

## 6° Simposio internazionale delle Malvasie nel bacino del Mediterraneo

**COME UN LIEVITO AZIENDALE PUÒ DIVENTARE MODELLO PER LO STUDIO  
DELL'ADDOMESTICAZIONE DI *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

**HOW A YEAST COMPANY CAN BECOME MODEL FOR THE STUDY OF THE  
ADDOMESTICATION OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

**Giacomo Zara, Alberto Tanda, Annalisa Coi, Jean Luc Legras<sup>2</sup>, Ilaria Mannazzu, Severino Zara<sup>1</sup>,  
Giovanni Antonio Farris, Marilena Budroni**

**1 Dipartimento di AGRARIA, Univ. di Sassari, SASSARI, IT, [mbudroni@uniss.it](mailto:mbudroni@uniss.it)**

**2 INRA - Montpellier France**



**Scopo del lavoro**

**RICOSTRUIRE LA STORIA DELLA  
DOMESTICAZIONE**

**DI**

***Saccharomyces cerevisiae***

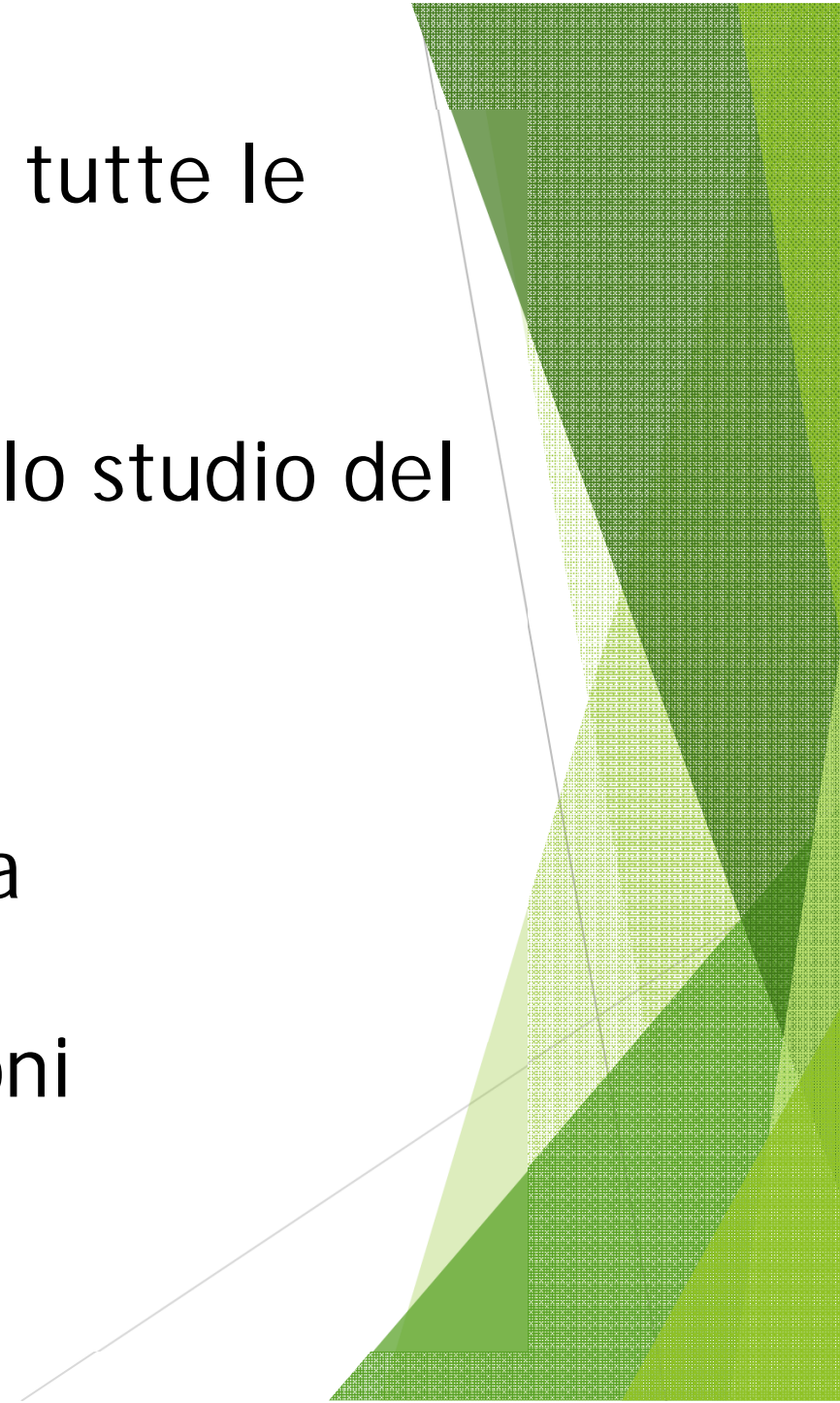


1) Il ceppo aziendale, buono per tutte le tipologie?

2) la creazione di strumenti per lo studio del genoma e la sua espressione

3) analisi di genomica comparata

4) il futuro e le nuove applicazioni

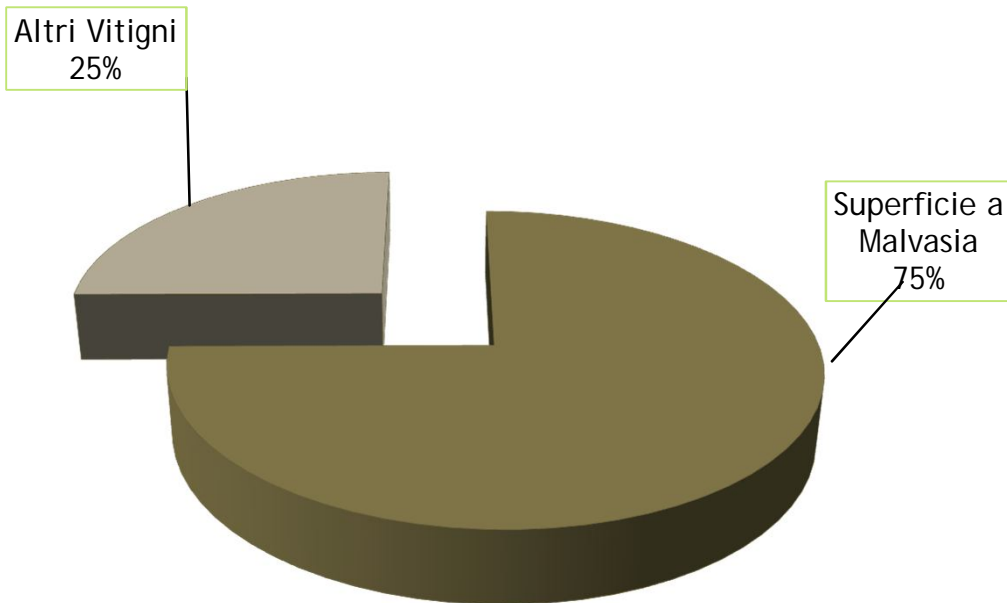




# MALVASIA DI BOSCA

- Reg. Cee 1250/70, D.M. 25/5/1970;
- Superficie totale a Malvasia DOC= **13,81ha (50,6 %) (dati Laore, 2014)**

Incidenza Malvasia su sup. vitata Tot. (Bosa)

