

# Adaptación de levaduras: factores de incidencia de estrés fermentativo del género *saccharomyces* en vinificación. Una revisión.

Diego Enrique Ochoa Florez<sup>a</sup> ; Daniel Salvador Duran Osorio ;  
Yanine Yubisay Trujillo Navarro 

Universidad de Pamplona, Grupo de Investigación en Ingeniería y Tecnología de Alimentos (GINTAL),  
Pamplona, Colombia.

<sup>a</sup>diego.ochoa12@unipamplona.edu.co

Fecha recepción: enero 22 de 2024  
Fecha aceptación: julio 21 de 2024

## Resumen

La capacidad de adaptación de las levaduras del género *Saccharomyces* está relacionada con la predisposición que tenga la biomasa al estrés fermentativo, afectando directamente su metabolismo y los rendimientos de la fermentación. El objeto de revisión fue exponer los factores de incidencia de estrés fermentativo del género *Saccharomyces* y evaluar las tendencias actuales empleadas en la modificación de levaduras para aumentar su capacidad de adaptación al medio fermentativo. Para ello se realizó una búsqueda de información en bases de datos científicas teniendo en cuenta descriptores clave, tesauros y ecuaciones de búsqueda. Los documentos fueron seleccionados y clasificados teniendo en cuenta su especificidad con el objetivo de investigación y los más representativos por país, centro de investigación y autores. Dentro de lo encontrado, a partir de la capacidad de adaptación de las levaduras, se identificaron 6 factores de estrés los cuales se encuentran: genéticos, activación o inoculación, mezcla de levaduras, nutricionales, tolerancia al alcohol y condiciones de fermentación. De dichos factores se resaltan los genéticos dado a que las modificaciones genotípicas y fenotípicas actuales se basan en la supresión de genes que aumenten la predisposición al estrés. Con respecto a factores de fermentación y nutrientes se expone que se deben controlar las variables de fermentación para garantizar medios óptimos. Finalmente, lograr mejores condiciones de fermentación causa que las levaduras presenten mayor adaptación al medio, por lo anterior estas biomazas se deben seleccionar y clasificar con el fin de optimizar los procesos en vinificación.

**Palabras clave:** Adaptación; Biomazas; Estrés fermentativo; Fermentación; Mosto; Modificación de levaduras nutritivas; *Saccharomyces*; Rendimientos; Selección de levaduras; Tolerancia; Vinificación.

# Adaptation of yeasts: factors influencing fermentative stress of the genus *saccharomyces* in winemaking. A review.

## Abstract

The adaptability of *Saccharomyces yeasts* is related to the biomass's predisposition to fermentation stress, directly affecting their metabolism and fermentation yields. The purpose of the review was to expose the factors that contribute to the incidence of fermentative stress in the genus *Saccharomyces* and to evaluate the current trends used in the modification of yeasts to increase their ability to adapt to the fermentative medium. To this end, a search for information was conducted in scientific databases considering key descriptors, thesauri, and search equations. The documents were selected and classified considering their specificity with the research objective and the most representative by country, research center, and authors. Within what was found, based on the adaptation capacity of the yeasts, 6 stress factors were identified, which are: genetic, activation or inoculation, yeast mixture, nutritional, alcohol tolerance, and fermentation conditions. Of these factors, genetic ones stand out because current genotypic and phenotypic modifications are based on the suppression of genes that increase the predisposition to stress. Concerning fermentation factors and nutrients, it is stated that fermentation variables must be controlled to ensure optimal media. Finally, achieving better fermentation conditions causes the yeasts to be more adapted to the environment, so these biomasses must be selected and classified to optimize the winemaking processes.

**Keywords:** *Adaptation; Biomass; Fermentation stress; Fermentation; Must; Modification of nutrient yeasts; Saccharomyces; Yields; Yeast selection; Tolerance; Vinification.*

# Adaptação de leveduras: fatores que influenciam o estresse fermentativo do gênero *saccharomyces* na vinificação. Uma revisão.

## Resumo

A adaptabilidade de leveduras do gênero *Saccharomyces* está relacionada à predisposição da biomassa ao estresse fermentativo, afetando diretamente seu metabolismo e rendimento fermentativo. O objetivo da revisão foi expor os fatores de incidência de estresse fermentativo do gênero *Saccharomyces* e avaliar as tendências atuais utilizadas na modificação de leveduras para aumentar sua capacidade de adaptação ao meio fermentativo. Para tanto, foi realizada uma busca de informações em bases de dados científicas, levando em consideração descritores-chave, tesaurus e equações de busca. Os documentos foram selecionados e classificados levando-se em conta sua especificidade com o objetivo da pesquisa e os mais representativos por país, centro de pesquisa e autores. Dentro do que foi encontrado, com base na capacidade de adaptação das leveduras, foram identificados 6 fatores de estresse, quais sejam: genéticos, ativação ou inoculação, mistura de leveduras, condições nutricionais, tolerância ao álcool e fermentação. Desses fatores, destacam-se os genéticos, uma vez que as modificações genotípicas e fenotípicas atuais baseiam-se na supressão de genes que aumentam a predisposição ao estresse. Com relação aos fatores de fermentação e nutrientes, afirma-se que as variáveis fermentativas devem ser controladas para garantir o meio ótimo. Finalmente, alcançar melhores condições de fermentação faz com que as leveduras sejam mais adaptadas ao ambiente, por isso essas biomassas devem ser selecionadas e classificadas para otimizar os processos de vinificação.

**Palavras-chave:** *Adaptação; Biomassa; Stress fermentativo; Fermentação; Mosto; Modificação de nutrientes de leveduras; Saccharomyces; Rendimentos; seleção de leveduras; Tolerância; Vinificação.*

## Introducción

### Levaduras y su empleo en la industria alimentaria

Las levaduras son la fuente fermentativa más usada en la historia desde la dinastía XI (2000 a.C) [1]. Estos organismos han sido empleados como medio de conservación, elaboración de productos como vinos, panes, cervezas e incluso como terapéuticos médicos. Sus variedades y características le han permitido ser empleadas en diversos medios, pero hasta en el siglo XVII d.C fue que lograron estudiarse con el fin de clasificarlas de acuerdo a su origen, propiedades, morfología y usos en diversos ambientes alimentarios y no alimentarios [2]. Las levaduras se clasifican como hongos unicelulares de reproducción asexual por gemación o fisión y sexualmente, por esporas. Actualmente, se conocen más de 500 especies de levaduras en más de 50 géneros, donde en su mayor parte pertenecen a *Ascomycotina* o *Basidiomicetos*. En la producción de bebidas alcohólicas el género que más resalta por su amplio uso y versatilidad es *Saccharomyces* en sus distintas especies [3]. Este género se caracteriza por ser la levadura de azúcar, ya que ésta es capaz de sintetizar los azúcares del medio y transformarlos en productos derivados como etanol y dióxido de carbono. Es la especie más predominante en la industria alimentaria, pionera en la elaboración de cervezas, vinos, bebidas destiladas, la industria panadera [2,4] y biocombustibles [5-7]. En la elaboración de bebidas alcohólicas, esta cepa ha permitido mejorar los procesos de fermentación [8], lograr mejores propiedades sensoriales [9] y generar bebidas con mayor calidad fisicoquímica [10].

Las levaduras *Saccharomyces* y sus variedades han sido obtenidas en su mayoría de mostos de uva, dado a que es el fruto de mejores condiciones para su adaptación. Dentro de las levaduras aisladas a partir de la fermentación de la uva, se encuentran las obtenidas a partir de las variedades Tannat y Merlot, encontrándose más de 10 géneros distintos. Estos aislados se han realizado con el fin de obtener diversas cepas que confieran cualidades específicas a las bebidas. Por esta razón, es que las levaduras comerciales se adaptan con facilidad a mostos de uva, teniendo una actividad fermentativa menor en mostos distintos a este fruto [11]. Así mismo, este género se ha asociado a un sinnúmero de atributos del vino mediante la liberación de moléculas de bajo

peso molecular como glicerol, acetato, succinato, piruvato y varios ésteres; todos ellos contribuyendo a las propiedades sensoriales del vino. Dado lo anterior, las biomásas son aisladas de uvas seleccionadas, las cuales confieren mayores cualidades a las bebidas en comparación a otras variedades de uvas o frutas. Los enólogos indican que la selección de levaduras, en especial las autóctonas de las uvas, permiten obtener bebidas estables, evitando así lo que se conoce como fermentaciones lentas, atascadas o defectuosas desde una perspectiva sensorial [12-16].

