**Caracterización de levaduras endófitas de vid cv. Malbec de Mendoza**

Charrón RB (1), González ML (2,3), Becerra LM (2,3), Sturm ME (3), Chimeno SV (3), Combina M (2,3), Mercado LA (1,3)

### Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Agrarias, Almirante Brown 52, Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina.

### Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CCT Mendoza, Av. Ruiz Leal s/n - Parque Gral. San Martín, Mendoza, Argentina

### Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA Mendoza INTA), San Martín 3853, Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina.

e-mail: gonzalez.magali@inta.gob.ar

La vitivinicultura es una actividad de gran impacto económico en Mendoza. Alrededor del 70% de la superficie total de viñedos del país se encuentra implantada en esta provincia. La “Zona Alta del Río Mendoza” (ZARM) concentra el mayor volumen de producción de la variedad Malbec, la más representativa de los vinos argentinos. Actualmente, el componente microbiano asociado al viñedo es considerado una parte clave del concepto de *terroir*, contribuyendo a la calidad y diferenciación de los vinos. Un estudio previo de nuestro grupo evaluó exhaustivamente la diversidad de levaduras asociadas a nichos del viñedo, demostrando la presencia de estas tanto en el suelo como en diversos tejidos de la planta durante el ciclo completo de cultivo. No obstante, los mecanismos que le permiten a estos microorganismos persistir en dicho ecosistema no han sido dilucidados. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el carácter endófito de las levaduras vínicas. Se trabajó con un viñedo variedad Malbec de la ZARM, se tomaron muestras de tallos leñosos y yemas en el período invernal, y de savia cuando comienza a exudar a través de las heridas de poda en primavera, bajo la hipótesis de que las levaduras pueden concentrarse en el interior de la planta durante el invierno y movilizarse hacia el exterior en primavera. Para eliminar carga microbiana exterior se aplicó una desinfección secuencial superficial de los tallos leñosos con etanol 90% (v/v), NaClO 0,5 % (v/v), etanol 70 % (v/v) y agua estéril; se cortaron longitudinalmente y se colocaron en el medio de cultivo WL Nutrient (Oxoid) con cloranfenicol 50 µg/mL y dicloran 2 µg/mL. Las muestras de savia se sembraron por extensión en superficie en el mismo medio de cultivo. Todas las placas fueron incubadas a 28 ºC hasta desarrollo de colonias visibles. Posteriormente, se realizó la descripción de las colonias de levaduras desarrolladas en base a sus características culturales macroscópicas y microscópicas. Los cultivos se purificaron por siembras sucesivas, se conservaron a 4 ºC en medio YPD agar y a -20 ºC utilizando glicerol 30 % (v/v) como crioprotector, para la posterior identificación de las levaduras endófitas aisladas. Utilizando una estrategia dependiente del cultivo estarizada, se obtuvieron un total de 200 aislados de levaduras del viñedo Malbec. Los resultados de las placas control demostraron que las técnicas de desinfección empleadas en las muestras fueron eficientes, por lo que se confirmó que todas las levaduras aisladas se obtuvieron de los tejidos internos de la planta. A partir de estos aislados se seleccionaron colonias representativas que exhibían fenotipos distintivos en el medio de cultivo WL Nutrient (Oxoid). Se logró evidenciar la presencia de levaduras *Saccharomyces* y No-*Saccharomyces* de los principales géneros con importancia enológica (*Hanseniaspora, Candida, Pichia, Rhodotorula, y Metschnikowia*), pero también se encontraron especies de levaduras poco descriptas en vid (como *Saccharomycopsis*). La colección de aislados en este trabajo constituye una fuente potencial de valiosas cepas de *S. cerevisiae* y levaduras No-*Saccharomyces* para la investigación enológica y representa la primera caracterización de levaduras endófitas de vid autóctonas de Mendoza.

Palabras Clave: vitivinicultura, *terroir*, microrganismos benéficos autóctonos