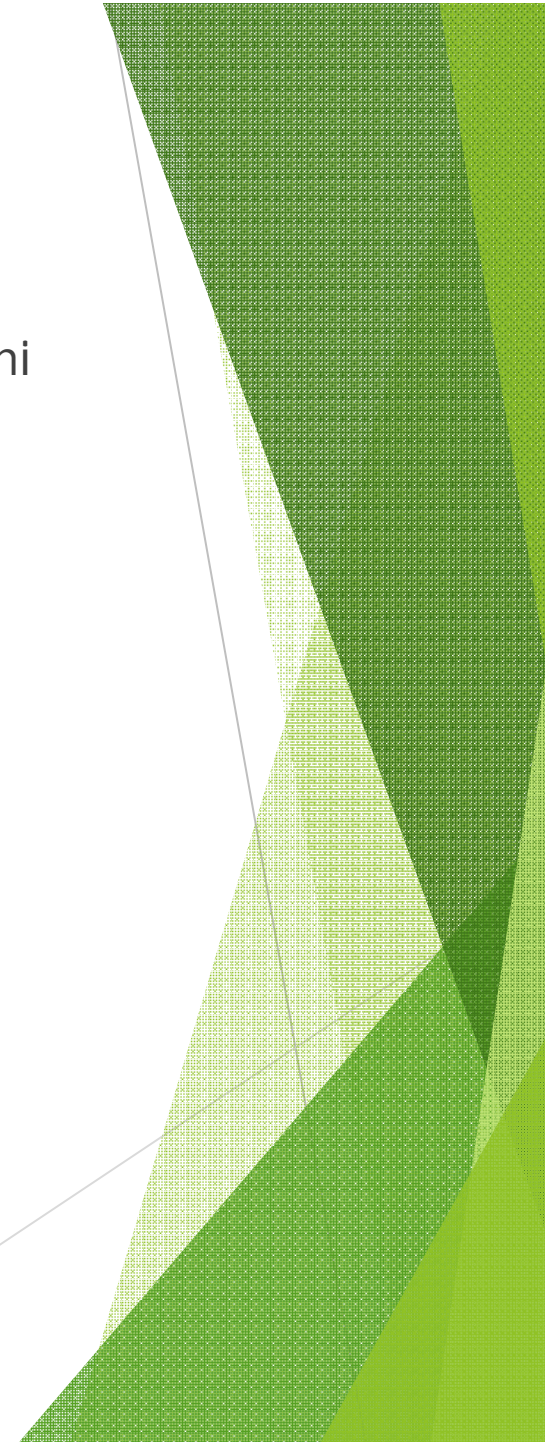


DISCIPLINARE DI PRODUZIONE DEI  
VINI A DENOMINAZIONE DI ORIGINE  
CONTROLLATA  
"MALVASIA DI BOSCA"

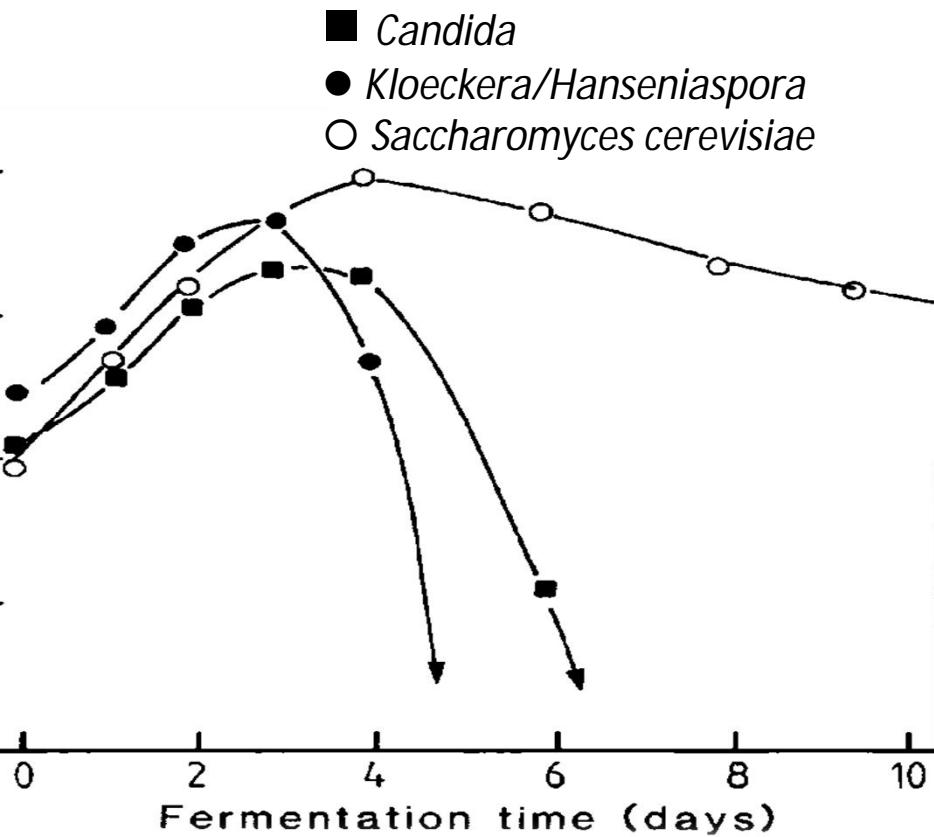
Approvato con  
DPR 21.07.1972  
G.U. 255 -28.09.1972  
Modificato con DM 30.03.2001  
G.U. 102 -04.05.2001  
Modificato con DM 24.06.2011  
G.U. 162 -14.07.2011  
Modificato con DM 30.11.2011  
G.U. 295-20.12.2011  
Pubblicato sul sito ufficiale del Mipaaf  
Sezione Qualità e Sicurezza Vini DOP e IGP  
Modificato con DM 07.03.2014 Pubblicato sul sito  
ufficiale del Mipaaf  
Sezione Qualità e Sicurezza Vini DOP e IGP

# TIPOLOGIE

- ▶ La denominazione di origine controllata “Malvasia di Bosa” è riservata ai vini che rispondono alle condizioni ed ai requisiti prescritti dal presente disciplinare di produzione per le seguenti tipologie:
- ▶ **“Malvasia di Bosa”**
- ▶ **“Malvasia di Bosa” - riserva**
- ▶ **“Malvasia di Bosa” - spumante**
- ▶ **“Malvasia di Bosa” - passito**



## FERMENTAZIONE SPONTANEA



- ELEVATA VARIABILITÀ
- RISCHI

## FERMENTAZIONE GUIDATA



- QUALITÀ COSTANTE
- STANDARDIZZAZIONE DEL PRODOTTO

# ISOLAMENTO



I prelievo (mosto)



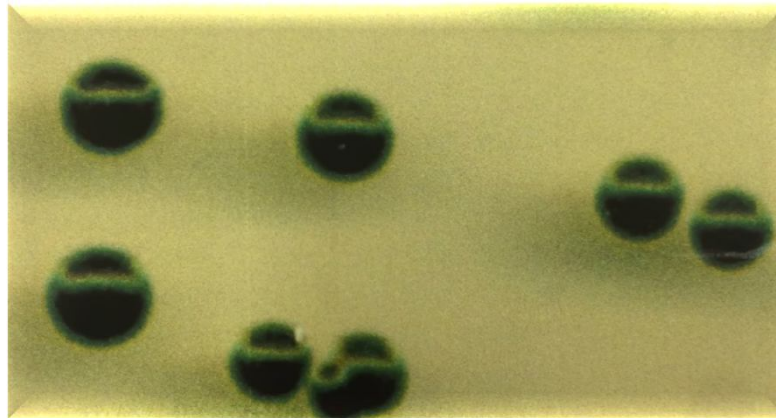
Il prelievo  
(al travaso)