### Estrés fermentativo del género *Saccharomyces*

Las cepas de levaduras autóctonas cambian de una región a otra, presentando una enorme variabilidad genética y fenotípica dependiendo de la variedad de uva, la geografía, el clima y muchos otros factores del lugar de cultivo [17,18]. Es por esto que la respuesta de estas a la fermentación varía, afectando directamente su capacidad de adaptación al medio. Durante la fermentación, las levaduras están sometidas a varios tipos de estrés como el estrés osmótico [19], oxidativo, ácido, de nutrientes, presencia de etanol y otras moléculas tóxicas [20-23] que afectan la tolerancia de la levadura frente al medio [24,25].

Las células de levadura se enfrentan a múltiples tensiones ambientales de forma simultánea y secuencial, lo que puede afectar potencialmente a la viabilidad celular, el crecimiento y el rendimiento de la fermentación [26]. Para sobrevivir a estos ambientes estresantes, las células de levadura pueden mantener su homeostasis biológica a través de la regulación de la transcripción, activando genes asociados con la supervivencia celular y la restauración de la función [27]. Por ejemplo, el estrés ácido es una condición desafiante que las células de levadura deben superar durante la fermentación. Mejorar la tolerancia inherente de *Saccharomyces cerevisiae* al estrés por ácidos orgánicos es crucial para aumentar la eficiencia de la fermentación y generar alternativas de industrialización en frutas cítricas [26].

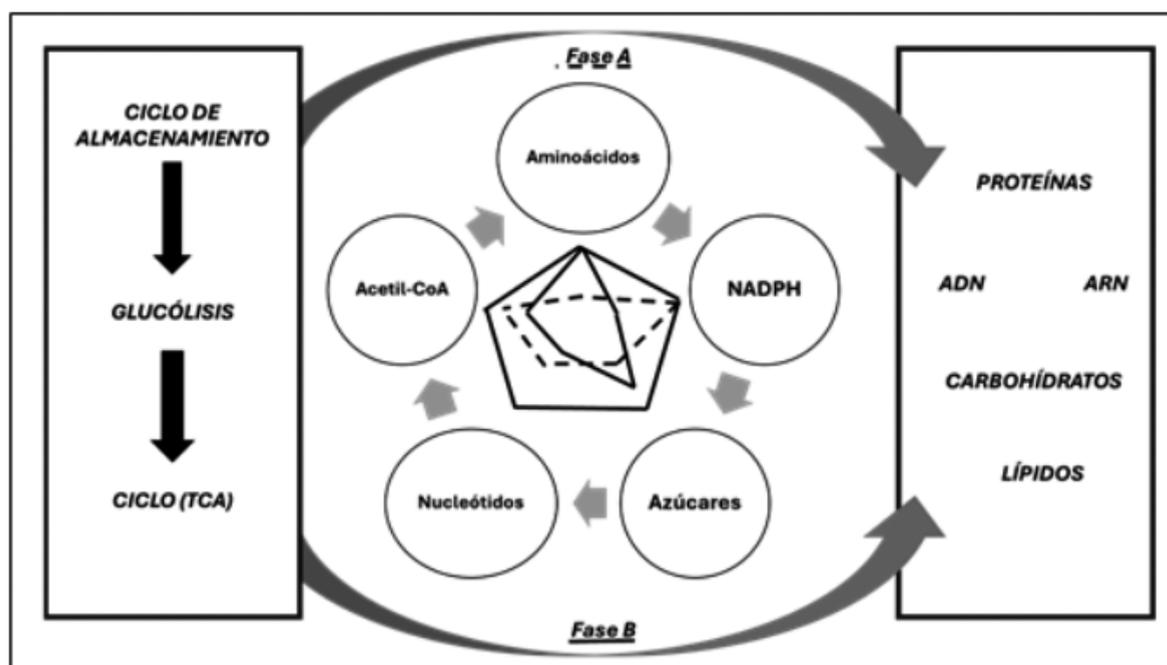
Algunos estudios han explorado los efectos del estrés múltiple y secuencial, y han demostrado que la levadura sometida a estrés leve seguido de estrés letal presenta poca superposición en los genes implicados en la respuesta. Otros análisis de la memoria celular de la levadura en respuesta al estrés hiperosmótico pulsado y breve también demostraron un comportamiento genético diverso [27]. Lo anterior está directamente relacionado

con la capacidad de adaptación que presente la cepa junto con el metabolismo de la misma frente al medio fermentativo. Zylstra & Heinemann [28] manifiestan que la dinámica metabólica de las levaduras está iniciada por el metabolismo primario, el cual mediante la disponibilidad de carbohidratos y energía hacen que la dinámica del metabolismo sea acelerada causando así una biosíntesis celular que da paso a los productos de la fermentación tal como se observa en la [Figura 1](#).

Dado lo expuesto, la industria ha tenido que identificar dichas cepas y tras el aislamiento, los enólogos vieron la necesidad de separar, seleccionar y caracterizar las cepas de levaduras encontradas, pues estas aportaban diversas características aromáticas en los mostos [29]. Por lo cual, los parámetros de selección se deben basar en la resistencia de la cepa, su dinámica metabólica y pre-disponibilidad al estrés [30-34]. El objetivo de investigación de la presente revisión fue exponer los factores de incidencia de estrés fermentativo del género *Saccharomyces*. Permitiendo al lector conocer los factores de mayor relación y las alteraciones genómicas reportadas en el estado de conocimiento actual, con el fin de optimizar los procesos fermentativos en la industria vinícola.

### Mecanismos de búsqueda y selección de estudios

Para dar cumplimiento al objetivo planteado, se realizó una búsqueda y selección de la información con una ventana de observación del 2015 al 2024 para el reporte de modificaciones genómicas y factores de estrés en la fermentación reportados por la comunidad científica. Sin embargo, se tuvieron en cuenta algunos artículos de años anteriores para la fundamentación teórica de la revisión. Dentro de las estrategias de búsqueda, se crearon ecuaciones empleando operadores booleanos según lo expuesto por Lowe *et al.* y Pourreza & Ensan [35,36]. Los descriptores, palabras clave y tesauros empleados se observan en la ecuación de búsqueda: (“yeast wine”) AND (“fermentation stress”) AND (“alcoholic fermentation” OR biomass) AND (“stress yeast”) and (*Saccharomyces*). La anterior ecuación de búsqueda se dispuso en bases de datos científicas como Sciencedirect, Scopus, Springerlink y MDPI (foods, yeast, microbiology y biotecnology). La selección de manuscritos se realizó teniendo en cuenta que la investigación presentara relación con el objetivo de investigación y contribuyera al estado del conocimiento actual.



**Figura 1.** Dinámica metabólica que se presenta en el metabolismo celular de las levaduras.

Fuente: Adaptada de Zylstra & Heinemann [28].

### Factores de incidencia de estrés fermentativo de *saccharomyces*

De acuerdo con la literatura actual, se hace necesario documentar los factores que causan el estrés fermentativo en la levadura *Saccharomyces* durante los procesos de fermentación. La literatura indica ciertas causales las cuales se agruparon de acuerdo con estudios reportados. De la revisión, se identificaron seis (6) factores de relevancia como causales de estrés, lo anterior, permite asociar las variantes en los procesos a dichos factores. A continuación, se expone de manera detallada cada una de estos factores y los nuevos aportes encontrados en la literatura.

### Factores genéticos

Los factores genéticos son los principales precursores de estrés fermentativo dado a que las bases genéticas del microorganismo definen la producción de ácidos orgánicos que generan estrés [37]. Dentro de los principales genes relacionados con el estrés fermentativo se encuentran: *clp*, *grpE*, *groES*, *hsp18*, *hdc*, *ftsH*, *cfa* y *trxA* [8]. Dado lo anterior, las diferencias genéticas de las cepas de vino de *Saccharomyces* generalmente se discriminan mediante el uso de una variedad de métodos basados en el ADN, incluido el polimorfismo de la longitud del fragmento de restricción del ADN mitocondrial (mtDNA-RFLP), inter-delta PCR [17].

