

ADAPTACIÓN DEL DISEÑO VITÍCOLA Y ENOLÓGICO EN FUNCIÓN DEL OBJETIVO DE MERCADO PARTE 2: LEVADURAS

I.S. Pretorius

The Australian Wine Research Institute, Waite Road, Urrbrae, Adelaide, SA 5064, Australia
Tel.: +61 8 8303 6600; Fax: +61 8 8303 6601; E-mail: Sakkie.Pretorius@awri.com.au

3. El potencial de las levaduras vínicas genéticamente modificadas

3.1 Cepas y especies de levaduras

Las levaduras predominan a lo largo de la fermentación de los vinos. En las fermentaciones espontáneas existe un patrón progresivo de crecimiento de levaduras indígenas originarias de la superficie de la baya y de la maquinaria de la bodega. Las levaduras de los géneros *Kloeckera*, *Hanseniaspora* y *Candida* predominan en las etapas tempranas, seguidas por numerosas especies de *Metschnikowia* y *Pichia* cuando el etanol alcanza 3-4%. La última etapa es dominada por cepas de *S. cerevisiae* resistentes al alcohol, la cual es reconocida universalmente como “la levadura vínica”. Se presume que las levaduras indígenas presentes en las fermentaciones espontáneas producen vinos de estructura completa y redonda. Sin embargo, estas fermentaciones son en general prolongadas y el producto final es impredecible. Por lo tanto, la fermentación espontánea es empleada en algunas bodegas boutique que dependen sobre todo de la variabilidad de la vendimia y, asimismo, están dispuestas a aceptar estos riesgos para alcanzar los diferentes estilos de vinos que reflejan la diversidad de las levaduras específicas de cada región.

En las modernas bodegas de gran volumen, donde las fermentaciones rápidas y confiables son esenciales para obtener un vino con aromas y sabores consistentes y de calidad predecible, se utilizan levaduras seleccionadas de *S. cerevisiae*, de propiedades conocidas. Además de la función primaria de estas levaduras seleccionadas, es decir, catalizar en forma rápida, eficiente y completa los azúcares de la uva (glucosa y fructosa) en alcohol sin el desarrollo de olores desagradables, los winemakers pioneros demandan que las cepas posean una amplia gama de propiedades especiales que pueden agregar valor al producto final. Esta búsqueda de cepas optimizadas para tareas específicas establecidas por los elaboradores, ha conducido a una profunda dedicación en el desarrollo e ingeniería genética de las levaduras.

3.2 Características genéticas y técnicas para el análisis y mejoramiento de las levaduras

La mayoría de las cepas de *S. cerevisiae* multiplicadas en laboratorios son haploides o diploides, mientras que las levaduras de la industria vínica son predominantemente diploides o aneuploides, y ocasionalmente poliploides. Ya es conocida la secuencia completa del genoma de *S. cerevisiae*. Esta levadura posee un genoma relativamente pequeño y compacto (ca 13.000 kb), un gran número de cromosomas (16 cromosomas lineales, entre 200 a 2.200 kb), un bajo número de genes (ca 6.000 genes codificadores de proteínas), escasa cantidad de DNA repetitivo y algunos intrones.

Existen poderosos métodos clásicos y de biología molecular con los cuales se pueden analizar y modificar las levaduras vínicas. Inicialmente, se emplearon cuatro tipos de análisis, con la ayuda de un micromanipulador, para la identificación, caracterización y mapeo genético de las levaduras. Recientemente, la tecnología ha sido desarrollada para suministrar un enlace directo entre el genoma (juego completo de genes) y el transcriptoma (juego completo de transcriptores) de las cepas de levaduras. La secuencia genómica se ha utilizado para diseñar y sintetizar series de oligonucleótidos de alta densidad para monitorear los niveles de expresión de casi todos los genes de levaduras que se desarrollan bajo las condiciones de fermentación. Además, cuando en un futuro se concluya la traducción de los 6.000 genes de *S. cerevisiae*, será

accesible el proteoma (juego completo de proteínas) para el descubrimiento del complejo metaboloma (actividades metabólicas y metabolitos) de las levaduras vínicas.