# IDENTIFICAZIONE MORFOLOGICA



*Pichia*



*Kloeckera/Hanseniaspora*

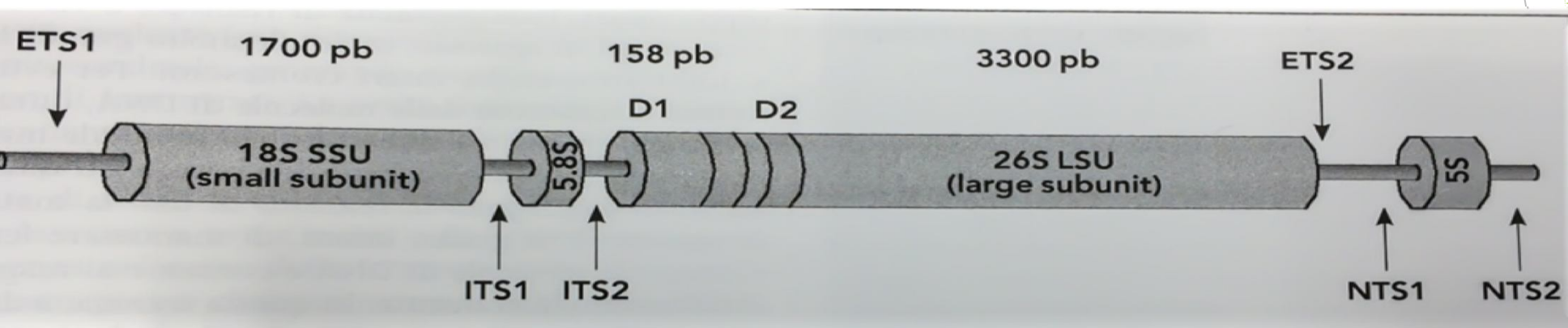


*Saccharomyces*

- **7 ISOLATI NON-SACCHAROMYCES;**
- **62 ISOLATI SACCHAROMYCES.**

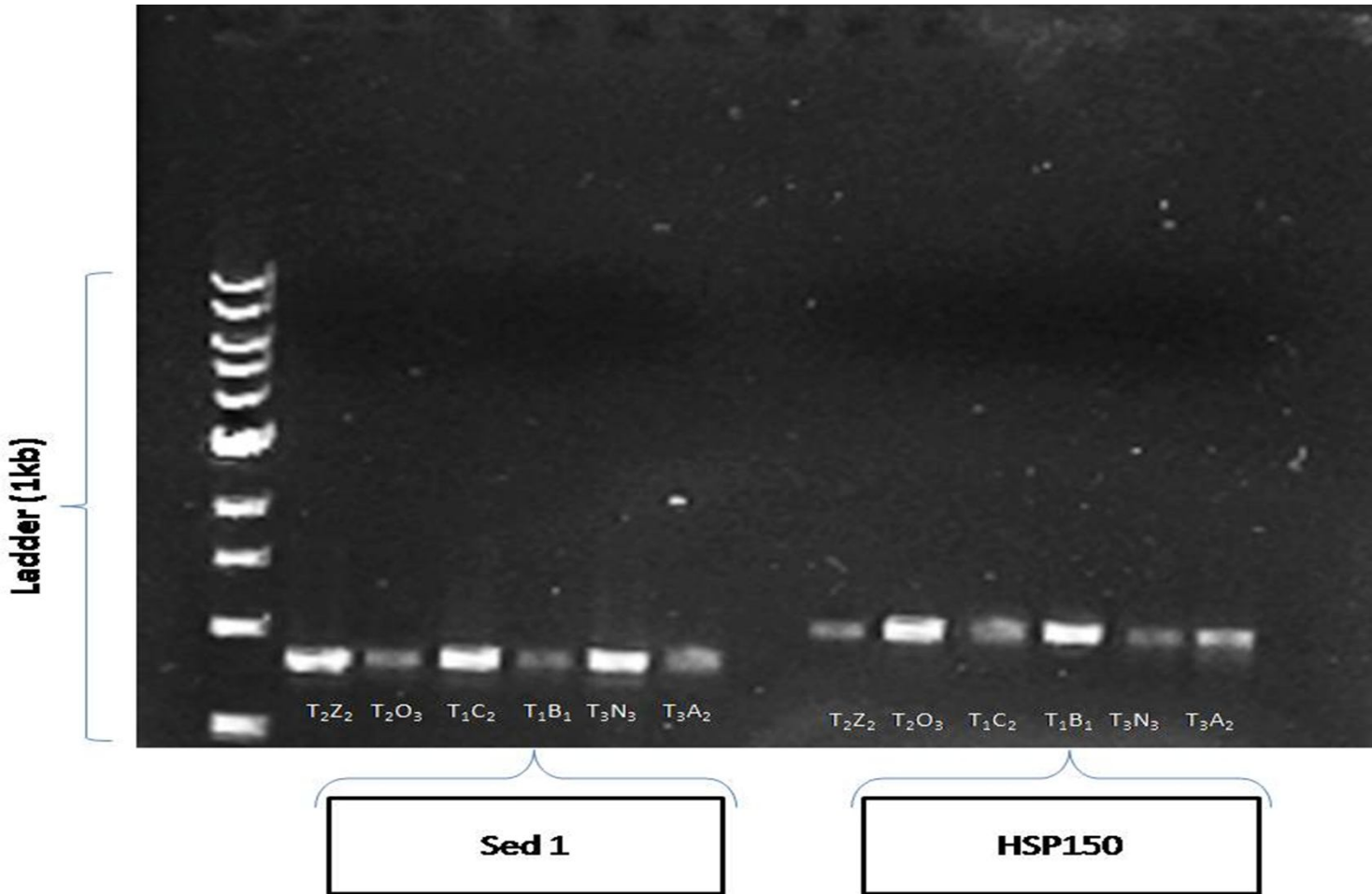


# IDENTIFICAZIONE MOLECOLARE



L'analisi degli amplificati ottenuti ha mostrato per ciascun isolato una singola banda di 880bp che, in accordo con quanto riportato in letteratura, corrisponde alla dimensione attesa per *Saccharomyces* (Zarzoso et al., 1999).

# CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE



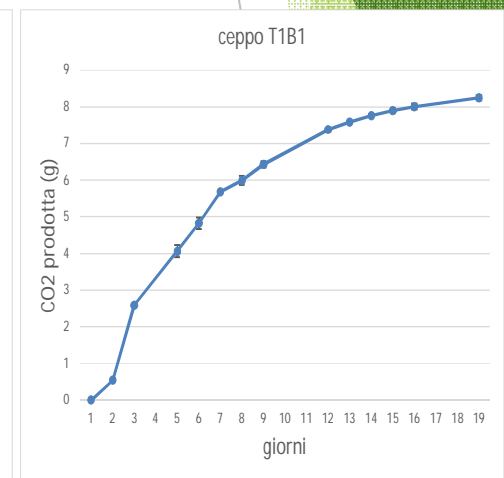
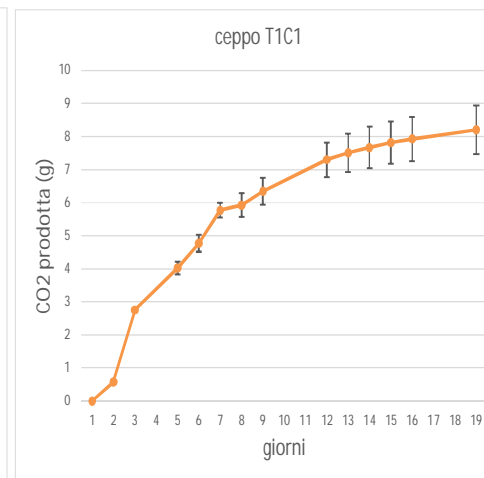
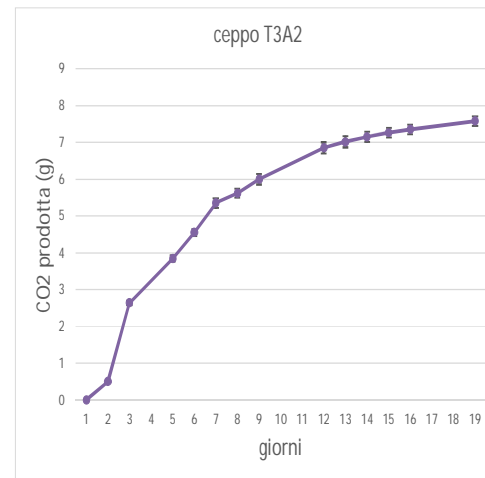
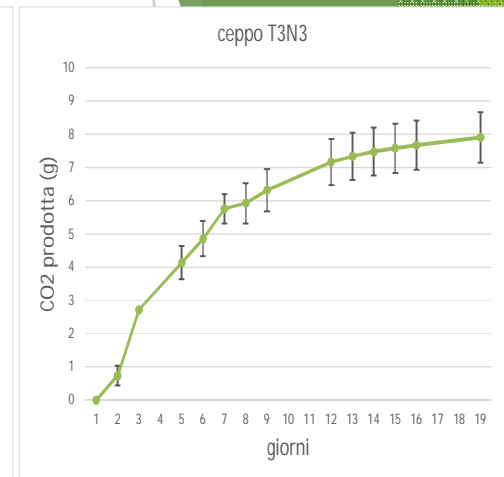
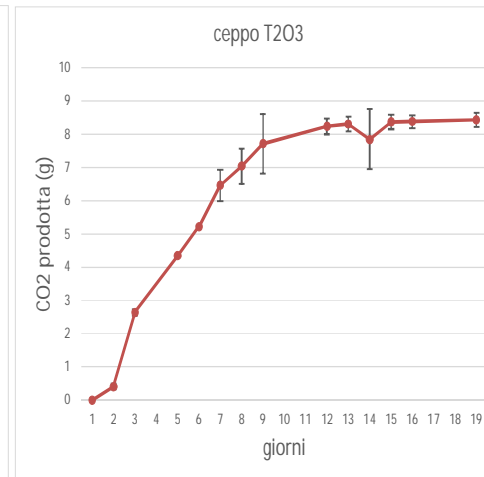
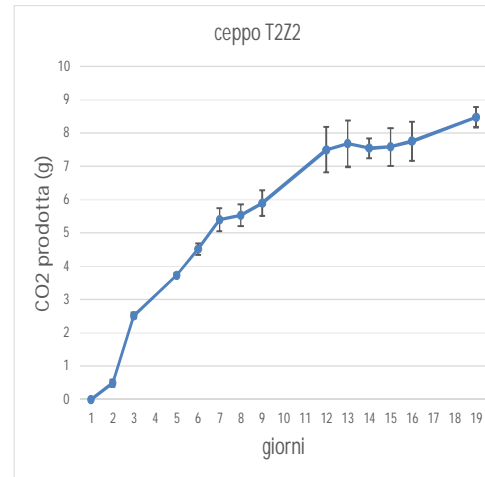
Isolati da tre contenitori diversi presentano lo stesso profilo di amplificazione

ceppo azie

# CARATTERIZZAZIONE TECNOLOGICA

ceppo azie

ova di fermentazione



Gli isolati son caratterizzati da:

- Fase lag ridotta;
- Potere fermentativo statisticamente non differente( $p < 0,5$ );
- Buon vigore fermentativo

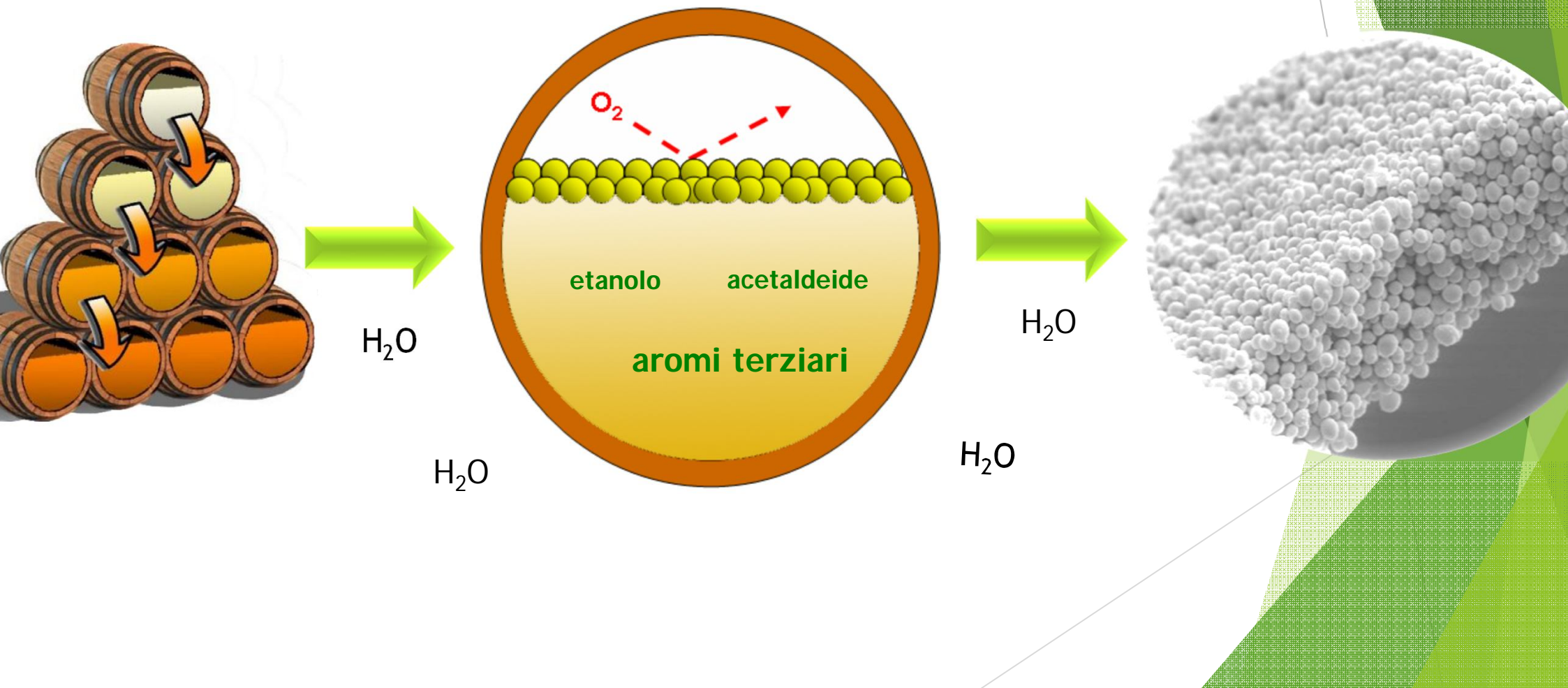
# IN CONCLUSIONE

Gli isolati selezionati e caratterizzati potrebbero essere cloni di un unico ceppo "aziendale" predominante di *Saccharomyces cerevisiae*.

Tale ceppo potrebbe essere utilizzato quindi per la fermentazione guidata della Malvasia di Bosa.