Las tendencias genéticas han incursionado en la modificación de los genomas propios de las levaduras con el fin de generar mayor resistencia al medio y de esta manera suprimir su incidencia al estrés fermentativo. Para lograr tales modificaciones, se ha hecho uso de procesos biotecnológicos, causando así que se produzcan metabolitos significativos y mejores rendimientos fermentativos. La creación de nuevas cepas con características específicas mejoran los procesos de selección de levaduras de acuerdo al proceso y características de los productos a realizar [38]. Dentro de las modificaciones de mayor impacto se encuentra la hibridación interespecífica, como una herramienta prometedora para combinar fenotipos de interés e idealmente, lograr la heterosis. Dando como resultado cepas con cualidades específicas como por ejemplo diversidad aromática, resistencia a medios agresivos y mayores rendimientos en la fermentación [1].

En estudios recientes, se han realizado modificaciones en la pared celular de las levaduras con el fin de generar mayor resistencia

al estrés osmótico. Cuando se realiza modificación genómica de los polisacáridos presentes en la membrana celular en cepas de *Saccharomyces pastorianus* para la elaboración de una bebida alcohólica, se observa mayor resistencia al medio por parte de la levadura, dado a que la membrana presenta mayor grosor y menor porosidad [39]. Zhang *et al.* [26] construyeron una cepa SWY85S de *Saccharomyces cerevisiae* con tolerancia mejorada al estrés por ácido cítrico mediante la modificación del segundo alelo PEP4. Esta modificación fue lograda dado al estrés por ácido málico de la cepa SWY85S en comparación con la de una cepa con un PEP4-alelo interrumpido, encontrando que la cepa SWY85S demostró una mayor tolerancia al estrés por ácido málico tras la modificación genética del alelo interrumpido. Gracias a estas modificaciones, se ha logrado establecer que los genes SYM1, STF2 y HSP y los factores de transcripción ADR1 y Usv1 pueden desempeñar un papel en esta respuesta al estrés en cepas BT0510 de *Saccharomyces cerevisiae* [27]. Sin embargo, a pesar de la creciente disponibilidad de aislados de especies alternativas de *Saccharomyces*, todavía hay poca información sobre sus fenotipos durante la fermentación del vino [1]. Así mismo, se ha relacionado que estas modificaciones inciden significativamente sobre la pared celular haciéndola más gruesa y resistente a medios adversos, es por ello que recientes cepas de *Saccharomyces* presentan diferencias en su pared celular de acuerdo a las modificaciones a las que haya sido sometida [40].

Con el fin de reducir los factores genéticos que causan limitaciones en la levadura para adaptarse al medio, se han realizado múltiples modificaciones como la anteriormente expuesta que buscan mejoras específicas de las levaduras sobre el medio de fermentación. Sin embargo, autores como Lappa *et al.* [41] se contraponen a estas prácticas, argumentando que las modificaciones o generar cepas híbridas solo causan más deficiencias en las bebidas. Si bien es sabido, la modificación se realiza con el fin de generar resistencia a un factor, pero se dejan de un lado los efectos que estas causen sobre las demás variables. El uso de levaduras modificadas solo causa la especificidad de esta, es decir, que el organismo modificado solo actúe cuando se presentan situaciones específicas en el medio afectando, incluso las características sensoriales en las bebidas. Estos autores exponen en su escrito "levaduras autóctonas: tendencias emergentes y desafíos en la vinificación" que

se inste por recuperar las cepas silvestres, aquellas que fueron originarias en los procesos fermentativos. Su argumento se basa en que estas levaduras son resistentes al medio, y cuando el medio es agresivo, se adaptan. Situación que no sucede con las levaduras secas comerciales, las cuales son obtenidas y modificadas en base a los medios convencionales como uva, manzana o pera. Mientras que, cuando estas se someten a medios no convencionales, las cepas presentan sensibilidad al estrés fermentativo. Así mismo, sensorialmente, el uso de levaduras silvestres o autóctonas genera mayor aceptación sobre el consumidor, ya que la calidad sensorial de las bebidas en boca llega a ser placentera y auténtica, a comparación de las bebidas elaboradas con levaduras modificadas [41].

### Factores de activación e inoculación

Según Specht [42], la activación de la levadura afecta su adaptación y desarrollo. Exponiendo que someter la levadura al medio (mosto) de manera directa genera osmosis, e impide la correcta activación en levaduras secas. Es por esto por lo que someter el microorganismo a rehidratación no solo favorece su crecimiento, sino que estimula su actividad con el fin de generar mayor adaptación en el medio. Este mismo autor cita que la correcta rehidratación de las levaduras comprende: “se debe espolvorear 500 gramos de la levadura seca en 5 litros de agua tibia (35-40 °C), posteriormente, se debe agitar hasta suspender las levaduras en el agua. Pasados unos 5 minutos se agita con el fin de homogenizar y se agregan al mosto según la dosificación correspondiente”. Otros autores recomiendan rehidratar las levaduras en medios con nutrientes o el mismo mosto, pero se ha encontrado evidencia que someter la levadura a hidratación en el mosto la deja expuesta a agroquímicos que puede afectar su actividad. Por lo cual, activarla en agua no solo es el método más usado al nivel general, sino el método más confiable y seguro para la adaptación del microorganismo al medio fermentativo [43].

Con respecto a la inoculación, esta debe hacerse bajo los parámetros y dosis correctas. Se han reportado en la industria dosis desde 10 a 30g/hL de levadura en los mostos, las cuales han permitido obtener diversas características sobre los productos. Algunos estudios respaldan el uso de levaduras a 10g/hL, pero dicha dosis tiene como resultado bebidas pobres en alcohol, y características sensoriales. Cuando se disponen

30 g/hL las bebidas quedan secas y suelen ser de sabores fuertes y flavor predominante. Finalmente, se ha dispuesto de 20 a 25 g/hL en fermentación de mostos vínicos para Chardonnays y se ha encontrado que el tiempo de fermentación versus el tiempo de latencia permanece equilibrado. Es decir, el tiempo de fermentación permite el alto consumo del sustrato del medio, aprovechando el ciclo de vida del microorganismo, otorgando características agradables en la bebida [42]. Finalmente, investigaciones recomiendan que disponer iniciadores en la fermentación causa que *Saccharomyces* metabolice más rápido y consuma el sustrato de manera óptima para la fermentación. Sin embargo, se deben regular tales iniciadores dado a que causan cambios bruscos de pH dando así paso a la proliferación de microorganismos no deseados [44].

### Factores de mezclas de levaduras

En estudios realizados, Balmaseda *et al.* [37] exponen que cuando *Saccharomyces* trabaja en mezclas de levaduras como *T. delbrueckii* y *M. pulcherrima*, la fermentación maloláctica se da lentamente a comparación de cuando el medio solo presenta *Saccharomyces*. Lo cual indica un metabolismo lento y la producción de los metabolitos de la fermentación requieren mayor tiempo aumentando las etapas productivas en la elaboración de bebidas enológicas. Sin embargo, autores como Malićanin *et al.* [45] exponen que mezclar levaduras no *Saccharomyces* con levaduras *Saccharomyces* permite diversificar las bebidas obtenidas, presentándose mayor cantidad de alcoholes, ésteres y compuestos aromáticos que permitan mejorar la calidad del mosto.

