

Biodiversidad de levaduras no-*Saccharomyces* aisladas de viñedos uruguayos: *Lachancea thermotolerans* y su potencial en la industria de bebidas fermentadas

Biodiversity of non-*Saccharomyces* yeasts from uruguayan vineyards: *Lachancea thermotolerans* and its potential in fermented beverages

Cecilia Schinca¹, Valentina Martín¹, Belén Listur¹, Eduardo Boido¹, Laura Fariña², Francisco Carrau¹ y Karina Medina¹

¹ Área Enología y Biotecnología de Fermentaciones, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

² Laboratorio de Biotecnología de Aromas, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

Resumen. En los últimos años ha habido un interés creciente por el estudio de levaduras de la especie *Lachancea thermotolerans*. Se trata de una especie con características particulares, reconocida por su versatilidad en la industria de bebidas, como el vino y la cerveza, siendo la principal característica la producción de grandes cantidades de ácido láctico a partir del consumo de azúcares. El objetivo de este trabajo fue la selección de cepas nativas de levaduras de esta especie, a partir de uvas de diferentes regiones vitivinícolas del Uruguay. Se aislaron 9 cepas *Lachancea thermotolerans*, de las cuales se seleccionó la cepa Lt M18_160 proveniente de uvas Merlot. Los resultados obtenidos mostraron una producción de ácido láctico y reducción del pH similar al de la cepa comercial utilizada como referencia, con notas sensoriales a frutas cítricas y tropicales lo que la vuelve una cepa con alto potencial para la elaboración de vinos con acidificación natural, más frescos y estables desde el punto de vista microbiológico y fisicoquímico.

Abstract. In recent years, there has been a growing interest in the study of yeasts from the species *Lachancea thermotolerans*. This species is known for its unique characteristics and versatility in the beverage industry, particularly in wine and beer production, with its main feature being the production of large amounts of lactic acid from sugar consumption. The objective of this study was to select native yeast strains of this species from grapes grown in different viticultural regions of Uruguay. A total of nine *Lachancea thermotolerans* strains were isolated, from which the strain Lt M18_160, originating from Merlot grapes, was selected. The results showed lactic acid production and pH reduction similar to the commercial strain used as a reference, with sensory notes of citrus and tropical fruits, making it a highly promising strain for the production of wines with natural acidification, greater freshness, and improved microbiological and physicochemical stability.

1. Antecedentes

Las levaduras no-*Saccharomyces* juegan un papel crucial en la fermentación, contribuyendo a la complejidad aromática y sensorial, produciendo variedad de metabolitos secundarios, enzimas, enriquecimiento en biodiversidad microbiológica y promoción de la fermentación de mínima intervención [1-2]. En este contexto, en los últimos años ha adquirido una atención especial el estudio de levaduras pertenecientes a la especie *Lachancea thermotolerans* anteriormente conocida como

Kluyveromyces thermotolerans [3]. Se trata de una especie de levadura con una gran versatilidad en la industria de bebidas fermentadas, específicamente en la industria enológica [4-5] y en la industria cervecera [6-7].

Se trata de una especie caracterizada por aumentar la acidez y reducir el pH de los vinos de interés fundamentalmente en áreas vitícolas cálidas [8-9]. Esto se debe a su potencial para producir ácido láctico a partir del metabolismo de los azúcares durante la fermentación alcohólica, contribuyendo a la bioacidificación natural,

frescor y reducción del grado alcohólico [10-12]. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue la selección de levaduras de la especie *Lachancea thermotolerans* a partir de diferentes variedades de uvas y el estudio de sus parámetros enológicos, concentración de ácidos y análisis sensorial, en comparación con una de las ocho cepas comerciales presentes en el mercado.

2. Materiales y métodos

2.1. Aislamiento de levaduras

Se realizaron aislamientos de levaduras a partir de uvas, de zonas vitivinícolas tradicionales de Uruguay. Los aislamientos se realizaron a partir de diversas variedades de uvas blancas y tintas, y sus respectivos mostos mediante siembras en placas en medios de cultivo WL Nutrient Agar [13], Chromo Agar [14], YPD, YPM [15] y Agar Lisina [16].

