos procesos.

Palabras clave: Tannat, Marselan, *Saccharomyces cerevisiae.*