Cuando la fermentación se hace sin previa inoculación y se deja fermentar el mosto de manera natural al medio de exposición, se han logrado aislar levaduras *Saccharomyces* y no *Saccharomyces*. Dentro de los géneros identificados se encuentran *Candida*, *Pichia*, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia*, *Torulaspota*, *Saccharomyces* y *Zygosaccharomyces*, sin embargo estas poseen diversos beneficios a las bebidas elaboradas. Por ejemplo, *Candida stellata*, *Kloeckera apiculata* y *Meyerozyma guilliermondii* producen grandes cantidades de glicerol para protegerse del estrés oxidativo durante la fermentación alcohólica. Este compuesto le da al vino artesanal una textura ligera y un sabor complejo. Además, este tipo de levaduras enriquecen el sabor del vino al producir acetaldehídos, ácido succínico o diferentes ésteres

[46-48]. En contraposición, no es recomendable dejar libre el medio a crecimientos de levaduras no *Saccharomyces*, dado a que estas pueden generar toxinas en las bebidas que no solo prevalecen en el proceso de vinificación, sino en la vida útil de producto hasta su consumo final [59]. Se reporta que realizar mezclas de levaduras incluso puede favorecer el estrés oxidativo dado a que es el resultado de un desequilibrio entre la generación y eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden ocurrir naturalmente durante la respiración o la oxidación de nutrientes para obtener energía. La acumulación de ROS durante el proceso de fermentación también está relacionada con algunos subproductos tóxicos resultantes del pretratamiento de la lignocelulosa, como el furfural [50,51]. Esto dado a que la mayoría de las levaduras no *Saccharomyces* producen cambios significativos en la composición del vino [52].

### Factores nutricionales

Aunque bien la uva no es el medio autóctono de *Saccharomyces*, si es el más ideal para su metabolismo [25]. La disponibilidad de nutrientes determina la capacidad de adaptación de las levaduras del género *Saccharomyces*. Uno de los nutrientes de mayor importancia es el carbono y las fuentes de ingreso al medio fermentativo. Esta levadura se caracteriza por tener la capacidad de adaptarse a diferentes fuentes de carbono sean del medio o del sustrato suministrado. Este nutriente esencial para la fermentación es el que determina el metabolismo y que se desarrollen procesos como la glucólisis, la biogénesis, el crecimiento y desarrollo del microorganismo. Por lo cual, el medio fermentativo debe estar dispuesto de carbono y el sustrato de la levadura debe estar compuesto por glucosa o azúcares similares que estimulen el desarrollo microbiano [53]. Dentro de la adaptación de *Saccharomyces*, los medios con contenidos de residuos vegetales como lignocelulósicos presentan una variedad de inhibidores que reducen la viabilidad, el crecimiento y la tasa de fermentación de la levadura y además, dañan las estructuras celulares. Por lo cual, como alternativa se recomienda hidrolizar los carbohidratos para facilitar la adaptación al medio [54].

Con respecto a nutrientes específicos, se ha reportado que los más requeridos son las fuentes de carbono y nitrógeno para apoyar el crecimiento y el metabolismo celular, lo que lleva a la formación de ácidos orgánicos como subproductos [26]. Así mismo, un medio alto en oxígeno es necesario,

esto dado a que algunas otras levaduras son capaces de fermentar azúcares. Sin embargo, no solo se debe contemplar el oxígeno, sino también el nitrógeno [55] y el carbono para generar cierta resistencia al estrés, estabilidad de la biomasa y correcto metabolismo para la obtención de los productos de interés [40,55].

### Factores de tolerancia al alcohol

La tolerancia al alcohol por parte de la levadura es uno de los factores principales que generan estrés fermentativo. La tolerancia que tenga la levadura depende de su estructura genética, las condiciones del medio e incluso a dosificación de la biomasa inoculada [41]. Un medio con riqueza de nutrientes que fortifican la estructura celular, permite mayor resistencia conforme aumenta la concentración de alcohol producida; así mismo se recomienda airear el medio y someterlo a buenas fuentes de nitrógeno ya que estos son los dos principales requerimientos para lograr mayor resistencia [42]. La tolerancia al etanol también está relacionada con el género de levadura y la velocidad de reproducción. Las levaduras no *Saccharomyces* han reportado una tolerancia del 5 al 7 % de alcohol en el medio. Por lo anterior, cuando el género *Saccharomyces* está presente en el medio, crece en conjunto con los demás géneros, pero una vez pasados los 7 grados de alcohol es el único presente. De esta manera se ha reportado que es el género de levadura más resistente a comparación de levaduras autóctonas de la uva [56]. Autores como Matei & Kosseva [57] indican en el estudio microbiológico de levaduras desde la perspectiva biotecnológica que el género *Saccharomyces* presenta un límite de tolerancia de alcohol hasta del 19 %, posterior a este el alcohol actúa como inhibidor causando la latencia.

### Factores de condiciones de la fermentación

Las levaduras del género *Saccharomyces* se ven afectadas por variables fisicoquímicas que definen la capacidad de adaptación en el medio fermentativo como la temperatura y el pH [52,58-60]. Los factores de fermentación están asociados con el medio en el que se realice la misma. Si el ambiente externo cambia continuamente, las levaduras están expuestas simultáneamente a numerosas condiciones de estrés (estrés oxidativo, osmótico y etanólico, entre otros) [52]. Un ejemplo claro es la variabilidad de la temperatura, donde según lo reportado la temperatura óptima de crecimiento para la mayoría de las levaduras está

entre 25 y 30 °C. La base molecular de la respuesta al choque térmico ha sido bien documentada en la levadura, identificando que las temperaturas variables del medio causan déficit en el metabolismo microbiano [60]. La influencia general de los aumentos de temperatura tiene como efecto inmediato un aumento del contenido de azúcar y, en consecuencia, del contenido de etanol. Es por esto, que controlar la temperatura de fermentación no solo define los rendimientos de la fermentación sino también la estabilidad de la biomasa.

Con respecto al pH, los mostos presentan una acidez reducida y un pH elevado, lo que implica un riesgo de proliferación microbiana no deseada y cambios en el color, sabor y aroma del vino [52,58-60]. El rango de pH óptimo para el crecimiento de la levadura está entre pH 3,5 y 6,0 dependiendo de la variedad [26]. Sin embargo, cuando el medio fermentativo presenta una alta acidez se generan episodios de estrés, esto dado a que la biomasa no tolera un medio con pH bajo generándose limitaciones en su metabolismo según lo reportado por Alves *et al.* [50].

En estudios, se ha relacionado que en la producción de vinos las condiciones de fermentación aportan características específicas a las bebidas. Un ejemplo es el material empleado para la fermentación, el tamaño y la forma de los tanques se asocia incluso a la alteración del metabolismo

celular de la levadura afectando su adaptación al medio [11]. Querol *et al.* [56] manifiestan que durante la fermentación típica o convencional las primeras 36 horas definen el crecimiento y la producción celular de las levaduras en el medio de fermentación, lo cual define el consumo de cerca del 80% de los azúcares presentes para la posterior producción de etanol. Sin embargo, durante la fermentación se presenta estrés oxidativo en las biomásas dado la reducción progresiva de sustrato. De esta manera, se presentan cambios en los niveles osmóticos del medio, déficit de oxígeno, pérdida de nutrientes lo cual, sumado a la producción de etanol, afecta la supervivencia de las cepas de levaduras presentes. Es por eso, que se debe garantizar que el medio de fermentación presente las características óptimas, la temperatura ambiental sea controlada y los materiales de fermentación mantengan las condiciones del mosto para reducir la predisposición al estrés fermentativo.

#### Avances de estudios en la adaptación de levaduras en procesos fermentativos

A partir de los factores identificados, la [Tabla 1](#) menciona el resultado obtenido en recientes investigaciones sobre las modificaciones realizadas a las levaduras con el fin de aumentar la capacidad de estas frente al medio.

**Tabla 1.** Modificaciones realizadas en levaduras *Saccharomyces* para mejorar su capacidad de adaptación al medio.

Causal de estrés fermentativo	Estudios relacionados a la mejora de estrés	Modificación asociada a cepas de <i>Saccharomyces</i>
Baja termorresistencia al medio	Termotolerancia de una <i>Saccharomyces cerevisiae</i> evolucionada adaptativa en la fermentación de etanol celulósico.	<i>S. cerevisiae</i> Z100, obtenida mediante evolución adaptativa de laboratorio a largo plazo, mostró una termotolerancia mejorada, con una supervivencia celular 1,2 veces mayor y una generación de glicerol 1,5 veces, superando así la resistencia temperaturas de exposición de 50 °C durante 12 h [61]. Los autores expresaron mejoras en las temperaturas de la cepa, permitiendo así expandir el rango de temperaturas de fermentación, lo cual facilita los procesos industriales no controlados.
	Efectos de la cascarilla de arroz en la tolerancia de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> a altas temperaturas y concentraciones de etanol.	La adición de cáscara de arroz 1,0 aumentó el rendimiento de etanol del arroz integral fermentado a 32 y 39 °C en un 9,4 y un 5,1 %, respectivamente. Sobre la base de la protección de la cáscara de arroz, se encontró que esta provee de cierta termotolerancia a la biomasa para el proceso fermentativo [62]. La cascarilla de arroz mostró actuar como protector de las cepas frente a la resistencia térmica de la levadura, esto dado que actúa como barrera frente al calor del medio, generando así mayor resistencia térmica según los resultados reportados.