ceppo azie

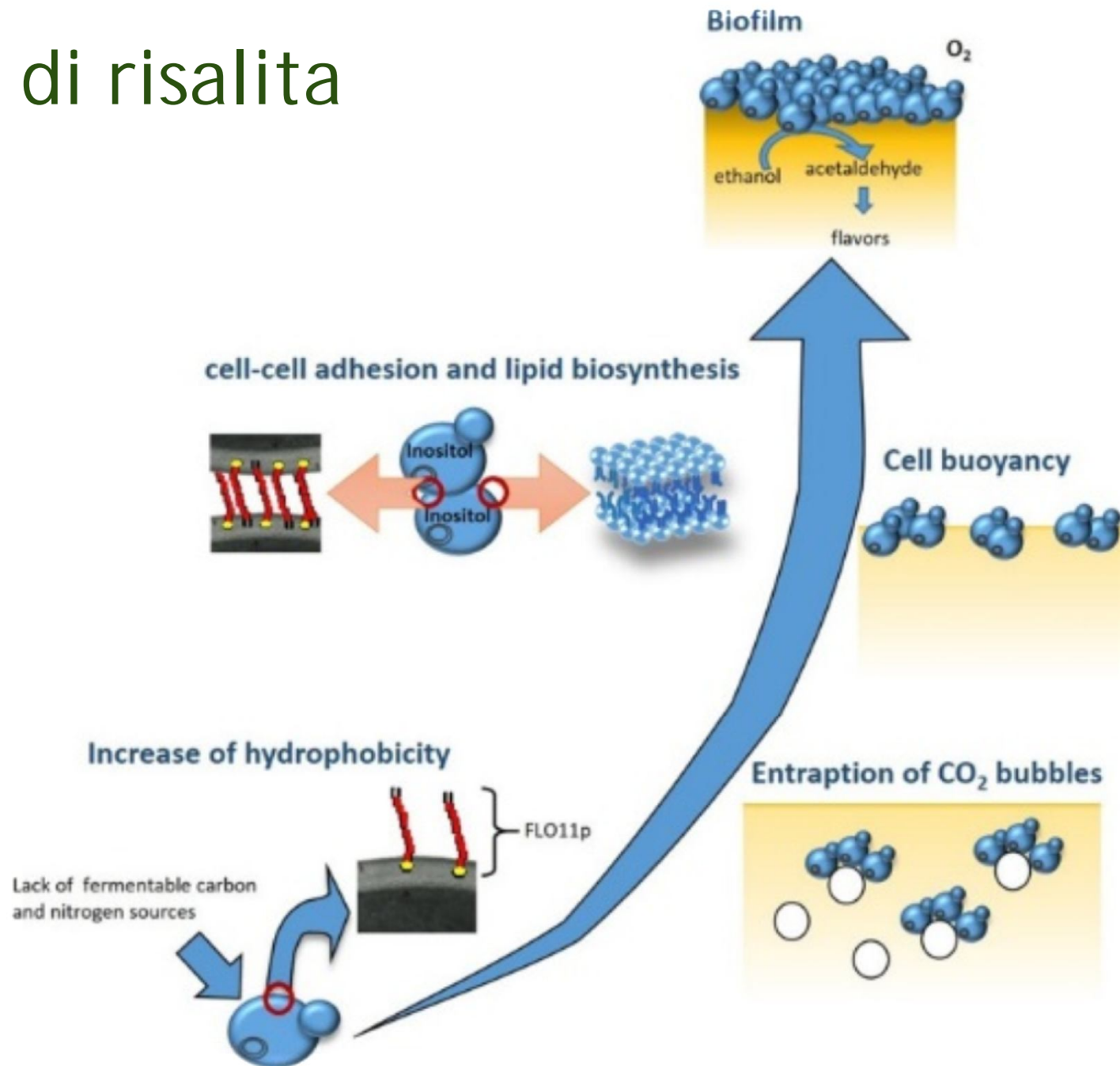
# Finamento biologico



# CARATTERIZZAZIONE TECNOLOGICA



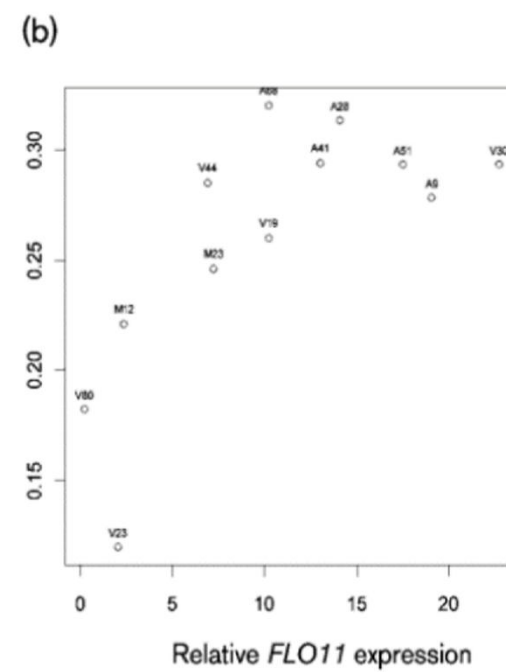
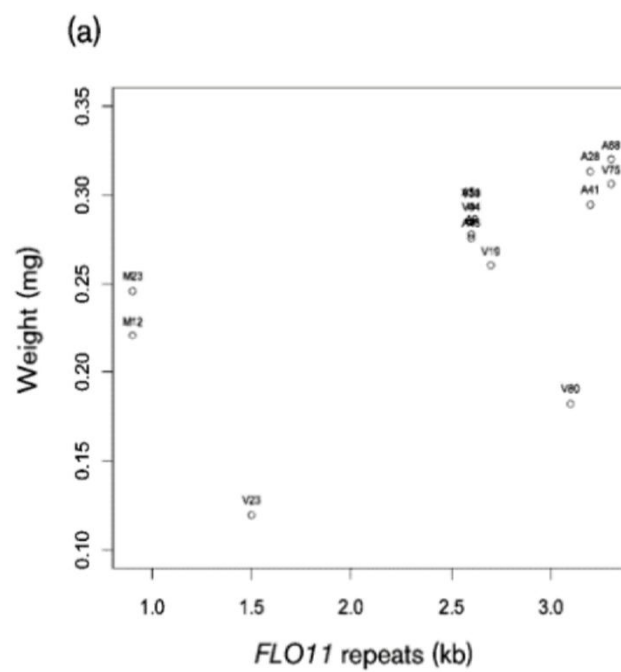
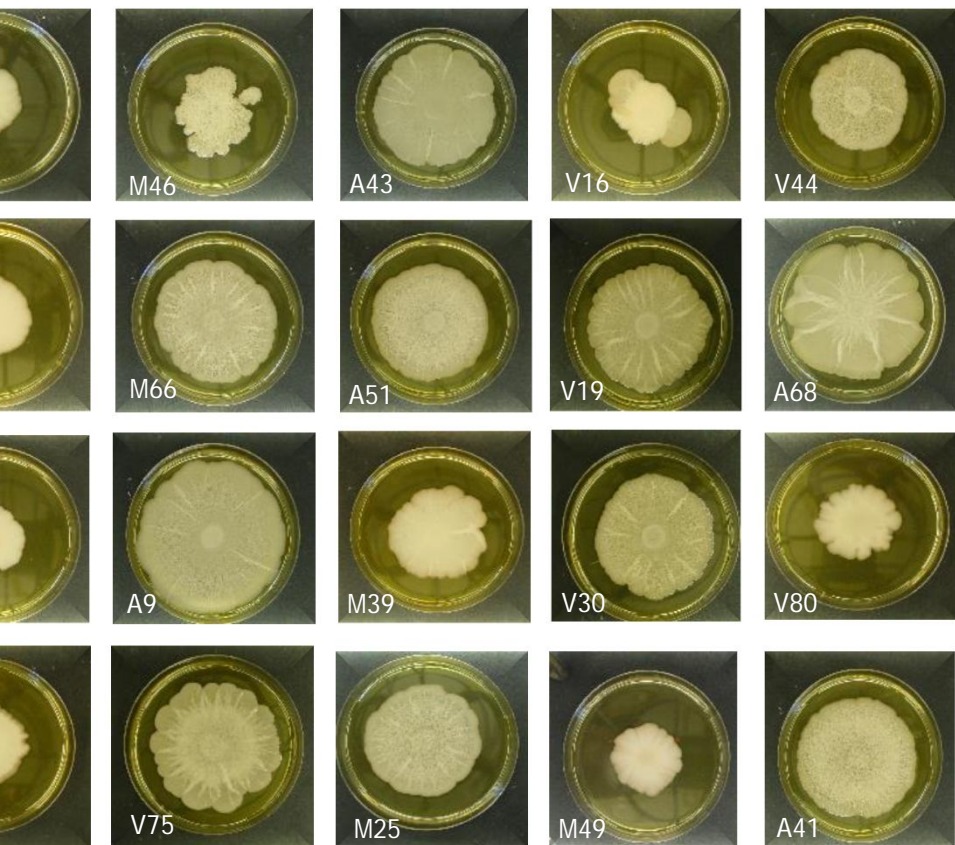
# Mecanismo di risalita



La storia

., et al. (2012); Zara G., et al. (2011); Zara S., et al. (2010); Zara S., et al. (2005)