La información obtenida después del análisis del genoma, transcriptoma, proteoma y metaboloma de las levaduras indudablemente incrementará la especificidad de los actuales métodos, con los que se seleccionan y manipulan genéticamente cepas para la producción de vinos con estilos y tipos particulares. Por el momento, los métodos de selección y modificación clásicos, tales como la selección variante, mutagénesis, hibridación (apareamientos, apareamiento célula-espora, apareamientos extraordinarios, citoducción y fusión de esferoplastos), están basados principalmente en un procedimiento “shotgun”. Con este procedimiento, gran parte del genoma, o su totalidad, es recombinada o reordenada. Por lo tanto, estos métodos no son lo suficientemente específicos para modificar las levaduras vínicas de una manera controlada y pueden suministrar una mejora en algunas de las propiedades de las levaduras, a la vez que comprometen otras características deseables. La única ventaja de estos métodos es que pueden ser utilizados para mejorar y combinar características mediante control poligénico y no originan productos que están incluidos en las definiciones establecidas como GMOs. En consecuencia, variantes, mutantes, híbridos, citoductantes y fusantes no están sujetos a las mismas estrictas regulaciones correspondientes a los GMOs y tampoco son tratados con el mismo recelo público que las levaduras vínicas transformadas con DNA extraño. Sin embargo, la ingeniería genética se mantiene como el único método confiable que ofrece la posibilidad de modificar una propiedad existente, introducir nuevas características y eliminar las indeseables sin afectar otras. Se han desarrollado para *S. cerevisiae* numerosos métodos efectivos de transformación y vectores plásmidos, como también paquetes de expresión y secreción, para la expresión de genes heterólogos y la secreción de las proteínas codificadas. Esto ha ofrecido una amplia aplicabilidad y un alto grado de especificidad en el desarrollo del mejoramiento de las levaduras vínicas.

3.3 Objetivos de los mejoramientos genéticos de levaduras vínicas

En general, el objetivo del desarrollo de cepas está relacionado a mejorar la economía de la producción y la calidad del vino. La Tabla 2 resalta algunos de los adelantos que pueden alcanzarse utilizando levaduras genéticamente manipuladas. Estos objetivos incluyen el incremento de la eficiencia del proceso de fermentación, la elaboración del vino y el control de alteraciones microbianas, como así también el mejoramiento de la salubridad y calidad sensorial del vino.

Mejoramiento del desarrollo de la fermentación. Las fermentaciones vínicas usualmente resultan más veloces que lo deseado y, por ende, se controlan disminuyendo la temperatura. Las fermentaciones “incontrolables” tienen una implicación comercial, ya que los compuestos aromáticos volátiles son eliminados por arrastre por el dióxido de carbono y que el espacio en los fermentadores es reducido debido a la formación de espuma. Por otro lado, la fermentación a veces termina en forma prematura o procede muy lentamente. Las pérdidas financieras causadas por fermentaciones “estancadas”, “lentas” o “incompletas” son atribuidas a la utilización ineficiente del espacio del fermentador y a las alteraciones como resultado de la baja velocidad de evolución del dióxido de carbono protector y al alto contenido de azúcares residuales. Por consiguiente, la predicción de la fermentación y la calidad del vino dependen directamente de los atributos de la levadura, que ayuda a un rápido establecimiento del dominio numérico y metabólico en la fase temprana de la fermentación y conduce una fermentación uniforme y eficiente con el nivel de azúcares residuales deseable. Muchos factores afectan en el desarrollo de la fermentación. Entre los principales objetivos del perfeccionamiento del desarrollo de la fermentación están el incremento de la elasticidad y resistencia al estrés de las levaduras secas activas; la optimización de la captación y asimilación de azúcares y nitrógeno; el aumento de la resistencia al etanol y otros metabolitos microbianos tóxicos; la resistencia al sulfito, metales pesados y residuos agroquímicos; y la reducción de la formación de espuma (Tabla 2).

Los esteroides, trehalosa, glucógeno y acuaporinas satisfacen múltiples tareas en el aumento de la supervivencia de cepas de *S. cerevisiae* expuestas a diversos tipos de estrés físicos y químicos. Por lo tanto, tienen una importante influencia sobre la reactivación con relación a la tolerancia

general al estrés, elasticidad, buena salud y vigor de levaduras secas activas. Como resultado, existe una fuerte tendencia a desarrollar cepas de levaduras vínicas con una habilidad superior para acumular estos compuestos. Sin embargo, debido a la complejidad de los mecanismos respuesta al estrés, no está todavía claro si la eliminación del gen de la trehalosa *ATH1* y la modificación de los niveles de expresión de los genes involucrados en el metabolismo de la trehalosa (*TPS1*, *TPS2*, *ATH1*), glucógeno (*GSY1*, *GSY2*) y esteroides (*SUT1* y/o *SUT2*) y en la síntesis de acupurinas (*AQY1*, *AQY2*) (Tabla 2) resultarán en un mejoramiento de la viabilidad y vitalidad de las levaduras.