<p><b>Inhibición por nutrientes</b></p>	<p>PEP4: la modificación del alelo proporciona una levadura de cerveza industrial con tolerancia al estrés por malato.</p>	<p>La cepa SWY85S demostró una mayor tolerancia al estrés por ácido málico, modificando el PEP4-alelo interrumpido de su genoma [26]. El ácido málico ha sido un precursor de estrés según lo reportado, el estudio mostró realizando una modificación en el PEP4-alelo redujo la inhibición frente a dicho nutriente. Este estudio, se posiciona como una de las modificaciones genéticas que causan mejoras en el metabolismo microbiano frente a nutrientes adversos.</p>
	<p>Efecto del estrés ambiental durante la fermentación en la levadura cervecera y exploración de la nueva función asociada a la floculación del gen RIM15.</p>	<p>El gen sensible a los nutrientes RIM15 presentó floculación de la levadura tras inanición de nitrógeno y aminoácidos. Por lo cual, cuando el gen se activa la floculación causa fermentaciones lentas con bajos rendimientos fermentativos [63]. El control del gen RIM15 mostró control sobre el requerimiento de nutrientes como nitrógeno y aminoácidos, esto permitió mejorar los rendimientos de la fermentación, reduciendo la prevalencia de fermentaciones estancadas.</p>
	<p>Mejora de la resistencia al estrés oxidativo y al ácido de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> utilizando un gen procariótico identificado por metagenómica funcional.</p>	<p>Las cepas que albergaban el gen <i>hu</i> bajo el control del promotor PCCW14v5 sintético sensible al estrés mostraron mayores tasas de supervivencia después de 2 horas de exposición a pH 1,5. El gen <i>hu</i> también pudo mejorar significativamente la tolerancia de la cepa industrial a altas concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [50]. Los peróxidos actúan como inhibidores del metabolismo fermentativo, por lo cual las modificaciones genéticas del gen <i>hu</i>, permiten mayor supervivencia frente a medios ácidos.</p>
<p><b>Medios con diversidad de levaduras</b></p>	<p>Evaluación de iniciadores de bacterias ácido lácticas y levaduras asesinas: cepas seleccionadas en fermentaciones a escala de laboratorio de aceitunas de mesa (<i>Olea europaea L.</i>) cv. Leccino.</p>	<p>En una mezcla de <i>Wickerhamomyces anomalus</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> requirió el empleo de iniciadores de la fermentación permitió mayor adaptación al medio de microorganismo externos por parte de <i>Saccharomyces</i> [44]. La selección de levaduras en mezcla con cepas <i>Saccharomyces</i> permite que esta tenga mayor adaptación frente a la competencia microbiana como bacterias ácido lácticas.</p>
	<p>Las cepas de vino <i>Saccharomyces cerevisiae</i> muestran una amplia gama de habilidades competitivas y un comportamiento diferencial de absorción de nutrientes en cocultivo con <i>S. kudriavzevii</i>.</p>	<p>La capacidad competitiva de las cepas estaba asociada con su origen, y las cepas de vino mostraban la mayor capacidad competitiva. Así mismo, las cepas altamente competitivas habían acelerado la absorción de fuentes de nitrógeno y ralentizado la fermentación del azúcar [55]. Cepas de <i>S. kudriavzevii</i> muestran tener mayor absorción de nutrientes que causan alteraciones osmóticas de en los medios de fermentación del género <i>Saccharomyces</i>.</p>
	<p>Diferencias estructurales en los polisacáridos de la pared celular de <i>Saccharomyces</i> gastados de Brewer y perfiles de unión de micromatrices con receptores inmunitarios.</p>	<p>Los glucanos eran el componente principal de <i>S. cerevisiae</i>, mientras que las manoproteínas abundaban en <i>S. pastorianus</i>. Los principales cambios se observaron en los glucanos de ambas especies, la disminución de β1,3-glucanos fue más pronunciada en <i>S. cerevisiae</i>. El aumento de α1,4-Glc, relacionado con la osmotolerancia, fue mayor en <i>S. cerevisiae</i> mientras que β1,4-Glc, relacionado con la resistencia de la pared celular, tuvo un pequeño aumento [40].</p>

<b>Bajo metabolismo de sustratos vegetales</b>	Caracterización fisiológica y molecular de cultivos de levadura pre-adaptados para la fermentación de hidrolizados lignocelulósicos.	<i>S. cerevisiae</i> es capaz de desarrollar una respuesta adaptativa rápida al hidrolizado lignocelulósico, lo que puede mejorar significativamente su rendimiento de fermentación en condiciones adversas [54]. La adaptación rápida de <i>S. cerevisiae</i> a hidrolizados lignocelulósicos indica una prometedora capacidad de esta levadura para mejorar su rendimiento fermentativo en condiciones adversas. Esta adaptación rápida es crucial para la viabilidad industrial de procesos basados en biomasa lignocelulósica, aunque la escalabilidad de estos resultados debe ser demostrada.
	Aumento de la tolerancia al etanol y la producción de etanol en una cepa de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> de etanol combustible industrial.	Someter la cepa con sobreexpresión del gen <i>MSN2</i> truncado mostró un mejor rendimiento de la fermentación, lo que permitió la producción de etanol al 16% a partir del 33% de azúcares reductores totales presentes en la melaza de caña de azúcar [5]. La sobreexpresión del gen <i>MSN2</i> truncado resultó en una mejor tolerancia al etanol y mayor producción de etanol. Este estudio es un buen ejemplo de cómo la ingeniería genética puede ser utilizada para mejorar cepas industriales. Sin embargo, es importante evaluar la estabilidad a largo plazo y los posibles efectos secundarios de tales modificaciones.
<b>Estrés frente al medio alcohólico</b>	Mejora de la tolerancia múltiple al estrés y la producción de bioetanol por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> inmovilizado en biocarbón: seguimiento de la transcripción de genes relacionados con la defensa.	La inmovilización de la biomasa en biochar confirió a las células tolerancia al calor, tolerancia al etanol, osmotolerancia y capacidad de fermentación mejorada. La tecnología propuesta constituye una alternativa tecnológica sostenible a la modificación de cepas mejorando la tolerancia al estrés múltiple en las fermentaciones de bioetanol [19]. La inmovilización de la biomasa en biocarbón confirió múltiples tolerancias al estrés, ofreciendo una alternativa sostenible a la modificación genética. Este enfoque es prometedor para aplicaciones industriales, aunque la producción y el uso de biocarbón deben ser evaluados en términos de costos y escalabilidad.
	Mejora de la tolerancia al etanol de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> a través de la evolución de laboratorio adaptativa utilizando altas concentraciones de etanol como presión selectiva.	Los autores estudiaron la resistencia de la levadura a concentraciones mayores de 23 grados de alcohol acoplado alcohol y sustrato de manera progresiva en la fermentación. Los resultados del estudio indicaron que las cepas se fueron adaptando a sus ambientes presentando actividades formativas cuando el medio presentaba concentraciones de 25°OH [3]. La evolución adaptativa mediante la exposición progresiva a altas concentraciones de etanol permitió desarrollar cepas más resistentes. Este enfoque es valioso para la selección natural de cepas robustas sin intervención genética directa, aunque el tiempo y los recursos necesarios para tales experimentos pueden ser significativos.

