

# IL LIEVITO CAMBIA LA GENOMICA LA GENOMICA CAMBIA IL LIEVITO

di Alessandra Biondi  
Bartolini

Saccharomyces cerevisiae è stato il modello che ha consentito di mettere a punto le tecniche di sequenziamento del genoma. Una primogenitura ben ripagata grazie allo sviluppo di nuove conoscenze e nuove tecniche di selezione e miglioramento che oggi possono essere applicate a livello industriale ed enologico

La microbiologia enologica, nata con Pasteur nella seconda metà del XIX° secolo ha vissuto negli ultimi due decenni, insieme agli altri settori delle scienze della vita, una vera e propria rivoluzione. La chiave di questo rinnovamento si identifica nell'avvento della genomica e nelle tecniche di analisi che ne fanno uso, che hanno portato non solo ad una maggiore e più dettagliata conoscenza dei processi biologici, ma anche ad una riduzione delle distanze tra le scienze pure e quelle applicate, tra le scoperte che si fanno nei laboratori e le tecniche delle quali si dispone e

>> VIGNEVINI FA IL PUNTO SUI LIEVITI DEL FUTURO IN QUESTA INTERVISTA A CHRIS CURTIN DELL'AWRI.

si potrà disporre in cantina. Chris Curtin, Research Manager dell'AWRI (Australian Wine Research Institute) di Adelaide è tra i ricercatori che sono stati protagonisti di questo processo e a lui abbiamo chiesto di raccontarcelo, quando lo abbiamo incontrato in occasione dell'incontro organizzato da Tebaldi e Maurivin presso le Cantine Bolla a Verona il 21 luglio.

## S.cerevisiae, il pioniere

Quando è cominciata la rivoluzione "genomica" per i microorganismi enologici? «Se andiamo indietro nel tempo, nella cosiddetta era pre-genomica, negli anni '80 o '90 utilizzavamo già degli strumenti genetici, ma la loro risoluzione era piuttosto limitata e non ci permetteva per esempio di individuare gli aspetti che rendevano un lievito migliore di un altro. La grossa fortuna è stata quella che Saccharomyces cerevisiae sia stato sempre utilizzato come sistema modello in molte discipline della ricerca di base, e questo è avvenuto anche quan-



>> Chris Curtin.

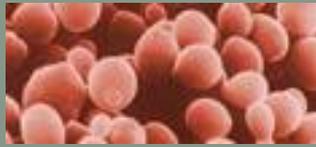
do è partito il progetto di sequenziamento del genoma umano: lo studio della genomica del lievito ha rappresentato il primo gradino nella genomica degli organismi complessi.

Il sequenziamento del genoma del lievito è stato completato nel 1996. Pochissimi anni dopo anche gli strumenti necessari per lo studio del genoma umano e di quello di altri organismi complessi sono stati sviluppati e validati a partire da Saccharomyces cerevisiae.

Così ad esempio il lievito è stato uno dei primi organismi complessi nel quale si sono potuti studiare i link di trascrizione (genomica trascrizionale), che ci hanno dato la visione reale di come le cellule rispondano al loro ambiente. L'altro fattore chiave che per il lievito si è realizzato molto presto, e che per molti al-

## Who's who: Chris Curtin

Dottore di ricerca in biotecnologie vegetali Chris Curtin arriva all'Australian Wine Research Institute di Adelaide nel 2004 per il suo post dottorato e qui svolge la sua attività fino ad assumere il ruolo di direttore del team di ricerca della sezione di Bioscienze del prestigioso istituto. Autore di circa 50 pubblicazioni scientifiche ha partecipato al primo sequenziamento del genoma di Brettanomyces e all'identificazione dei geni che influenzano la formazione dell'idrogeno solforato, dell'acidità volatile e dei composti aromatici tiolici.



tri organismi non è ancora possibile, è l'idea delle cosiddette deletion libraries sistematiche (librerie di delezione), nelle quali procedendo con la cancellazione di un gene alla volta si arriva a conoscere la funzione di ogni gene (genomica funzionale). Senza la genomica non avremmo avuto un vero e proprio catalogo dei geni che sappiamo essere importanti per i diversi processi della fermentazione alcolica. La possibilità di studiare la trascrizione e la funzione dei geni hanno permesso approfondire aspetti fondamentali come la tolleranza all'alcol o alle elevate concentrazioni in zuccheri e agli stress osmotici o la risposta alle diverse quantità di composti azotati per fare solo alcuni esempi. Questa però è stata solo parte della strada fatta per ottenere strumenti che siano realmente applicabili».