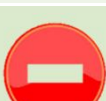


# ceppi diversi, fenotipi diversi



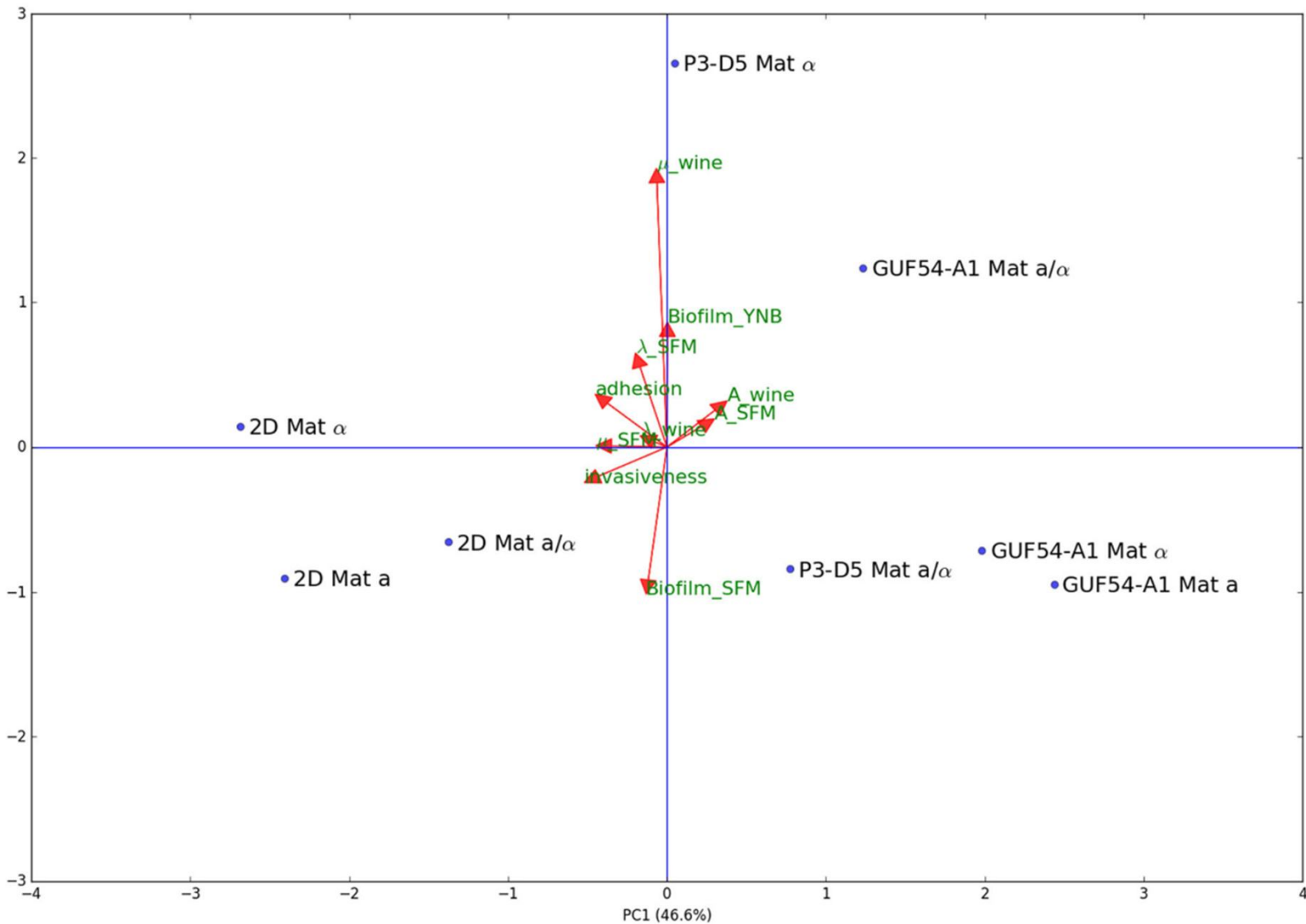




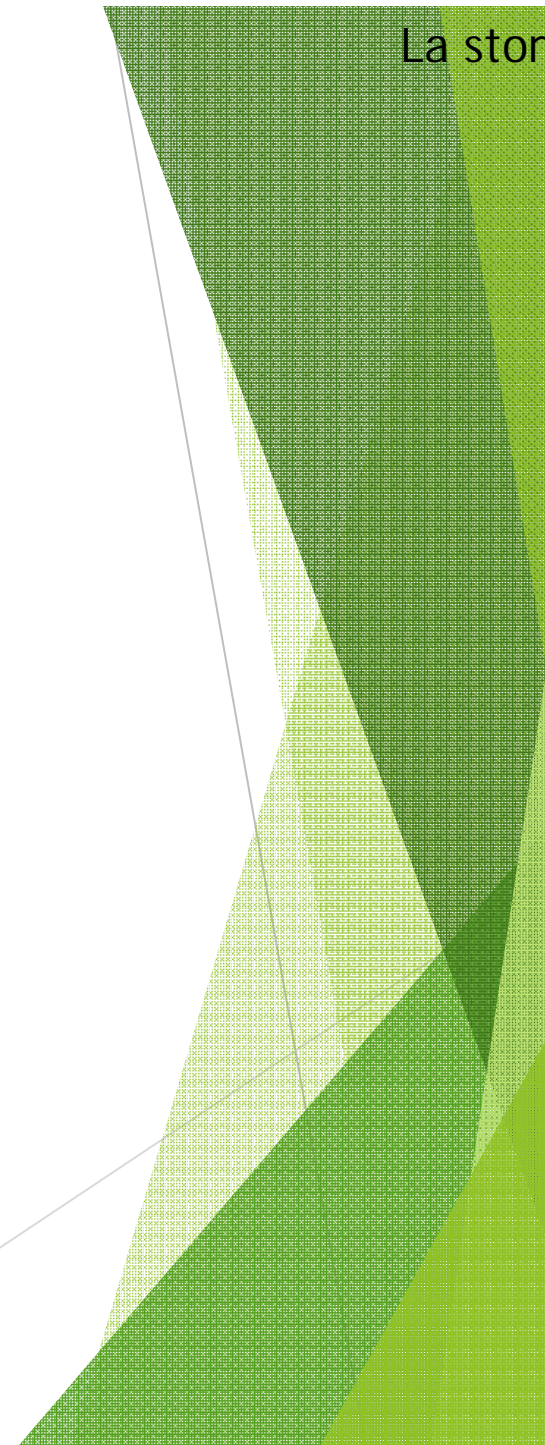
# Ceppi parentali

	2D	P3-D5	GUF54-A1
Efficienza di sporificazione			
Vitalità delle spore			
Spessore del flor			
Adesione alla plastica			
Invasività			
Crescita su vino			
Crescita su galattosio			

# Caratterizzazione colture aploidi



bi et al. 2016



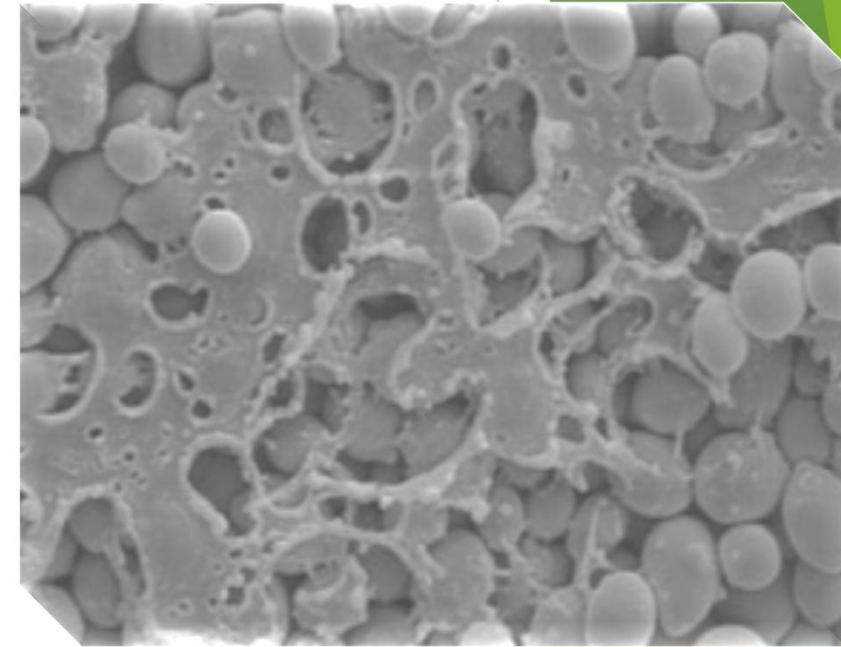


# **Studio della Biodiversità di *Saccharomyces cerevisiae***

**Creazione di ceppi aploidi flor**

**Individuazione di geni che marcano le differenze tra FLOR e non flor**

***Le differenze sono importanti per raccontare la storia***

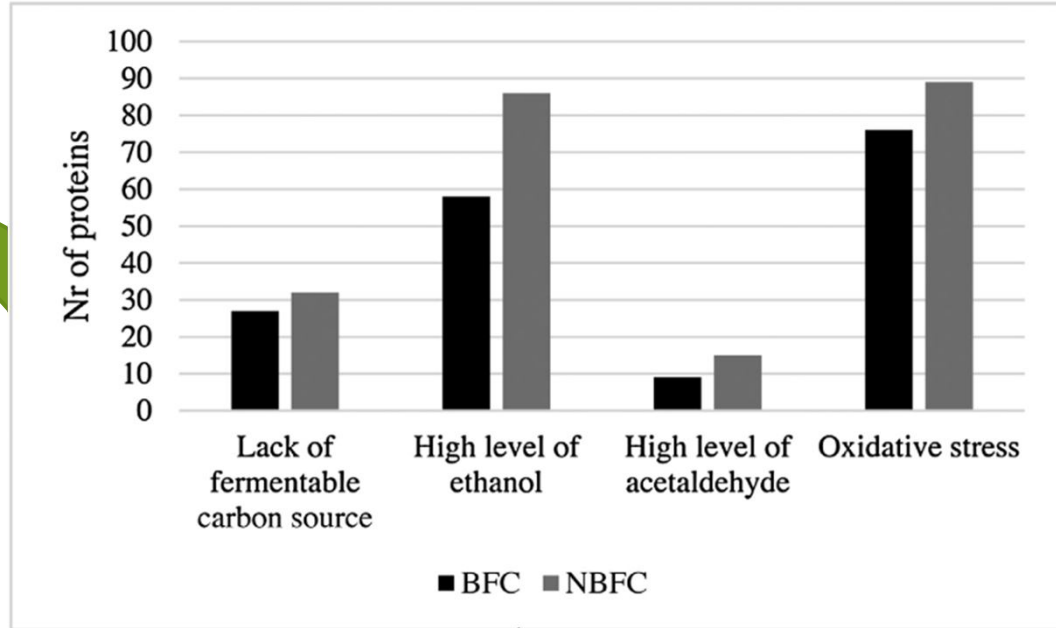


Zara G. et al. (2009)

PROSSIME E FUTURE PROSPETTIV

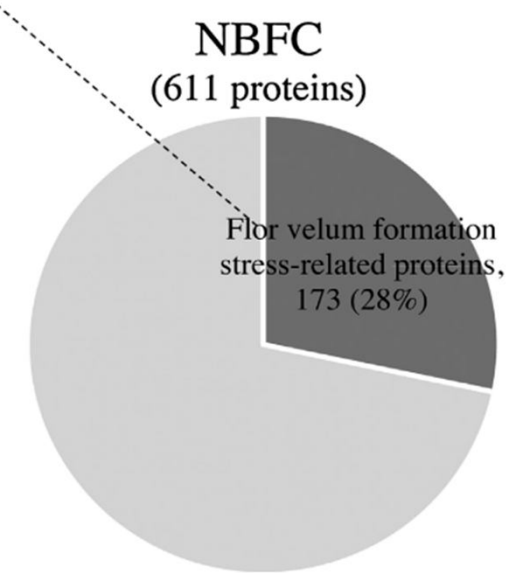
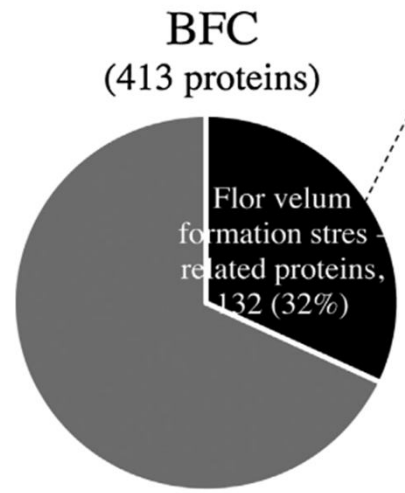