Actualmente, la industria vinica ha empujado inteligencia artificial que permite establecer modelos de predicción de la adaptación de la levadura de acuerdo con las condiciones del medio. De esta manera se ha logrado predecir modelos que permiten conocer a que factores de estrés está expuesta la levadura y los rendimientos de la fermentación [64]. Estudios destacan un enfoque innovador que emplea modelos de inteligencia artificial (IA) para predecir los

rendimientos de etanol en cultivos de fermentación de levadura bajo condiciones de alto estrés de azúcar. Utilizando datos morfológicos celulares obtenidos a partir de imágenes de contraste de fase, los investigadores lograron desarrollar un algoritmo de red neuronal con un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0,95, capaz de predecir de manera precisa los rendimientos de etanol hasta 60 minutos en el futuro. Las investigaciones revelan datos morfológicos de células cultivadas

en medios con baja concentración de glucosa no son adecuados para predicciones precisas bajo condiciones de alto estrés de glucosa. Además, las células cultivadas en medios de alta glucosa presentan morfologías similares a las observadas bajo alta presión osmótica, y que los cambios morfológicos varían según la fase de fermentación. Este análisis detallado de la morfología celular proporciona una comprensión profunda de las condiciones fisiológicas intracelulares, sugiriendo que el monitoreo morfológico puede ser clave para una gestión eficiente y producción estable de biocommodities. El desarrollo y aplicación de técnicas avanzadas como la inteligencia artificial en la fermentación alcohólica subraya un avance significativo en la biotecnología industrial. Estas técnicas no solo optimizan la eficiencia y precisión de los procesos, sino que también proporcionan una herramienta poderosa para entender y mejorar la adaptabilidad de las levaduras bajo condiciones de estrés. Sin embargo, la implementación de estas innovaciones presenta retos técnicos y requiere una inversión sustancial en infraestructura y capacitación. La reflexión sobre estos aspectos puede impulsar un enfoque más consciente y estratégico en la adopción de tecnologías emergentes, promoviendo una industria más eficiente, sostenible y resiliente.

### **Análisis, retos y perspectivas asociadas a la capacidad de adaptación de levaduras frente a medios de estrés**

La información presentada sobre los factores de incidencia del estrés fermentativo en *Saccharomyces* es de gran relevancia para la industria vinícola actual, ya que ofrece un panorama detallado de las variables que afectan la fermentación y cómo éstas pueden ser gestionadas para mejorar los procesos productivos. La identificación de factores genéticos, nutricionales, de tolerancia al alcohol, de condiciones de fermentación, activación e inoculación, y de mezclas de levaduras permite a los productores vinícolas comprender mejor las complejidades de la fermentación y adoptar estrategias más efectivas para optimizar la calidad y la consistencia de sus productos. Uno de los puntos más cruciales es la importancia de los factores genéticos, que no solo definen la capacidad de las levaduras para soportar el estrés, sino que también ofrecen oportunidades para la mejora mediante la modificación genética y la hibridación interespecifica. Estas técnicas pueden aumentar la resistencia de las levaduras

a condiciones adversas, lo que se traduce en procesos de fermentación más eficientes y productos de mayor calidad. Sin embargo, esta práctica también presenta retos, como la posible afectación de otras variables no consideradas inicialmente y las diferencias en las características sensoriales de las bebidas resultantes. Los debates en torno a la conveniencia de utilizar levaduras autóctonas versus levaduras modificadas subrayan la necesidad de una evaluación cuidadosa y equilibrada de los métodos empleados en la vinificación.

La activación e inoculación correctas de las levaduras también juegan un papel crucial en la adaptación al medio fermentativo. La rehidratación en agua y la inoculación adecuada aseguran que las levaduras estén en las mejores condiciones para iniciar la fermentación, reduciendo el estrés osmótico y mejorando su desempeño. Este conocimiento es vital para los enólogos, quienes deben ajustar sus prácticas de manejo de levaduras para maximizar la eficiencia y calidad del proceso fermentativo. El uso de mezclas de levaduras ofrece la posibilidad de diversificar los perfiles aromáticos y de sabor de los vinos, aunque también puede introducir complicaciones como el estrés oxidativo y la producción de toxinas. La selección cuidadosa de las levaduras y el control riguroso del proceso de fermentación son esenciales para aprovechar los beneficios de las mezclas sin comprometer la calidad del producto final.

Desde una perspectiva nutricional, la disponibilidad de carbono y nitrógeno es fundamental para el metabolismo de las levaduras. La adecuación del medio fermentativo con nutrientes esenciales y el control de inhibidores son estrategias clave para asegurar una fermentación exitosa. La investigación continua en esta área puede ofrecer nuevas soluciones para optimizar los sustratos utilizados y mejorar la viabilidad y el rendimiento de las levaduras. La tolerancia al alcohol y las condiciones de fermentación, como la temperatura y el pH, son factores determinantes en la capacidad de las levaduras para adaptarse y sobrevivir durante la fermentación. La gestión adecuada de estos factores puede reducir el estrés y aumentar la eficiencia del proceso fermentativo, resultando en productos de mayor calidad y consistencia.

Los desafíos y oportunidades presentados por estas variables resaltan la necesidad de un enfoque integrado y multidisciplinario en la investigación y práctica enológica. La industria vinícola puede beneficiarse enormemente de estudios futuros que

exploren la adaptación de levaduras en medios no convencionales que causen estrés, ampliando así el conocimiento científico y ofreciendo nuevas soluciones para mejorar los procesos fermentativos y la calidad del vino. La conciencia sobre la importancia de estos factores y la implementación de técnicas avanzadas puede llevar a la industria a nuevas alturas, promoviendo la innovación y la excelencia en la producción vinícola.

## Conclusiones

La capacidad de adaptación de las levaduras del género *Saccharomyces* está directamente relacionada con diversos factores que pueden hacer que las biomasas tengan predisposición al estrés fermentativo. Dentro de los factores de mayor impacto son los genéticos dado a que las modificaciones hechas a la fecha se basan en la especificidad de genes que son responsables del estrés. Sin embargo, la mezcla de levaduras en un mismo medio fermentativo se ha relacionado con el estrés frente al aprovechamiento de sustrato y nutrientes, a tal punto que se genera cierta competencia entre las biomasas presentes.

Otros factores como los nutricionales, condiciones de fermentación y tolerancia a alcohol están relacionados con el control de variables durante el metabolismo microbiano. Estos factores son de cierta manera más controlables y críticos, dado a que se debe garantizar que el medio fermentativo presente las condiciones óptimas para las biomasas con el fin de optimizar los procesos de vinificación.

La industria vinícola actual debe contemplar que tipo de levaduras usar, las modificaciones genéticas que estas tengan y las condiciones que se requieran para su correcto metabolismo. Es por eso, que la selección de levaduras se hace imprescindible, ya que se deben clasificar de acuerdo con los medios de mayor viabilidad para su adaptación y correcto metabolismo. No se pueden obviar los factores anteriormente identificados dado a que definirán la capacidad de adaptación de la levadura, los rendimientos de fermentación y la optimización de los procesos enológicos.