2.2. Identificación molecular

La identificación molecular se realizó a nivel de especie mediante la secuenciación del dominio variable D1/D2 en el extremo 5' del gen de la subunidad 26S del ADNr y la posterior búsqueda de homologías en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Para la extracción de ADN se adaptó el método de Godoy [17]. Se cuantificó el ADN mediante NanoDrop®. Para la amplificación por PCR se utilizó el ciclo y los primers NL-1 (50-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG) y NL-4 (50-GGTCCGTGTTTCAAGACGG) [18-19]. La secuenciación de la región amplificada fue secuenciada utilizando el primer NL-1. La amplificación por PCR y secuenciación fueron realizadas por la empresa MacroGen Korea.

Las secuencias recibidas fueron analizadas y depuradas según la calidad de estas utilizando el programa Mega 5. Las secuencias obtenidas se compararon con la base de datos del NCBI, utilizando su programa BLASTn (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>).

2.3. Microfermentaciones

Para evaluar la capacidad fermentativa de las levaduras objeto de este estudio, se realizaron fermentaciones con simil mosto de uva y con mosto Chardonnay en frascos tipo shott de 500 mL, con sistema de válvulas y tapones adaptados para el seguimiento de fermentación alcohólica.

El tamaño de inóculo fue de 1×10^6 cel/mL, y la incubación se realizó a 20°C, con una agitación diaria. La composición del simil mosto de uva y del mosto Chardonnay se presenta en la Tabla 1. El avance de la fermentación se controló diariamente mediante pérdida de peso por liberación de CO₂ expresada en gramos por 100 mL [20], hasta alcanzar un valor constante. El seguimiento de densidad se realizó con densímetro EasyDens (Anton

Paar) al inicio y al final de la fermentación. Paralelamente se realizaron recuentos de levaduras mediante cámara de Neubauer mejorada y el número de células muertas se determinó mediante tinción con azul de metileno. El control de pureza de los diferentes ensayos se determinó al final de las fermentaciones utilizando el medio de cultivo diferencial de levadura WLN.

Tabla 1. Composición del simil mosto y mosto Chardonnay.

	Simil mosto	Mosto Chardonnay
Azúcares totales (g/L)	200	233
Alcohol potencial (%)	11.8	13.7
pH	3.5	3.49
Acidez total (g H ₂ SO ₄ /L)	4.36	4.32
Nitrógeno (mg/L)	200	241

Una cepa de referencia *Saccharomyces cerevisiae* Montrachet 522 (UC Davis) y una cepa comercial *Lachancea thermotolerans* Excellence X-fresh (Lamothe-Abiet) fueron utilizadas como levaduras control.

2.4. Análisis de parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos de los mostos y vinos (azúcar, etanol, acidez total, acidez volátil y pH), fueron analizados mediante espectrofotometría de infrarrojo cercano utilizando OenoFoss™ (FOSS, Hilleroed, Denmark).

2.5. HPLC análisis

Las muestras filtradas mediante membranas de 0.22 µm se analizaron mediante análisis cromatográfico por HPLC-UV a 210nm (equipo Shimadzu). Los componentes se separaron mediante la inyección directa de 20 µL de la muestra en una columna SUPELCOGEL C-610H (Supelco®) de 30 cm x 7,8 mm y 9 µm, a 55 °C, con H₂SO₄ 5 mN como fase móvil y un flujo de 0,5 mL/min. La identificación y cuantificación se realizó mediante curvas estándar preparadas a partir de soluciones estándar de ácido cítrico, málico, láctico, succínico y acético.

2.6. Análisis sensorial

Al final de la fermentación alcohólica se realizaron análisis sensoriales por triplicado con un panel de 35 evaluadores sensoriales del Laboratorio de Enología y Biotecnología de las Fermentaciones. Se sirvieron muestras de 30 mL a 16 ± 1 °C en vasos transparentes de 250 mL con forma de tulipán [21], cubiertos con un vidrio de reloj, e identificados con códigos aleatorios de tres dígitos. Para esto se utilizó una boleta con un listado de descriptores para vino blanco (Tabla 2), seleccionados de la rueda de aromas [22]. A los evaluadores se les solicitó utilizar una escala de 4 puntos (ausencia, bajo, medio y alto).

Tabla 2. Boleta de evaluación sensorial en vino blanco.

FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL	
Para cada descriptor marcar la intensidad de percepción	
0: Ausencia; 1: Bajo; 2: Medio; 3: Alto	
Nombre: _____	Fecha: _____
N° de muestra	
Descriptor	
Fruta cítrica	
Fruta tropical	
Fruta baya	
Fruta de semilla	
Fruta pasas	
Fruto seco	
Floral	
Vegetal	
Especiado	
Caramelo	
Tostado	
Mineral	
Levadura	
Ácido acético	
Oxidación	
Reducción	

2.7. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza de la capacidad fermentativa, recuento de células vivas y muertas al final de la fermentación, parámetros básicos de control en vinos, concentración final de los ácidos en el vino y de los resultados del análisis sensorial.

Los valores promedio y las diferencias mínimas significativas de la media (prueba LSD, $\alpha = 0,05$) para cada tratamiento se calcularon a partir de cada análisis de varianza utilizando el software Statistica 7.1 (StatSoft, Tulsa, OK, 1984-2005).

3. Resultados y discusión

3.1. Aislamientos de levaduras

En cuanto a la biodiversidad de especies de levaduras obtenidas a partir de los aislamientos realizados de uvas, se observó que la variedad Merlot fue la que presentó mayor cantidad y diversidad de especies (Figura 1 y Figura 2), seguido por la variedad Tannat (Figura 1 y Figura 3). Estas dos variedades son las principales de los viñedos uruguayos, estando entre las variedades de uvas tintas más plantadas. Hay que destacar, que, con los medios de cultivo utilizados para los aislamientos de levaduras, se favorecen los géneros de levaduras con capacidad de fermentación como es el caso de las *Lachancea*. Fue así, que *Saccharomyces cerevisiae* fue la especie más abundante en la uva Merlot (13 % respecto al total de las especies encontradas), seguida por *Hanseniaspora vineae*, *Aureobasidium pullulans* y *Cryptococcus flavescens*. Sin embargo, en el caso de las uvas Tannat, la especie dominante fue *Aureobasidium pullulans*, seguido por *Hanseniaspora uvarum*. Estos resultados difieren de los reportados por Medina et al. [23], en los cuales para la

variedad Merlot, los autores identificaron únicamente *Hanseniaspora uvarum* e *Issatchenkia terricola*, y en las uvas de Tannat predominaba *Metschnikowia pulcherrima* y *Hanseniaspora uvarum*. Por su parte, la variedad Chardonnay dio origen al 14% de las levaduras aisladas, mostrando también una gran variedad de especies.

El resto de las variedades de uvas presentaron menor cantidad y diversidad de especies de levaduras. Por otro lado, los géneros más abundantes encontrados en el ecosistema vitícola estudiado fueron *Hanseniaspora sp.*, *Aureobasidium sp.* y *Cryptococcus sp.* (Figura 4). Dentro de las levaduras menos abundantes se encontró *L. thermotolerans*, *Candida sp.* y *Pichia sp.*

Estos resultados demuestran y confirman una vez más la importancia del viñedo como ecosistema biodiverso de levaduras y su importancia para la industria de las bebidas fermentadas como ya ha sido reportado previamente [24-28].

Concretamente dentro de la especie de interés para este trabajo, se lograron aislar 9 cepas *L. thermotolerans*, de las cuales se seleccionó la cepa Lt M18_160, proveniente de uvas Merlot, por el potencial para ser utilizadas tanto para la elaboración de vino como de cerveza, debido a la capacidad de consumir glucosa, fructosa y maltosa como se observó en estudios previos obtenidos por el grupo de trabajo [29].

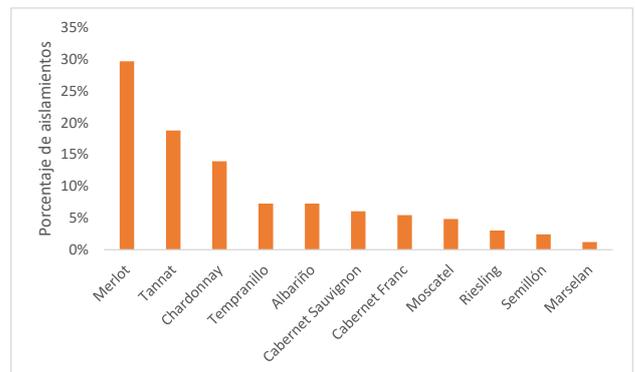


Figura 1. Origen de las levaduras aisladas en función de la variedad de uvas muestreadas.