El desequilibrio en el mosto de uva, niveles altos de carbono y bajos de nitrógeno, es la causa más común de evoluciones fermentativas pobres. Fermentaciones languidecentes o paradas ocurren porque la disminución del nitrógeno irreversiblemente detiene el transporte de hexosas. El principal objetivo para asegurar la eficiente utilización del azúcar (glucosa y fructosa), bajo condiciones limitantes de nitrógeno, es incrementar la velocidad del flujo glicolítico, mediante el reemplazo de cualquier alelo mutante no funcional de genes codificadores de enzimas glicolíticas claves. De esta manera, se aumenta la eficiencia del consumo de hexosas (especialmente glucosa) y se alivia la asimilación de prolina y arginina mediante la represión del catabolismo del nitrógeno (en el mosto de uva, representa cerca del 30-65% del contenido total de aminoácidos) (Tabla 2). En el caso de fermentaciones incompletas, la preferencia de las levaduras vínicas por la glucosa sobre la fructosa puede conducir a un residuo excesivo de fructosa que compromete la calidad del vino. Se estima que la velocidad de producción de alcohol, por parte de las levaduras, está limitada primeramente por la velocidad de consumo de los azúcares, en especial de la fructosa en presencia de altos niveles azucarinos durante la fase temprana de la fermentación y durante las últimas fases de disminución del nitrógeno acoplado a la limitación de nutrientes. Por consiguiente, numerosos laboratorios enfocan sus esfuerzos a la fosforilación mediante las hexoquinasas codificadas por *HXK1* y *HXK2* y la glucoquinasa codificada por *GLK1*, como también al transporte de hexosas codificado por *HXT1-HXT18* y *SNF3*. Existe una evidencia anecdótica de que la sobre expresión del simporte fructosa / H⁺ (*FSY1*) de *S. pastorianus*, junto con algunos transportadores de hexosas codificadas por *HXT1-HXT18* y *SNF3* y hexoquinasa codificada por *HXK1* (con una alta afinidad a la fructosa, pero todavía significativamente más bajo que para la glucosa), resulta en un mejoramiento del consumo de glucosa y fructosa durante la fermentación. Además, la eliminación del represor *URE2* de la prolina oxidasa, codificada por *PUT1*, y de la pirrolina-5-carboxilato deshidrogenasa codificada por *PUT2*, representa el primer paso hacia el desarrollo de levaduras vínicas que puede asimilar eficientemente el abundante suministro de prolina y arginina en jugo de uva bajo las condiciones de fermentación.

Otro empuje para mejorar el progreso de la fermentación es incrementar la resistencia de las levaduras hacia los metabolitos tóxicos (etanol, ácido acético, ácidos grasos de cadena media, etc.), quimosinas (toxinas killer derivadas de levaduras), conservantes químicos (SO₂) y agroquímicos con metales pesados (cobre) (Tabla 2). Por ejemplo, la modificación de expresión de los genes *SUT1*, *SUT2*, *PMA1* y *PMA2* resulta en un incremento de la acumulación de esteroides y de la actividad ATPasa de la membrana celular y, consecuentemente, aumenta la resistencia al etanol. Asimismo, la genética, determinantes micovirales y otros genes codificadores de toxinas killer (péptidos quimosidales), y los factores inmunológicos pueden ser incorporados en las levaduras vínicas para hacerlas insensibles a quimosinas de las levaduras autóctonas. En cuanto a la resistencia a agroquímicos, un aumento en el número de copias del gen *CUP1*, quelante de cobre, permite a las levaduras vínicas tolerar altos niveles de residuos de cobre en el mosto de uva.

Mejoramiento de la eficiencia del proceso. Los principales objetivos de la clarificación (adición de compuestos adsorbentes seguido de sedimentación o precipitación, trasiegos, centrifugación, filtración, etc.), durante el proceso del vino, incluyen la remoción de ciertos componentes y células microbianas en exceso para alcanzar la limpidez y asegurar la estabilidad físico-química del producto final. La clarificación de vinos incluye generalmente prácticas costosas y laboriosas que generan amplios volúmenes de lías, por lo tanto, causan pérdidas de vino y remoción de importantes compuestos aromáticos y de sabor del vino remanente. Con el objeto de minimizar las desventajas de estas prácticas violentas de clarificación, se añade