## Referencias

- [1] Álvarez R, Garces F, Louis EJ, Dequin S, Camarasa C. Beyond *S. cerevisiae* for winemaking: Fermentation-related trait diversity in the genus *Saccharomyces*. *Food Microbiol* 2023;113:104270. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104270>
- [2] Joseph R, Bachhawat AK. Yeasts: Production and Commercial Uses. En: *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2 ed. vol. 3. Elsevier; 2014. p. 823-830. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00361-X>
- [3] Mavrommati M, Papanikolaou S, Aggelis G. Improving ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* through adaptive laboratory evolution using high ethanol concentrations as a selective pressure. *Process Biochem*. 2023;124:280–289. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.11.027>
- [4] Guadalupe-Daqui M, Chen M, Thompson-Witrick KA, Macintosh AJ. Yeast Morphology Assessment through Automated Image Analysis during Fermentation. *Ferment*. 2021;7(2):44. <https://doi.org/10.3390/fermentation7020044>
- [5] Varize CS, Bucker A, Lopes LD, Christofoleti-Furlan RM, Raposo MS, Basso LC, *et al.* Increasing Ethanol Tolerance and Ethanol Production in an Industrial Fuel Ethanol *Saccharomyces cerevisiae* Strain. *Ferment*. 2022;8(10):470. <https://doi.org/10.3390/fermentation8100470>
- [6] Qiu Y, Wu M, Bao H, Liu W, Shen Y. Engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for co-fermentation of glucose and xylose: Current state and perspectives. *Eng. Microbiol*. 2023;3(3):100084. doi: <https://doi.org/10.1016/j.engmic.2023.100084>
- [7] Tian J, Lin Y, Su X, Tan H, Gan C, Ragauskas AJ. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* quorum sensing signal molecules on ethanol production in bioethanol fermentation process. *Microbiol. Res*. 2023;271:127367. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127367>

- [8] Margalef-Català M, Araque I, Bordons A, Reguant C, Bautista-Gallego J. Transcriptomic and proteomic analysis of *Oenococcus oeni* adaptation to wine stress conditions. *Front. Microbiol.* 2016;7:1554. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01554>
- [9] Hranilovic A, Gambetta JM, Jeffery DW, Grbin PR, Jiranek V. Lower-alcohol wines produced by *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces cerevisiae* co-fermentations: The effect of sequential inoculation timing. *Int. J. Food Microbiol.* 2020;329:108651. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108651>
- [10] Englezos V, Jolly NP, Di Gianvito P, Rantsiou K, Coccolin L. Microbial interactions in winemaking: Ecological aspects and effect on wine quality. *Trends Food Sci. Technol.* 2022;127:99–113. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.06.015>
- [11] Medina K, Martin V, Boido E, Carrau F. Yeast Biotechnology for Red Winemaking. En: *Red Wine Technol.* Academic Press; 2019. pp. 69–83. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814399-5.00005-0>
- [12] Muñoz R, Gómez A, Robles V, Rodríguez P, Cebollero E, Tabera L, *et al.* Multilocus sequence typing of oenological *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food Microbiol.* 2009;26(8):841–846. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.05.009>
- [13] Bao Y, Zhang M, Chen W, Chen H, Chen W, Zhong Q. Screening and evaluation of suitable non-*Saccharomyces* yeast for aroma improvement of fermented mango juice. *Food Biosci.* 2021;44:101414. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101414>
- [14] Zhao X, Xue Y, Tang F, Cai W, Hao G, Shan C. Quality improvement of jujube wine through mixed fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus licheniformis*. *LWT.* 2022;164:113444. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113444>
- [15] Ruiz-de-Villa C, Poblet M, Cordero-Otero R, Bordons A, Reguant C, Rozès N. Screening of *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspota delbrueckii* strains about their effect on malolactic fermentation. *Food Microbiol.* 2023;112:104212. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2022.104212>
- [16] Vicente J, Ruiz J, Tomasi S, de Celis M, Ruiz-de-Villa C, Gombau J, *et al.* Impact of rare yeasts in *Saccharomyces cerevisiae* wine fermentation performance: Population prevalence and growth phenotype of *Cyberlindnera fabianii*, *Kazachstania unispora*, and *Naganishia globosa*. *Food Microbiol.* 2023;110:104189. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104189>
- [17] Quintero-Blanco J, Delodi E, Garzón A, Jimenez J. Sexually-Driven Combinatorial Diversity in Native *Saccharomyces* Wine Yeasts. *Fermentation.* 2022;8(10):569. <https://doi.org/10.3390/fermentation8100569>
- [18] Peter J, De Chiara M, Friedrich A, Yue JX, Pflieger D, Bergström A, *et al.* Genome evolution across 1,011 *Saccharomyces cerevisiae* isolates. *Nat.* 2018;556:339–344. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0030-5>
- [19] Kyriakou M, Christodoulou M, Ioannou A, Fotopoulos V, Koutinas M. Improvement of stress multi-tolerance and bioethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* immobilised on biochar: Monitoring transcription from defence-related genes. *Biochem. Eng. J.* 2023;195:108914. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2023.108914>
- [20] Gibson BR, Lawrence SJ, Leclair JPR, Powell CD, Smart KA. Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling. *FEMS Microbiol. Rev.* 2007;31(5):535–569. <https://doi.org/10.1111/J.1574-6976.2007.00076.X>
- [21] Betlej *et al.* Long-Term Adaption to High Osmotic Stress as a Tool for Improving Enological Characteristics in Industrial Wine Yeast. *Genes (Basel).* 2020;11(5):576. <https://doi.org/10.3390/genes11050576>
- [22] Ding J, Huang X, Zhang L, Zhao N, Yang D, Zang K. Tolerance and stress response to ethanol in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2009;85:253-263. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2223-1>
- [23] Stanley D, Bandara A, Fraser S, Chambers PJ, Stanley GA. The ethanol stress response and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Appl. Microbiol.* 2010;109(1):13–24. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04657.x>
- [24] Sunyer-Figueres M, Mas A, Beltran G, Torija MJ. Protective effects of melatonin on *saccharomyces cerevisiae* under ethanol stress. *Antioxidants* 2021;10(11):1735. <https://doi.org/10.3390/antiox10111735>
- [25] Matallana E, Aranda A. Biotechnological impact of stress response on wine yeast. *Lett. Appl. Microbiol.* 2017;64(2):103–110. <https://doi.org/10.1111/LAM.12677>

- [26] Zhang H, Hu W, Lu Y, Shen C, Yao H, Yang X, *et al.* PEP4-Allele Modification Provides an Industrial Brewing Yeast with Malate Stress Tolerance. *Ferment.* 2023;9(4):378. <https://doi.org/10.3390/fermentation9040378>
- [27] Costa ACT, Russo M, Fernandes AAR, Broach JR, Fernandes PMB. Transcriptional Response of Multi-Stress-Tolerant *Saccharomyces cerevisiae* to Sequential Stresses. *Fermentation.* 2023;9(2):195. <https://doi.org/10.3390/fermentation9020195>
- [28] Zylstra A, Heinemann M. Metabolic dynamics during the cell cycle. *Curr. Opin. Syst. Biol.* 2022;30:100415. <https://doi.org/10.1016/J.COISB.2022.100415>
- [29] Marullo P, Dubourdieu D. Yeast selection for wine flavour modulation. En: *Managing Wine Quality* Woodhead. Publishing Limited; 2010. p. 293-345.
- [30] Lorca Mandujano GP, Alves HC, Prado CD, Martins JGO, Novaes HR, Maia de Oliveira da Silva JP, *et al.* Identification and selection of a new *Saccharomyces cerevisiae* strain isolated from Brazilian ethanol fermentation process for application in beer production. *Food Microbiol.* 2022;103:103958. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2021.103958>
- [31] Canseco Grellet MA, Dantur KI, Perera MF, Ahmed PM, Castagnaro A, Arroyo-Lopez N, *et al.* Genotypic and phenotypic characterization of industrial autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* for the selection of well-adapted bioethanol-producing strains. *Fungal Biol.* 2022;126(10):658–673. <https://doi.org/10.1016/J.FUNBIO.2022.08.004>
- [32] Riveros RG, Kitazono AA. Identification of ferritin variants with increased cadmium selectivity by in vivo cloning and mutagenesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresour. Technol. Reports.* 2023;22:101422. <https://doi.org/10.1016/J.BITEB.2023.101422>
- [33] Kadyrova LY, Mieczkowski PA, Kadyrov FA. Genome-wide contributions of the MutS $\alpha$ - and MutS $\beta$ -dependent DNA mismatch repair pathways to the maintenance of genetic stability in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 2023;299(5):104705. <https://doi.org/10.1016/J.JBC.2023.104705>
- [34] Ogbuewu IP, Mbajjorgu CA. Metaanalysis of *Saccharomyces cerevisiae* on enhancement of growth performance, rumen fermentation and haemato-biochemical characteristics of growing goats. *Heliyon.* 2023;9(3):e14178. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14178>
- [35] Lowe MS, Stone SM, Maxson BK, Snajdr E, Miller W. Boolean redux: Performance of advanced versus simple boolean searches and implications for upperlevel instruction. *J. Acad. Librariansh.* 2020;46(6):102234. <https://doi.org/10.1016/j.acalib.2020.102234>
- [36] Pourreza M, Ensan F. Towards semantic-driven boolean query formalization for biomedical systematic literature reviews. *Int. J. Med. Inform.* 2023;170:104928. <https://doi.org/10.1016/j.ijmedinf.2022.104928>
- [37] Balmaseda A, Rozès N, Bordons A, Reguant C. Molecular adaptation response of *Oenococcus oeni* in non-*Saccharomyces* fermented wines: A comparative multi-omics approach. *Int. J. Food Microbiol.* 2022;362:109490. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109490>
- [38] Divol B, Bauer FF. Metabolic engineering of wine yeast and advances in yeast selection methods for improved wine quality. En: *Managing Wine Quality*. 2 ed. Woodhead Publishing Limited; 2010. p. 34-59. <https://doi.org/10.1533/9781845699987.1.34>
- [39] Bastos R, Coelho E, Coimbra MA. Modifications of *Saccharomyces pastorianus* cell wall polysaccharides with brewing process. *Carbohydr. Polym.* 2015;124:322–330. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.02.031>
- [40] Reis SF, Messias S, Bastos R, Martins VJ, Correia VG, Pinheiro BA, *et al.* Structural differences on cell wall polysaccharides of brewer's spent *Saccharomyces* and microarray binding profiles with immune receptors. *Carbohydr. Polym.* 2023;301(B):120325. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120325>
- [41] Lappa IK, Kachrimanidou V, Pateraki C, Koulougliotis D, Eriotou E, Kopsahelis N. Indigenous yeasts: emerging trends and challenges in winemaking. *Curr. Opin. Food Sci.* 2020;32:133–143. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.04.004>
- [42] Specht G. Yeast fermentation management for improved wine quality. En: *Managing Wine Quality*. Woodhead Publishing Limited; 2010. p. 3-33. <https://doi.org/10.1533/9781845699987.1.3>