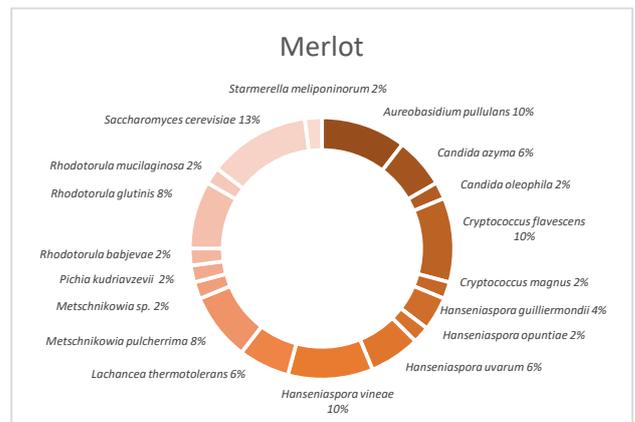


Figura 2. Biodiversidad de especies encontradas para la variedad Merlot.

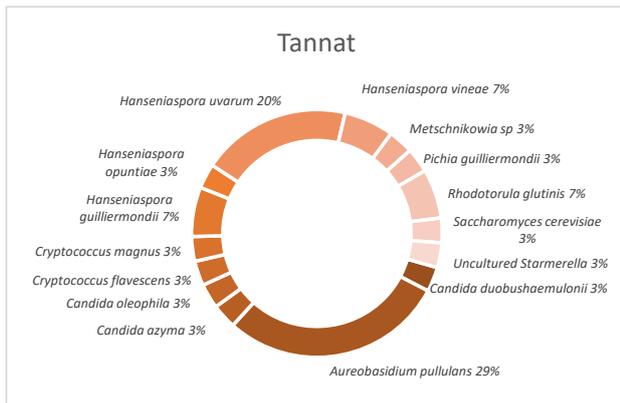


Figura 3. Biodiversidad de especies encontradas para la variedad Tannat.

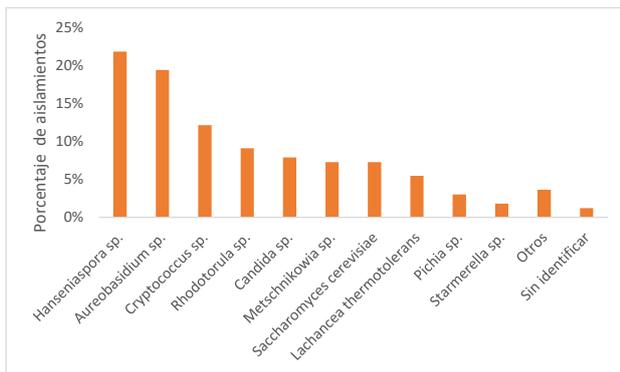


Figura 4. Identificación molecular de las especies de levaduras aisladas de las variedades de uvas estudiadas.

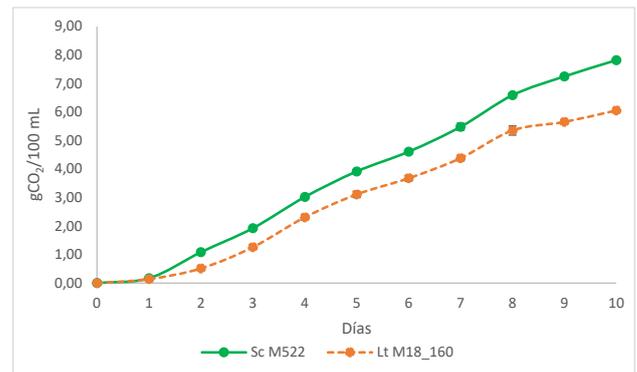
3.2. Cinética de fermentación y crecimiento celular

La figura 5A muestra la evolución de las microfermentaciones realizadas en el símil mosto con la cepa Lt M18_160 y la cepa *S. cerevisiae* utilizada como control (Sc M522). Si bien la dinámica de la cinética de fermentación muestra tendencias similares entre las cepas, como era de esperar Sc M522 realiza una mayor liberación de dióxido de carbono a lo largo de los diez días, diferenciándose fundamentalmente a partir del día 8 de la cepa Lt M18_160.