frecuentemente una serie cada vez más amplia de enzimas comerciales costosas (proteasas, pectinasas, glucanasas, xilanasas, arabinofuranosidasas, etc.) al mosto de uva y al vino. Como estrategia alternativa a la adición de enzimas costosas que con frecuencia contienen contaminantes indeseables o actividades paralelas, se están desarrollando levaduras vínicas que secretan enzimas proteolíticas y polisacrolíticas que podrían remover la formación de proteínas peligrosas y polisacáridos que obstruyen los filtros. Finalmente, la sobre expresión de numerosos genes bacterianos, fúngicos y de levaduras resulta en el fomento de levaduras vínicas proteolíticas, pectinolíticas, gluconolíticas y xilanolíticas (Tabla2).

El segundo objetivo para el mejoramiento de la clarificación y filtración apunta a la remoción eficiente de células de levaduras de la fase líquida en el tanque o bodega. La expresión regulada de los genes de floculación es importante ya que, por un lado, garantiza un elevado recuento de las levaduras suspendidas y un rápido curso de fermentación y, por otro, la sedimentación eficiente requerida para minimizar los problemas de clarificación al final de la fermentación. La floculación de levaduras es especialmente importante para la producción de vinos espumantes fermentados en botellas, y el control del comienzo de la floculación, en el momento apropiado durante la producción de vino espumante, puede simplificar este costoso proceso. La expresión de gen de la floculina *FLO1*, relacionada con el promotor de fermentación tardía *HSP30*, pueden inducirse mediante un shock térmico, confirmando que la floculación controlada es de hecho posible durante la fermentación. La agregación celular también juega un papel clave en la producción de jerez, durante la cual un proceso celular relacionado da como resultado la flotación de las levaduras. Así, se forma un velo (biofilm) en la superficie del vino. Colocando el gen de la mucina *MUC1* (también conocido como *FLO11*) bajo el control del promotor *HSP30*, la formación del biofilm puede ser promovida al final de la fermentación y así simplificar el desarrollo de la flor.

Mejoramiento del control biológico de microorganismos alterantes. La proliferación microbiana descontrolada antes, durante y después de la fermentación alcohólica puede alterar la composición química del producto final, depreciando sus propiedades de apariencia, aroma y sabor. La sanidad de la uva, la higiene de la bodega y prácticas enológicas sanas son el pilar del enólogo contra el desarrollo descontrolado de microorganismo alterantes. Las adiciones de conservantes químicos, como SO₂, dimetil dicarbonato, ácido benzoico, ácido fumárico y ácido sórbico, proporcionan un control sobre el desarrollo de microorganismos contaminantes indeseables. Sin embargo, el empleo excesivo de estos conservantes es dañino para la calidad del vino y es confrontado por la creciente resistencia de los consumidores. Las preferencias del consumidor han cambiado hacia productos con menor cantidad de conservantes químicos, menos procesados, mayor calidad, más naturales y saludables. Por lo tanto, la preservación biológica, mediante metabolitos derivados de levaduras (formación de SO₂ o H₂O₂ durante la fermentación), enzimas antimicrobianas (lisozima, quitinasas, endoglucanasas, etc.) y péptidos (quimosinas y bacteriocinas), está siendo considerada como una estrategia alternativa a la conservación con químicos. No obstante, el empleo de enzimas antimicrobianas y bacteriocinas purificadas es costoso, resultando en un aumento de los costos al por menor. Este problema se puede evitar a través de la expresión efectiva de enzimas y péptidos antimicrobianos en levaduras seleccionadas y, de esta manera, dirigir la industria del vino hacia productos de mayor calidad y pureza. Para tal fin, se han utilizado genes que codifican la lisozima (*HELI*) derivado del huevo blanco de gallina, la pediocina (*PEDI*) de *Pediococcus acidilactici* y la leucocina (*LCA1*) de *Leuconostoc carnosum*, para manufacturar levaduras con capacidad bactericida. También se han expresado en *S. cerevisiae* genes antifúngicos que codifican la quitinasa *CST1* y la exoglucanasa *EXG1*. El principal procedimiento, en la construcción de cepas quimosidales, vincula una combinación de determinantes killer micovirales de *S. cerevisiae* (por ejemplo, K1/K2 doble killer) y de genes codificadores de quimosinas de otras levaduras (*Hanseniaspora*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, etc.). Lo ideal sería incorporar todas estas actividades antimicrobianas en una única levadura vínica, impidiendo así cualquier contaminación en la elaboración debida a bacterias (*Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, etc.), levaduras (*Brettanomyces*, *Pichia*, *Zygosaccharomyces*, etc.) y mohos (*Aspergillus*, *Botrytis*, *Penicillium*, *Trichoderma*, etc.).