### Genomica in cantina: l'aroma di passionfruit

Quando è avvenuto il passaggio dal disporre di nuove cono-

scienze sulla biologia del lievito all'essere in grado di applicarle a livello industriale ed enologico?

«La riduzione dei costi di sequenziamento è stato uno degli aspetti più importanti ed è stato quello che ci ha permesso ad oggi, di avere almeno 15 ceppi di *Saccharomyces cerevisiae* di interesse enologico le cui sequenze sono state completamente pubblicate e altri 200 circa sui quali si sta lavorando e che saranno pubblicati entro la metà degli anni 20, ma dei quali già si conoscono i geni più importanti.

Grazie ad un intenso lavoro di ricerca oggi disponiamo di una grande quantità di sequenze geniche che ci permettono di studiare le diverse versioni di ogni gene presenti nei lieviti da vino e quanto questo sia da mettere in relazione con le loro performance.

Un ottimo esempio riguarda il rilascio dei tioli volatili, responsabili dell'aroma di frutto della passione. Recentemente è sta-

## Yeast 2.0

*Saccharomyces cerevisiae* sarà ancora una volta il primo organismo a raggiungere un traguardo fondamentale nell'avanzamento delle scienze biologiche. Come già avvenuto in passato infatti il lievito è stato scelto come modello per essere il primo organismo complesso ad essere riprodotto sinteticamente. Il progetto Yeast 2.0 interessa molti partner internazionali, tra i quali l'Australian Wine Research Institute al fianco della Macquarie University. Un primo gradino è stato raggiunto con la sintesi del cromosoma III di *Saccharomyces* da parte della New York University. Le possibili applicazioni della biologia di sintesi, che potrà progredire con organismi più complessi, aprono scenari estremamente ambiziosi nel progresso di settori chiave come la medicina o l'ambiente. ●



to individuato un gene particolarmente importante per la produzione di questi aromi, il gene IRC7, e si è visto che di questo gene esistono due diverse ver-

sioni.

Questo ci ha permesso di valutare quali e quanti siano i ceppi che hanno la versione più efficiente che lavora meglio nella sintesi di questo aroma e quanti quella che lavora peggio, e quindi di scegliere i ceppi di lievito utili ai diversi obiettivi in modo molto più facile.

È l'applicazione più semplice che possa interessare un produttore alla ricerca di un vino con uno stile definito: sapere quali tra i ceppi già disponibili dispongano della versione di quel gene che li rende in grado di dare buone performance su Sauvignon blanc». ●

## Cos'è AWRI

L'Australian Wine Research Institute (AWRI) ha la sua sede ad Adelaide nel Sud dell'Australia, dove con uno staff costituito da circa 120 persone svolge attività di ricerca e servizi di supporto analitico e tecnico alle imprese del settore vitivinicolo.

L'attività di ricerca viene finanziata attraverso l'erogazione di fondi governativi (Grant) il 50% dei quali proviene dalla tassazione dei produttori che partecipano insieme ai ricercatori alla scelta dei temi di ricerca. ●





# LIEVITI SELEZIONATI E MIGLIORATI

di Alessandra Biondi Bartolini

Così la genomica ha consentito di avvicinare le distanze tra scienza pura e applicata, con immediati vantaggi nel miglioramento dei lieviti

In pochi anni le conoscenze acquisite grazie al processo di sequenziamento dei geni di *S.cerevisiae* hanno consentito di cambiare la prospettiva di ricerca dei lieviti per uso enologico. Chris Curtin dell'AWRI, in questo secondo pezzo dell'intervista, spiega come.