Tomando como criterio el rendimiento fermentativo de la cepa Lt M18_160, se avanzó a la siguiente etapa del trabajo que consistió en comparar esta cepa nativa con una comercial (Lt comercial) de la misma especie, pero en esta instancia en un mosto Chardonnay. En este sentido, como se muestra en la Figura 5B, Lt comercial y Lt M18_160 mostraron una cinética de fermentación y una capacidad de fermentación similares a lo largo de los diez días de la fermentación alcohólica. Tanto para los ensayos con símil mosto, como para los ensayos con mosto Chardonnay, el rendimiento en etanol, de la cepa Lt M18_160 osciló entre 9.2 y 9.5 % de etanol. Estos resultados confirmaron los obtenidos por otros autores que demuestran la limitada capacidad fermentativa de estas especies de levaduras y la necesidad de una inoculación mixta con alguna otra especie de levadura que permita el consumo de los azúcares residuales del medio y una mayor graduación alcohólica final [4, 30-31].

En cuanto al crecimiento celular en símil mosto (Figura 6A), la cepa Lt M18_160 presentó un mayor recuento de células vivas, con diferencia significativa respecto a la cepa Sc M522. El recuento de células muertas presentó valores similares para ambos tratamientos. Por otro lado, en el ensayo con mosto Chardonnay, ambas levaduras *L. thermotolerans* presentaron comportamientos similares para células vivas y células muertas, sin diferencia significativa entre ellas (Figura 6B).

A



B

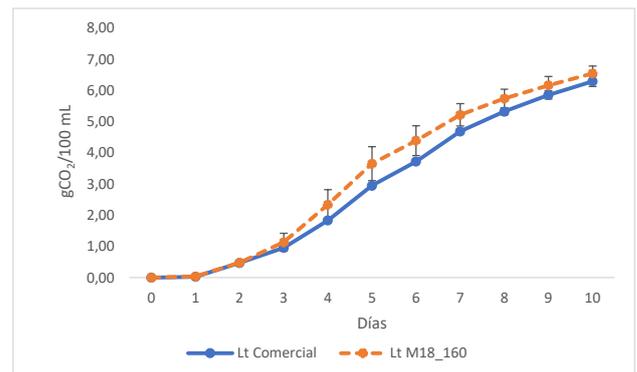


Figura 5. (A) Cinética de fermentación en símil mosto de las levaduras Sc M522 y la levadura nativa Lt M18_160. (B) Cinética de fermentación en mosto Chardonnay de las levaduras Lt Comercial y la levadura nativa Lt M18_160.

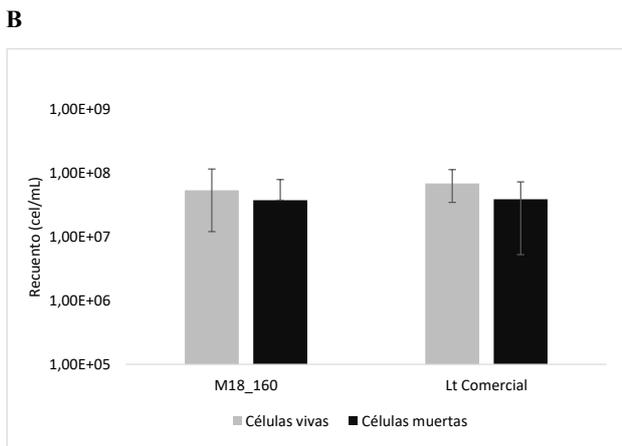
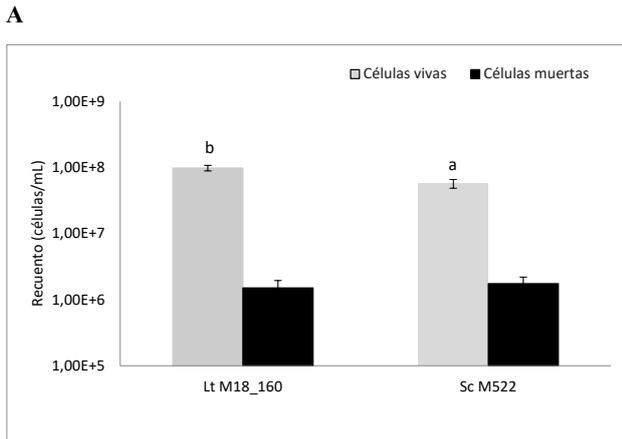