# Differenze proteomiche fase flor e non-flor

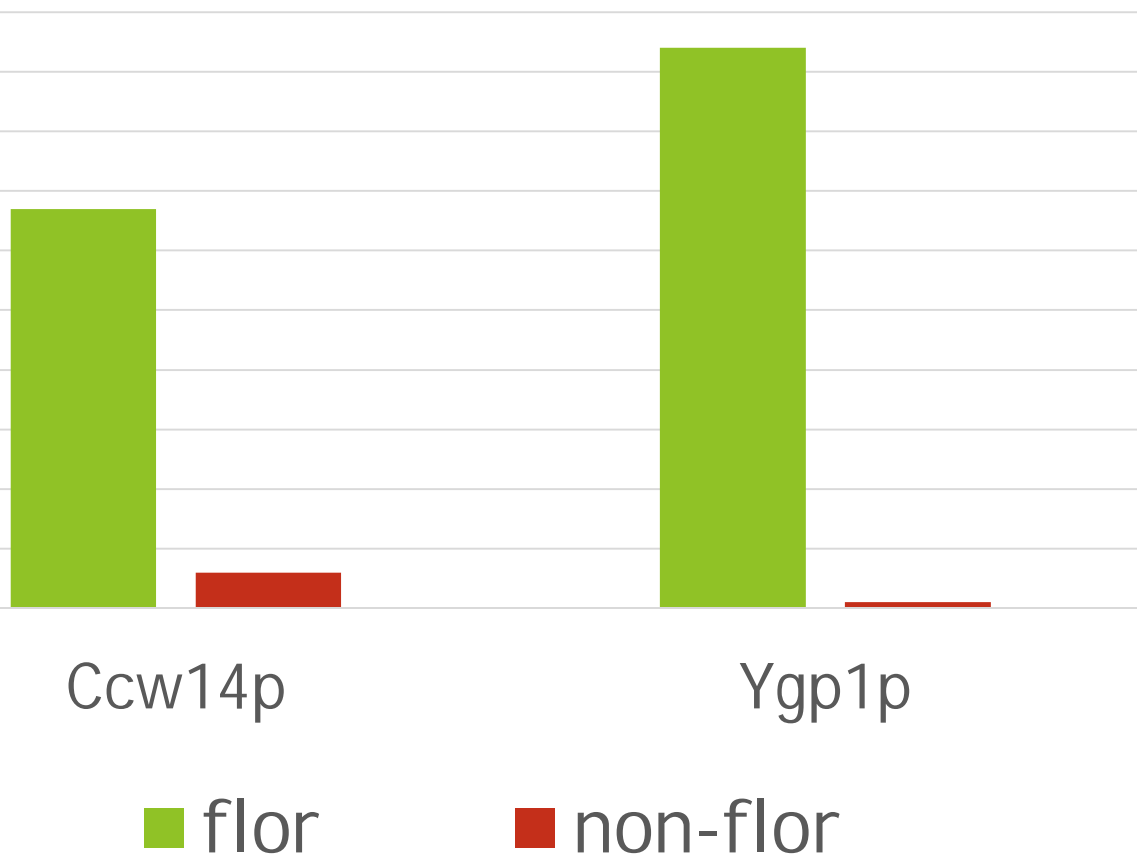


Proteins in the response to typical flor formation stresses only identified or more abundant ( $\geq$ two-fold) under the biofilm formation condition (BFC).

Protein	Protein standard name	Accession number	Brief description	Score		Protein content (weight %)		
				BFC	NBFC	BFC	NBFC	BFC/NBFC
Ccw14p	O13547	Covalently linked cell wall glycoprotein	67.62	5.73	0.53	0.20	2.68	
Cpr3p	P25719	Mitochondrial peptidyl-prolyl cis-trans isomerase (cyclophilin)	50.94	4.31	0.28	0.07	4.24	
Cys4p	P32582	Cystathionine beta-synthase, catalyzes synthesis of cystathionine from	31.03		0.16		-	
Hat2p	P39984	Subunit of the Hat1p-Hat2p histone acetyltransferase complex	3.08		0.05		-	
Idh1p	P28834	Subunit of mitochondrial NAD(+)-dependent isocitrate dehydrogenase	25.28		0.21		-	
Idh2p	P28241	Subunit of mitochondrial NAD(+)-dependent isocitrate dehydrogenase	45.37		0.23		-	



# Selezione geni per knock-out

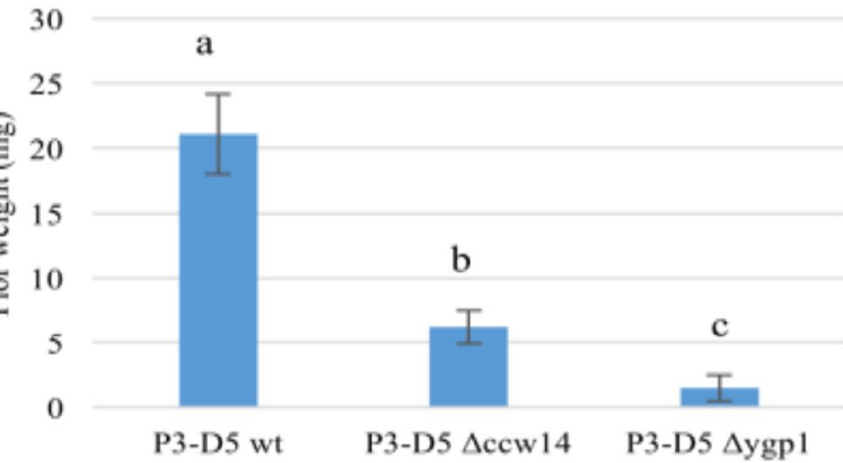


**CCW14** (YLR390W-A):  
glicoproteina legata  
covalentemente alla parete  
cellulare

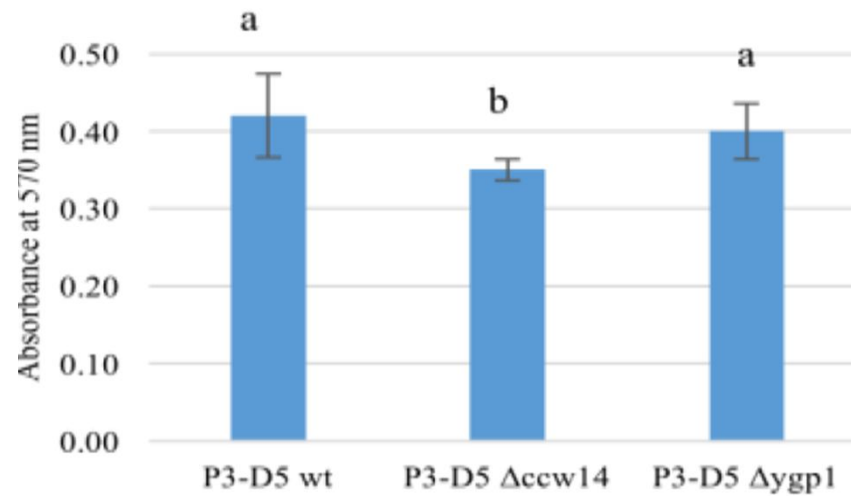
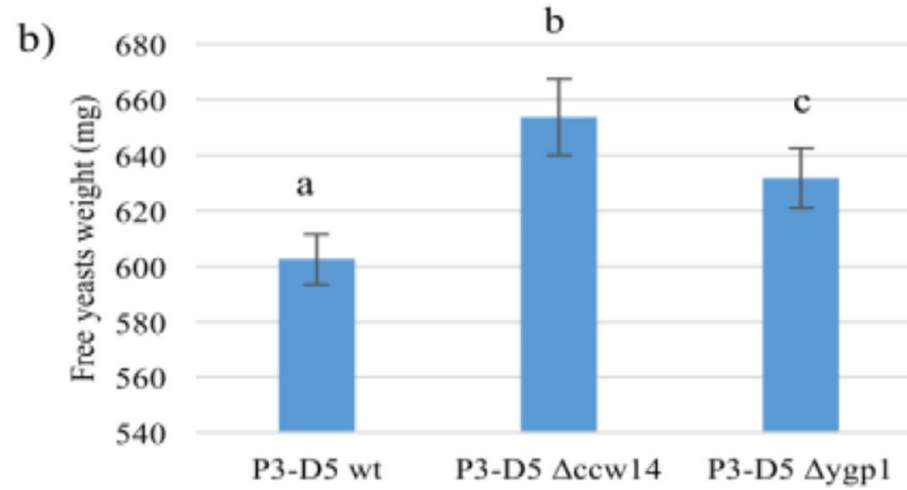
**YGP1** (YNL160W):  
Glicoproteina di secrezione  
associata alla parete  
cellulare