Mejoramiento de la salubridad del vino. En general se acepta que beber vino, en forma

moderada, es beneficioso y puede ser efectivo en el manejo del estrés y en la reducción de enfermedades cardíacas. Los principales compuestos protectores encontrados en el vino son fenoles, reveratrol, ácido salicílico y alcohol. Sin embargo, los prudentes consumidores de vino están cada vez más exigentes por la presencia de compuestos indeseables. Estos compuestos incluyen carcinogénicos sospechosos, como el etilcarbamato, neurotoxinas, como las aminas biogénicas, y conservantes químicos alergénicos, como los sulfitos. Los más quisquillosos, entre todos estos minuciosos bebedores de vino, están preocupados incluso por los altos niveles de alcohol en el vino. Cuando se desarrolla una levadura vínica, es de suma importancia concentrarse en estos aspectos de la salud que puedan incrementar los beneficios (producción de reveratrol, carnitina, etc.) y reducir los riesgos (eliminación del etilcarbamato y aminas biogénicas, disminuir los niveles de alcohol), asociado con un consumo moderado de vino.

Con respecto a producción de reveratrol durante la fermentación, ya se ha logrado un progreso mediante la construcción de una levadura que expresa los genes de la coenzima A ligasa (*4CL9/216*) y de la estilbeno sintetasa (*VSTI*). El desarrollo de una levadura bactericida, a la cual se le elimina el gen *CARI* de la arginasa, que bloquea la secreción de urea (precursor para la formación de etilcarbamato), o es transformada con genes ureásicos heterogéneos, que inhabilitan la degradación de la ureasa, disminuirá la adición de SO₂ y la formación de etilcarbamato y bioaminas. La reducción biológica del contenido de alcohol en bebidas fermentadas puede alcanzarse mediante la redirección del flujo de carbono, desde la formación de etanol hacia la producción de glicerol y ácido glucónico. A través de la sobre expresión de las isoenzimas endógenas glicerol-3-fosfato deshidrogenasas de *S. cerevisiae*, codificadas por *GPD1* y *GPD2*, junto con la expresión del transportador de glicerol codificado por *FPS1*, se ha alcanzado un significativo incremento en los niveles de glicerol acumulado extracelularmente y la consecuente disminución de etanol. También se han logrado disminuciones similares de etanol mediante la expresión del gen de la glucosa oxidasa (*GOX1*) de *Aspergillus niger* en *S. cerevisiae*.

Mejoramiento en la calidad sensorial del vino. El factor más importante en la elaboración de vinos es la calidad organoléptica (aparición, aroma y sabor) del producto final. La infinita variedad de sabores y aromas derivan de un complejo sistema de interacciones entre cientos de compuestos. El bouquet de un vino está determinado por una relación balanceada de compuestos y metabolitos agradables y la ausencia de los indeseables. Con la excepción de los terpenos en las variedades aromáticas y las alcoxipirazinas en los cultivares herbáceos, la percepción de aromas y sabores es el resultado de cantidades absolutas y de proporciones específicas de muchos de estos compuestos interactivos, más que atribuible al impacto de un compuesto individual. La sutil combinación de componentes traza (metabolitos secundarios acumulados), derivados de las uvas, usualmente recuerdan las notas características de sabor y aroma de los vinos. Por otra parte, los productos de la fermentación de levaduras (ésteres, alcoholes, etc.) contribuyen a los aromas y sabores genéricos de fondo como también a la complejidad e intensidad del aroma y sabor del producto final. Asimismo, las levaduras pueden ser responsables de la producción de metabolitos secundarios no deseados, como el sulfuro de hidrógeno.

Existe una necesidad obvia a desarrollar levaduras vínicas que puedan impartir al vino características específicas deseables (Tabla 2). Para tal fin, se ha progresado significativamente en la construcción de levaduras productoras de enzimas que liberan color y aromas (pectinasas, glucosidasas, glucanasas, arabinofuranosidasas, etc.) y modifican ésteres (alcohol acetil transferasas, esterasa, etc.). Es más, se han desarrollado levaduras productoras de concentraciones óptimas de glicerol (la sobre expresión de los genes *GPD1*, *GPD2* y *FPS1*, junto con la eliminación del gen de la acetaldehído deshidrogenasa *ALD6*), de compuestos con alcohol amílico (alcohol isobutílico, isoamílico, etc.) y de ácidos fenólicos (modificación de la expresión del gen para ácido fenilacrilico decarboxilasa *PADI*, como también la expresión de los genes bacterianos para ácido p-cumárico decarboxilasa *pdc* y ácido fenólico decarboxilasa *padc*). En adición, se han construido levaduras vínicas que llevan alelos fragmentados de adenosilfosfosulfato quinasa, *MET14*, o metionina sulfato reductasa, *MRX1*.