Figura 6. (A) Crecimiento y muerte celular al día 10 de la fermentación alcohólica en simil mosto (A) y mosto Chardonnay (B). Letras diferentes indican diferencia significativa entre las diferentes levaduras de acuerdo a test de Tukey ($\alpha = 0.05$).

3.3. Análisis de parámetros fisicoquímicos

Una vez finalizadas las microfermentaciones, se cuantificaron los parámetros de pH, acidez total, contenido de ácido cítrico, ácido málico, ácido succínico, ácido láctico y ácido acético; y se compararon con las concentraciones iniciales en el simil mosto (Tabla 3) y mosto Chardonnay (Tabla 4).

De acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 3, se observaron diferencias significativas entre Lt M18_160 y Sc M522 para pH, acidez total, ácido láctico y ácido acético. La producción de ácido láctico es del orden de siete veces mayor que la producida por la cepa Sc M522, lo que está en concordancia con reportes previos respecto a la elevada producción de ácido láctico por la especie *Lachancea thermotolerans* [5], poniendo una vez más de manifiesto su importante rol en la bioacidificación de los vinos y la baja producción de ácido acético. A su vez la reducción del pH con el tratamiento con la cepa Lt M18_160 también es un parámetro a destacar sobre todo desde el punto de vista de la estabilidad microbiológica y coloidal de los vinos.

En la Tabla 4, se presentan los resultados de los mismos parámetros para el ensayo con mosto Chardonnay y la comparación entre los comportamientos de las dos cepas

Lachancea thermotolerans. Al igual que para los resultados obtenidos para la cinética de fermentación y población celular, no se observaron diferencias significativas para ninguno de los parámetros de la Tabla 4.

Los valores obtenidos en la Tabla 3 y la Tabla 4 para pH y ácido láctico están en concordancia con reportes previos, en los cuales se observan aumentos similares en otras variedades de *Vitis vinifera* [4].

Estos resultados de reducción natural del pH son a su vez muy interesantes para fomentar la denominada enología de mínima intervención ya que constituyen una alternativa a la dosificación de ácido tartárico, que produce luego precipitaciones tartáricas en los vinos y al uso de resinas intercambiadoras de cationes altamente eficientes para reducir el pH pero con efectos indeseables sobre la calidad del vino [4].

Tabla 3. Contenido de pH, acidez total (Ac. T), ácido cítrico (Ac. cit), ácido málico (Ac. mal), ácido succínico (Ac. suc), ácido láctico (Ac. lact) y ácido acético (Ac. acet) (g/L), en el simil mosto de partida y en los vinos obtenidos con las diferentes levaduras (nd, no detectado). Las letras diferentes indican diferencia significativa entre los tratamientos de acuerdo a test de Tukey ($\alpha = 0.05$).

	pH	Ac. T	Ac. cit	Ac. mal	Ac. suc	Ac. lact	Ac. acet
Simil Mosto	3.5	4.36	0.19	3.04			
	±	±	±	±	nd	nd	nd
Lt M18_160	2.61	6.27	0.20	2.85	0.96	6.96	0.21
	±	±	±	±	±	±	±
	0.33 ^a	0.22 ^b	0.0	0.01	0.07	0.69 ^b	0.0 ^a
Sc M522	3.17	3.53	0.21	2.74	0.72	0.96	0.66
	±	±	±	±	±	±	±
	0.01 ^b	0.11 ^a	0.0	0.04	0.02	0.01 ^a	0.02 ^b

Tabla 4. Contenido de pH, acidez total (Ac. T), ácido cítrico (Ac. cit), ácido málico (Ac. mal), ácido succínico (Ac. suc), ácido láctico (Ac. lact) y ácido acético (Ac. acet) (g/L), en mosto Chardonnay y en los vinos obtenidos con las diferentes cepas de *Lachancea thermotolerans* (nd, no detectado). De acuerdo a test de Tukey ($\alpha = 0.05$), no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con las diferentes levaduras.