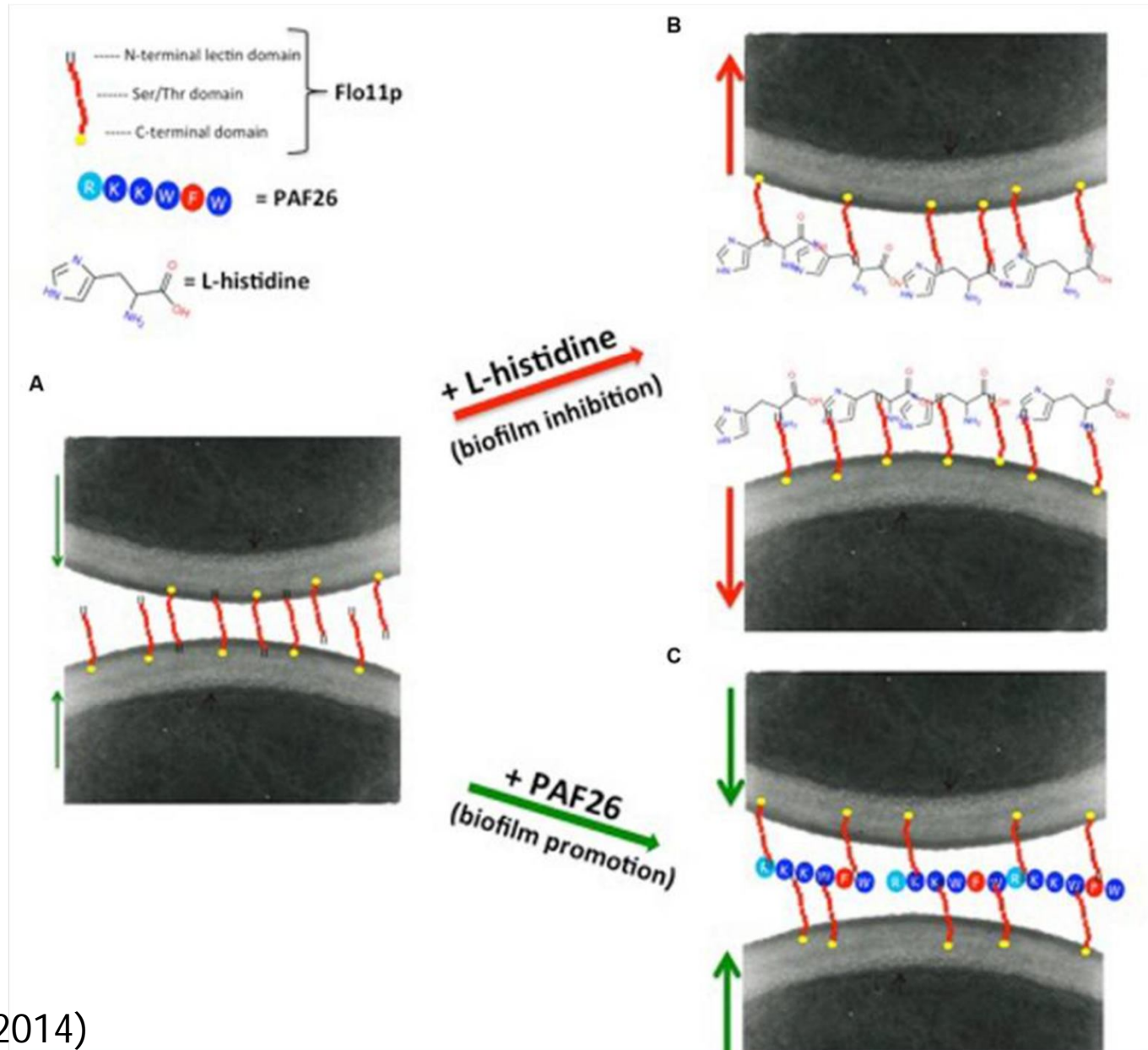
# Caratterizzazione mutanti



- Riduzione n° cellule in fase flor
- Aumento n° cellule in fase non-flor
- Riduzione aderenza alla plastica nel mutante CCW14

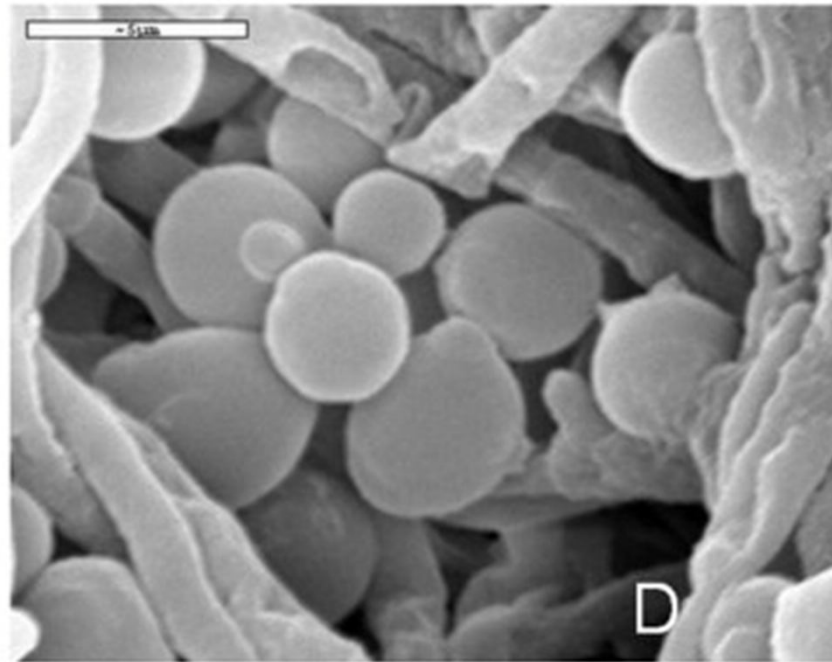
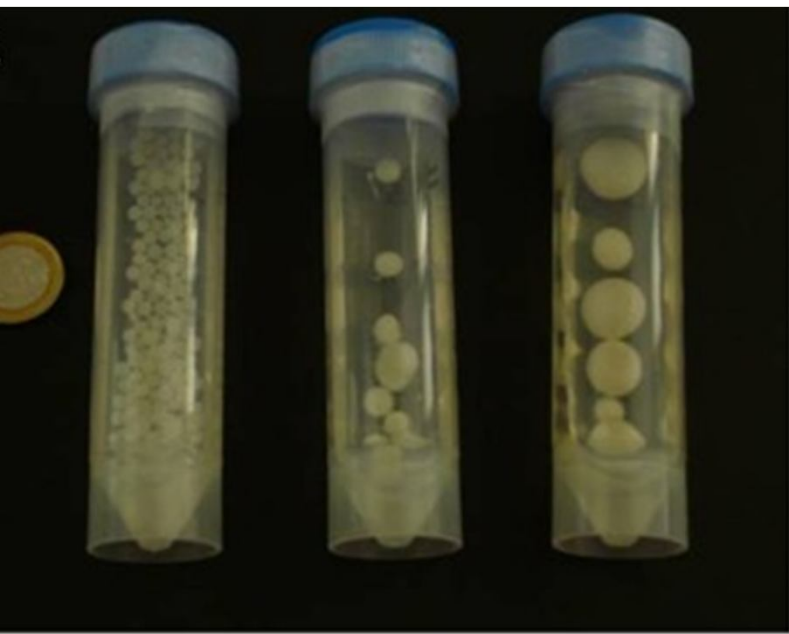


# peppi modello



# applicazioni innovative

microcapsule: *P. chrysogenum* + lieviti flor



# Grazie