- [43] Pérez D, Denat M, Heras JM, Guillamón JM, Ferreira V, Querol A. Effect of non-wine *Saccharomyces* yeasts and bottle aging on the release and generation of aromas in semi-synthetic Tempranillo wines. *Int. J. Food Microbiol.* 2022;365:109554. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodmicro.2022.109554>
- [44] Bencreciuto GF, Mandalà C, Migliori CA, Cortellino G, Vanoli M, Bardi L. Assessment of Starters of Lactic Acid Bacteria and Killer Yeasts: Selected Strains in Lab-Scale Fermentations of Table Olives (*Olea europaea* L.) cv. *Leccino*. *Fermentation.* 2023;9(2):182. <https://doi.org/10.3390/fermentation9020182>
- [45] Malićanin M, Danilović B, Stamenković Stojanović S, Cvetković D, Lazić M, Karabegović I, *et al.* Pre-Fermentative Cold Maceration and Native Non-*Saccharomyces* Yeasts as a Tool to Enhance Aroma and Sensory Attributes of Chardonnay Wine. *Horticulturae.* 2022;8(3):212. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8030212>
- [46] Camilo S, Chandra M, Branco P, Malfeito-Ferreira M. Wine Microbial Consortium: Seasonal Sources and Vectors Linking Vineyard and Winery Environments. *Fermentation.* 2022;8(7):324. <https://doi.org/10.3390/fermentation8070324>
- [47] Cioch-Skoneczny M, Satora P, Skoneczny S, Pater A. Determination of the oenological properties of yeast strains isolated from spontaneously fermented grape musts obtained from cool climate grape varieties. *Eur. Food Res. Technol.* 2020;246(11):2299–2307. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03574-0>
- [48] Corbu VM, Csutak O. Molecular and Physiological Diversity of Indigenous Yeasts Isolated from Spontaneously Fermented Wine Wort from Ilfov County, Romania. *Microorganisms.* 2023;11(1):37. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010037>
- [49] Mehlomakulu NN, Setati ME, Divol B. Characterization of novel killer toxins secreted by wine-related non-*Saccharomyces* yeasts and their action on *Brettanomyces* spp. *Int. J. Food Microbiol.* 2014;188:83–91. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2014.07.015>
- [50] Alves LF Bortolucci J, Reginato V, Guazzaroni ME, Mussatto SI. Improving *Saccharomyces cerevisiae* acid and oxidative stress resistance using a prokaryotic gene identified by functional metagenomics. *Heliyon.* 2023;9(4):e14838. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2023.E14838>
- [51] Bissaro B, Várnai A, Røhr ÅK, Eijsink VGH. Oxidoreductases and Reactive Oxygen Species in Conversion of Lignocellulosic Biomass. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2018;82(4):e00029-18. <https://doi.org/10.1128/mmb.00029-18>
- [52] García M, Crespo J, Cabellos JM, Arroyo T. Growth of non-*saccharomyces* native strains under different fermentative stress conditions. *Fermentation* 2021;7(3):124. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030124>
- [53] Oliva Hernandez AA. Evaluación cinética y molecular de levaduras fructofílicas aisladas del mezcal tamaulipeco (Tesis de doctorado). Toulouse: Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT. Nuevo León: Universidad autónoma de Nuevo León; 2012.
- [54] Almeida JRM, Wiman M, Heer D, Brink DP, Sauer U, Hahn-Hägerdal B, *et al.* Physiological and Molecular Characterization of Yeast Cultures Pre-Adapted for Fermentation of Lignocellulosic Hydrolysate. *Fermentation.* 2023;9(1):72; <https://doi.org/10.3390/fermentation9010072>
- [55] Contreras-Ruiz A, Alonso-del-Real J, Barrio E, Querol A. *Saccharomyces cerevisiae* wine strains show a wide range of competitive abilities and differential nutrient uptake behavior in co-culture with *S. kudriavzevii*. *Food Microbiol.* 2023;114:104276. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104276>
- [56] Querol A, Pérez-Torrado R, Alonso-del-Real J, Minebois R, Stribny J, Oliveira BM, *et al.* New Trends in the Uses of Yeasts in Oenology. En: *Advances in Food and Nutrition Research.* 1 ed. vol. 85. Elsevier Inc; 2018. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2018.03.002>
- [57] Matei F, Kosseva MR. Microbiology of fruit wine production. *Microbiology of Fruit Wine Production.* En: *Science and Technology of Fruit Wine Production.* Academic Press. 2017. p. 73-103. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800850-8.00002-8>
- [58] Drappier J, Thibon C, Rabot A, Geny-Denis L. Relationship between wine composition and temperature: Impact on Bordeaux wine typicity in the context of global warming—Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2017;59(1):14-30. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1355776>

- [59] Berbegal C, Fragasso M, Russo P, Bimbo F, Grieco F, Spano G, *et al.* Climate Changes and Food Quality: The Potential of Microbial Activities as Mitigating Strategies in the Wine Sector. *Ferment.* 2019;5(4):85. <https://doi.org/10.3390/fermentation5040085>
- [60] Yang C, Dong A, Deng L, Wang F, Liu J. Deciphering the change pattern of lipid metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* responding to low temperature. *Biochem. Eng. J.* 2023;194:108884. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2023.108884>
- [61] Zhang B, Geberekidan M, Yan Z, Yi X, Bao J. Very High Thermotolerance of an Adaptive Evolved *Saccharomyces cerevisiae* in Cellulosic Ethanol Fermentation. *Ferment.* 2023;9(4):393. <https://doi.org/10.3390/fermentation9040393>
- [62] Liu S, Dai J, Sun Y, Xiu Z, Wang X, Li F, *et al.* Effects of rice husk on the tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* to high temperature and ethanol concentration. *Fuel.* 2023;333:126406. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.126406>
- [63] Hou D, Xu X, Wang J, Liu C, Niu C, Zheng F, *et al.* Effect of environmental stresses during fermentation on brewing yeast and exploration on the novel flocculation-associated function of RIM15 gene. *Bioresour. Technol.* 2023;379:129004. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129004>
- [64] Itto-Nakama K, Watanabe S, Ohnuki S, Kondo N, Kikuchi R, Nakaruma T, *et al.* Prediction of ethanol fermentation under stressed conditions using yeast morphological data. *J. Biosci. Bioeng.* 2023;135(3):210–216. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2022.12.008>