	pH	Ac. T	Ac. cit	Ac. mal	Ac. suc	Ac. lact	Ac. acet
Mosto Chard	3.49	4.32	0.03	2.9	0.2		
	±	±	±	±	±	nd	nd
Lt M18_160	3.19	6.56	0.41	2.48	1.32	5.91	0.28
	±	±	±	±	±	±	±
Lt Comercial	3.14	6.99	0.38	2.31	1.19	6.05	0.30
	±	±	±	±	±	±	±
	0.01	0.05	0.05	0.03	0.07	0.67	0.03

3.4. Análisis sensorial

El análisis sensorial para el ensayo con las diferentes cepas de *Lachancea thermotolerans* se presenta en la Figura 7. No se observó diferencia significativa para los descriptores mencionados por el panel semientrenado. Para ambos tratamientos, los resultados con mayor frecuencia de mención y mayor intensidad fueron fruta cítrica y fruta tropical, lo que pone de manifiesto el carácter fresco de los vinos obtenidos. Luego le siguen los descriptores fruta de semilla y floral.

Estos resultados a su vez coinciden con los obtenidos para la cepa Lt M18_160 en cerveza, que si bien es una matriz diferente, ha sido reportada por presentar notas frutales cítricas [29].

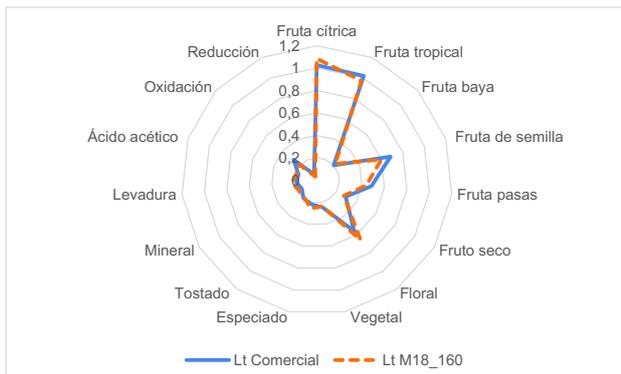


Figura 7. Análisis sensorial de los vinos obtenidos. Los puntos representan los valores medios de los descriptores aromáticos evaluados para cada cepa de levadura.

4. Conclusiones

El uso de levaduras nativas no-*Saccharomyces* en la fermentación representa una herramienta clave para la diferenciación e innovación en la industria de bebidas fermentadas. En este contexto, una cepa de *Lachancea thermotolerans*, aislada de uvas Merlot del sur de Uruguay, ha mostrado propiedades fermentativas, fisicoquímicas y sensoriales comparables a las de las pocas levaduras comerciales de esta especie disponibles en el mercado. Estas características la posicionan como una levadura altamente prometedora para la elaboración de vinos con mayor frescura y acidez, así como para la producción de cervezas ácidas.

Además, la capacidad de *L. thermotolerans* para producir ácido láctico a partir de azúcares del mosto ofrece una opción valiosa para la reducción del contenido alcohólico en vendimias provenientes de zonas cálidas o afectadas por el cambio climático, manteniendo el equilibrio y frescor de los vinos. Este atributo es especialmente relevante en la actualidad, donde el aumento de las temperaturas ha generado desafíos en la producción de vinos equilibrados.

Los resultados presentados en este artículo destacan el potencial de esta cepa para la elaboración de vinos innovadores, bioacidificados, más frescos y microbiológicamente estables, alineados con la tendencia hacia productos de menor grado alcohólico. Asimismo, estos hallazgos abren nuevas oportunidades para avanzar

en la escalabilidad de la cepa, particularmente en cultivos mixtos con *Saccharomyces cerevisiae*, que garanticen la finalización de la fermentación alcohólica. También se resalta la necesidad de investigar más a fondo la composición de compuestos volátiles para completar la caracterización aromática de esta levadura, reforzando su potencial en el desarrollo de productos diferenciados en la industria enológica y cervecera.