>> IL FUTURO DELLA MICROBIOLOGIA ENOLOGICA SECONDO CHRIS CURTIN, GURU AUSTRALIANO DELLA GENETICA DEI LIEVITI

## Dalla selezione al miglioramento dei ceppi

Nella selezione e sviluppo dei nuovi ceppi di lievito quali sono gli strumenti della genomica utilizzabili e quali miglio-

menti hanno apportato?

«Fino a circa 10 anni fa la maggior parte dei lieviti presenti sul mercato erano lieviti selezionati. Da una buona fermentazione

si isolavano i migliori e si testavano per i diversi caratteri

(principalmente ci si aspettava che fermentassero bene e non producessero difetti). Questo è il modo in cui è stata selezionata la maggior parte dei ceppi presenti sul mercato fino a 10 anni fa. Negli ultimi cinque anni ho notato favorevolmente che i nuovi ceppi proposti dai diversi fornitori hanno almeno una par-



>> Chris Curtin.

ticolare proprietà che li rende interessanti. Potrebbe trattarsi ancora di casi di selezione (oggi anche nella selezione è possibile fare degli screening per un particolare tratto e andare a sce-

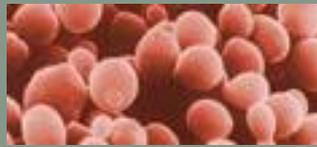
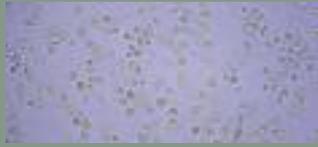
## Lieviti OGM: arriveremo mai ad accettarli?

Ibridi e miglioramento per mutagenesi sono tecniche di miglioramento cosiddette tradizionali nelle quali la genomica è stata di aiuto: c'è la possibilità che in futuro anche i lieviti geneticamente modificati (OGM) (che attualmente non sono utilizzati in enologia) possano essere accettati?

«La cosa interessante è che nonostante molti produttori siano interessati ai possibili risultati la questione OGM e il dibattito

che li riguarda siano incentrati sulla tecnologia e non su che cosa se ne può ottenere. Quella sugli OGM è una discussione molto difficile da sostenere e nessuno è interessato a farlo. Dal mio punto di vista è probabile che le viti OGM siano accettate prima dei lieviti OGM, ma sono convinto che entrambe le possibilità siano ancora molto lontane. Per la vite l'introduzione di geni di resistenza implica la possibilità di ridurre i trattamenti con i fitofar-

maci e minimizzare i rischi per la salute umana. Per il lievito l'urgenza è minore: tra le cose principali che si potrebbero ottenere con un beneficio a livello sociale, ci sarebbero i lieviti basso produttori di alcol. Ma ci sono così tante cose che si potrebbero fare con i lieviti OGM, dalla sintesi di nuovi composti aromatici a quella dei pigmenti, che non è facile prevedere quali potranno fare da traino o quale sarà il primo aspetto di miglioramento che potrà essere accettato».



gliere i caratteri che ci interessano in modo più mirato), ma sempre di più ci sono anche ceppi che sono stati sviluppati per incrocio (breeding) o per mutagenesi e selezione.

Tra gli strumenti della genomica che si utilizzano nell'ibridazione troviamo il cosiddetto incrocio con marcatori assistiti (marker assisted breeding). Incrociando insieme diversi ceppi di *Saccharomyces cerevisiae* più o meno qualsiasi tratto in diverso grado è trasferibile. Alcuni caratteri che riguardano geni multipli sono più difficili da trasferire e questo viene risolto con la tecnica dei QTL (Quantitative Trait Loci). L'analisi QTL permette di mettere in evidenza i geni multipli che partecipano all'espressione di uno stesso carattere, creare dei marcatori e con questi andare ad analizzare la progenie proveniente da un incrocio: più marcatori si troveranno in ogni singolo ceppo e maggiore sarà la possibilità che questo abbia il carattere ricercato.

La mutagenesi invece è una tec-

nica classica (applicata anche nel miglioramento delle piante coltivate ndr): invece che selezionare da tutti i ceppi che abbiano finito una buona fermentazione, si prende un ceppo e si crea una maggiore diversità con la mutagenesi chimica, cioè si creano dei nuovi ceppi da un buon ceppo e poi si vanno ad analizzare le loro caratteristiche. La genomica ci permette di vedere, tra tutti i mutanti disponibili, quelli che hanno i tratti che ci interessano: il numero dei caratteri sui quali possiamo agire e quello dei tratti che possiamo andare ad analizzare è molto più ampio di un tempo.

La genomica si applica anche nell'ottenimento dei cosiddetti ibridi interspecifici (cioè incroci tra specie diverse del genere *Saccharomyces*) nei quali il maggior vantaggio è quello di portare diversità. Alcuni non *cerevisiae* come l'eu-

baianus o il bayanus spesso non sono in grado di portare a termine una fermentazione, altri non crescono bene in succo d'uva. Perciò siamo in grado di trasferire del materiale genetico presente in un lievito che da solo non riesce a fare vino e di sovrapporlo con un ceppo di *Saccharomyces cerevisiae*, ottenendo un lievito con dei caratteri genetici molto diversi. Per gli ibridi interspecifici sviluppati sino ad ora abbiamo sempre verificato, anche nelle degustazioni alla cieca, che questi nuovi caratteri portano a caratteristiche diverse e uniche nel profilo aromatico e nella percezione gustativa, che i produttori percepiscono come aspetti positivi».

### La gestione delle fermentazioni

Ci sono degli esempi in cui gli strumenti della genomica possono servire per migliorare la conoscenza della gestione della fermentazione alcolica?

regionali e per questi produttori avere un lievito che faccia un lavoro particolare è meno importante piuttosto che averne uno che provenga dalla loro regione o sia in grado di esprimerne la territorialità. Ma in linea generale quello che più interessa ai produttori australiani è di avere un lievito che faccia bene un particolare lavoro e cioè che dia un profilo aromatico coerente con lo stile ricercato».





# LA NUOVA FRONTIERA DELLA METAGENOMICA

di Alessandra Biondi Bartolini

I microrganismi non vivono da soli, ma interagiscono con milioni di propri simili stabilendo strette relazioni che influenzano l'ambiente che li circonda. I nuovi strumenti consentono di studiarne l'impatto sulle fermentazioni

**M**entre il mondo della ricerca enologica va avanti, la domanda di alcune nicchie del mercato mondiale sembra invece tornare sui suoi passi. Lo dimostra il crescente successo del vino bio e il rinnovato interesse per le fermentazioni spontanee.

Ma i nuovi strumenti della genomica spiegati da Chris Curtin consentono di studiarle più a fondo.

## Fermentazione spontanea: i rischi

C'è un nuovo interesse nelle fermentazioni spontanee. Quali nuovi strumenti messi a punto nel campo della genomica applicata potrebbero migliorare la conoscenza e il controllo di questi processi, rendendoli meno rischiosi?

«Anche in Australia c'è un rinnovato interesse nelle fermentazioni spontanee anche se il rischio è elevato. Un esempio si ha per esempio dalla variabilità della produzione di H<sub>2</sub>S. Se si guarda la distribuzione della produzione di H<sub>2</sub>S tra i ceppi commerciali e tra tutti quelli isolati dalle uve e presenti nella nostra collezione (che

rappresentano quindi delle popolazioni naturali di *Saccharomyces* ndr), si osserva che le distribuzioni sono diverse: i ceppi prelevati in natura occupano un ampio range di valori mentre i lieviti commerciali si distribuiscono in modo

>> 2014: ANNO DEL PASSAGGIO DALLE TECNICHE TRADIZIONALI ALLA METAGENETICA NELLO STUDIO DEGLI AMBIENTI ENOLOGICI

asimmetrico tra i valori della parte più bassa di

questo intervallo. Il ceppo di *Saccharomyces cerevisiae* che avrà la dominanza alla fine di una fermentazione spontanea ha una maggiore probabilità di avere una elevata produzione di solfuri. Una migliore comprensione dei fenomeni che avvengono nelle fermentazioni spontanee si potrà avere dagli studi di metagenomica.