5. Referencias

1. N. Van Wyk, M. Grossmann, J. Wendland, C. Von Wallbrunn, I.S. Pretorius, J. Agric. Food Chem. 67, 49 (2019)
2. F. Carrau, E. Boido, A. Morata, *Enólogos*, 149 (2024)
3. C.P. Kurtzman, *FEMS Yeast Res.* 4 (2003)
4. A. Morata, I. Loira, W. Tesfaye, M. Bañuelos, C. González, J.A. Suárez Lepe, *Fermentation*, 4, 3 (2018)
5. C. Vaquero, I. Loira, J.M. Heras, F. Carrau, C. González, A. Morata, *Front. Microbiol.* 12, (2021)
6. P. Domizio, J.F. House, C.M.L. Joseph, L.F. Bisson, C.W. Bamforth, *J. I. Brew.* 122, (2016)
7. M. Zdaniewicz, P. Satora, A. Pater, S. Bogacz, *Biomol.* 10, (2020)
8. S. Benito, *Appl. Microbiol. Biot.* 102, (2018)
9. A.M. Ferreira, A. Mendes-Faia, *Foods* 9, (2020)
10. A. Hranilovic, J.M. Gambetta, L. Schmidtke, P.K. Boss, P.R. Grbin, I. Masneuf-Pomaredo, M. Bely, W. Albertin, V. Jiranek, *Sci. Rep.* 8, (2018)
11. A. Vilela, *Fermentation* 4, 56 (2018)
12. T.J. Porter, B. Divol, M.E. Setati, *Food Res. Int.* 119, (2019)
13. C.L. Pallmann, J.A. Brown, T.L. Olineka, L. Cocolin, D.A. Mills, L.F. Bisson, *Am. J. Enol. Vitic.* 52, (2001)
14. G. Pérez, F. Debernardis, E. Boido, F. Carrau, *J. Ind. Microbiol. Biot.* 47, 12 (2020)
15. C. Schinca, Thesis, Universidad de la República, Facultad de Ciencias, Uruguay (2023)
16. E.O. Morris, A.A. Eddy, *J. I. Brewing* 63, 1 (1957)
17. A. Godoy, Thesis, Universidad de la República, Facultad de Ciencias, Uruguay (2013)
18. C.P. Kurtzman, C.J. Robnett, *Anton Leeuw. Int. J. G.* 73, 1998.
19. M. Salgado Silva, L. Arruda, P. Xavier, M. Díaz Ramírez, F. da Silveira, W. Santana, P. Alves da Silva, L. Fietto, M. Eller, *Braz. J. Microbiol.* 51, (2020)

20. F. Carrau, K. Medina, L. Fariña, E. Boido, P. Henschke, E. Dellacassa, *FEMS Yeast Res.* 8, (2008)
21. ISO 3591, Sensory Analysis. Apparatus. Wine-tasting glass, International Organization for Standardization (1977)
22. A.C. Noble, R.A. Arnold, J. Buechsenstein, E.J. Leach, J.O. Schmid, P.M. Stern, *Am. J. Enol. Vitic.* 38, (1987)
23. K. Medina, V. Martin, E. Boido, F. Carrau, Yeast biotechnology for red winemaking. In: *Red Wine Technology* (Academic Press 2019).
24. M.J. Callejo, C. González, A. Morata, *Brew. Tech.* 101-119 (2017)
25. E. Iturriza, A.E. Hill, M.J. Torija, *Int. J. Food Microbiol.* 394, (2023)
26. J. Molinet, F.A. Cubillos, *Front. Genet.* 1281, (2020)
27. G.I. Naumov, E.S. Naumova, P.D. Sniegowski, *Can. J. Microbiol.* 44, 11 (1998)
28. J. Nikulin, R. Eerikainen, M. Hutzler, B. Gibson, *Beverages* 6, 4 (2020).
29. C. Schinca, M.N. González, F. Carrau, K. Medina, *Int. J. Food Microbiol.* 412 (2024).
30. J. Vicente, E. Navascués, F. Calderón, A. Santos, D. Marquina, S. Benito, *Foods* 10, 11 (2021)
31. J. Vicente, N. Kelanne, L. Rodrigo-Burgos, E. Navascués, F. Calderón, A. Santos, S. Benito, *FEMS Yeast Res.* 23 (2023)