Si tratta di una disciplina che utilizza il sequenziamento dei geni per costruire un catalogo delle comunità microbiche che si trovano in un ambiente. Tra i progetti che fanno uso della metagenomica ricordiamo quelli applicati allo studio degli organismi del suolo, per capire in che cosa differisca dal punto di vista biologico un suolo "sano" e uno carente. Un altro grosso progetto ha lo scopo di caratterizzare tutti i microbi che ci sono sopra e



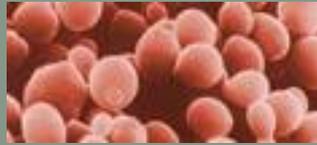
>> Chris Curtin.

dentro di noi, il cosiddetto microbioma umano, e di approfondirne la relazione con la nostra salute».

## Microbioma: dall'uva alle fermentazioni

Il 2014 secondo Curtin è stato l'anno in cui si è verificato il passaggio alla metagenomica dallo studio degli ambienti enologici con i metodi tradizionali: uno studio portoghese ha dimostrato che nel microbioma dell'uva sono presenti più di 250 diverse specie fungine (Pinto et al., 2014), mentre altri studi statunitensi e neozelandesi evidenziano come le comunità microbiche presenti in vigneto siano influenzate dall'ambiente in termini di varietà, microclima e regione geografica (Taylor et al., 2014).

«Noi siamo sul punto di comin-



ciare ad utilizzare gli strumenti della metagenomica per studiare la popolazione durante la fermentazione. Mentre prima utilizzando le tecniche tradizionali era possibile osservare circa dieci specie o nel caso in cui si fosse andati a guardare solo a *S. cerevisiae* si poteva essere in grado di identificare 30 ceppi circa, oggi siamo in grado di andare molto più a fondo.

La domanda a cui si vorrebbe rispondere è che cos'è una fermentazione "in salute" e come ci appare? Una risposta che va

molto al di là del vedere quali microorganismi sono presenti. Il metodo consiste nel comparare il profilo degli organismi presenti in un certo numero di fermentazioni spontanee quelle che vanno bene e quelle che presentano problemi come un arresto o una produzione eccessiva di idrogeno solforato. Alla fine potremo comprendere come appare una fermentazione spontanea di successo: quali sono i microorganismi, lieviti e batteri, presenti all'inizio della fermentazione e quanti i diversi ceppi di *S. cere-*

*visiae* che si presentano ad esempio dalla metà della fermentazione.

Al momento gli studi sulla metagenomica delle fermentazioni, che non sono ancora pubblicati ma che lo saranno presto, sono nelle fasi iniziali ed hanno lo scopo di costruire una libreria delle fermentazioni spontanee. L'obiettivo del progetto che stiamo conducendo è di collegare quello che avviene nella vasca con gli studi che hanno dimostrato quello che è presente in vigneto: quanta della popolazio-

ne presente in vigneto può essere rintracciata nelle fermentazioni spontanee? Successivamente sarà possibile approfondire il ruolo delle tecniche colturali e delle pratiche enologiche sulle caratteristiche delle fermentazioni spontanee, così come valutare l'influenza dei lieviti e batteri residenti nella cantina sul microbioma delle fermentazioni. E tutto questo ci potrà aiutare in futuro ad utilizzare gli strumenti della genomica anche per gestire in modo meno rischioso le fermentazioni spontanee». ●

## l'integrazione tecnologica è nel nostro dna

Dentro a una bottiglia di vino c'è un mondo fatto di tecnologia. Un universo complesso, che richiede un approccio integrato. Da 50 anni il gruppo Della Toffola offre soluzioni innovative per la gestione di tutta la filiera produttiva enologica: dal ricevimento dell'uva alla pressatura, dalla vinificazione all'imbottigliamento. Scegliere il gruppo Della Toffola vuol dire scegliere l'affidabilità, l'esperienza e la competenza di un gruppo fortemente integrato, composto da dieci aziende produttive e sei filiali commerciali e di assistenza internazionali che hanno la tecnologia nel loro dna. Scegliere il gruppo Della Toffola vuol dire scegliere una soluzione personalizzata chiavi in mano, studiata appositamente per le esigenze della tua cantina. Tu metti la passione, il gruppo Della Toffola ci mette la tecnologia.

**DELLA TOFFOLA GROUP**  
www.dellatoffola.it