El ajuste biológico de la acidez en el vino puede alcanzarse mediante levaduras vínicas recombinantes que contengan combinaciones de genes clonados de *Schizosaccharomyces*

pombe y bacterias del ácido láctico. La levadura vínica que contiene el gen *mae1* de la malato permeasa y el gen *mae2* de la enzima málica, de *S. pombe*, convierte el ácido málico en etanol (fermentación maloetanólica). Paralelamente, una levadura que lleva el gen *mae1* junto con el gen de la enzima maloláctica *mleA* de *Oenococcus oeni*, *mleS* de *Lactococcus lactis* o *mleS* de *Lactobacillus delbrueckii*, transforma el ácido málico en láctico (fermentación maloláctica). Las levaduras vínica maloetanólicas se prefieren para vinos de bajos pH de regiones productoras frías, mientras que las levaduras malolácticas proporcionan una buena solución para vinos de pH elevado de regiones templadas. En el caso de vinos con pH elevado, la producción adicional de ácido láctico durante la fermentación puede alcanzarse mediante la incorporación del gen LDH de la láctico deshidrogenasa de *Lactobacillus casei*, en la cepa de levadura. Estas levaduras también evitan el empleo de bacterias malolácticas, formadoras de bioaminas, requeridas para ciertos vinos tintos y algunos estilos de vinos blancos que necesitan una fermentación maloláctica.

Reimpreso de TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, Vol. 20, 2002, pp. 426-432, Pretorius et al, "Meeting the Customer ..." y Vol. 20, 2002, pp. 472-478, Vivier et al, "Genetically Tailored Grapevines ..."

Copyright (2002), con permiso de Elsevier

Continuará ...

Tabla 2. Objetivos de la mejora genética de cepas de levaduras vínicas.

Propiedades deseables	Áreas localizadas	Ejemplo de potenciales genes objetivo
Mejoramiento del desarrollo de la fermentación		
Mejora en la elasticidad general y tolerancia al estrés	Respuesta al estrés, acumulación de esteroides, glucógeno y trehalosa	Modificación del metabolismo del glucógeno o trehalosa [Ej.: actuando sobre <i>GSY1</i> y <i>GSY2</i> (glucógeno sintetasa), <i>TPS1</i> (trehalosa-6-fosfato sintetasa), <i>TPS2</i> (trehalosa-6-fosfato fosfatasa)]
Mejora en la eficiencia en la utilización del azúcar	Transportadores de hexosas, hexoquinasas	Sobre expresión y modificación de <i>HXT1-HXT18</i> , <i>SNF3</i> , <i>FSY1</i> y uso transportadores heterogéneos y quinasas
Mejora en la eficiencia en la asimilación de nitrógeno	Mejora en la utilización de fuente de nitrógeno menos eficientes	Catabolismo de la prolina [<i>PUT1</i> (prolina oxidasa) y <i>PUT2</i> (pirrolina-5-carboxilato deshidrogenasa)] y uso de genes catabólicos heterogéneos
Mejora en la tolerancia al etanol	Formación de esterol, actividad ATPasa	Modificación de la expresión de <i>PMA1</i> y <i>PMA2</i> (ATPasa), genes anabólicos de esteroides
Aumento de la tolerancia a compuestos antimicrobianos	Resistencia a las toxinas killer, dióxido de azufre, agroquímicos	Inclusión de <i>KIL2</i> (zimocina y factores de inmunidad), sobre expresión de <i>CUP1</i> (quelante de cobre)
Reducción de la formación de espuma	Proteínas de la superficie celular	Eliminación de <i>FRO1</i> y <i>FRO2</i> (proteínas de espuma)
Mejoramiento de la eficiencia del proceso		
Mejora en la clarificación de proteínas	Proteasas	Sobre expresión de <i>PEP4</i> (proteasa A) y secreción de otras proteasas
Mejora en la clarificación de polisacáridos	Glucanasas, pectinasas, xilanasas, arabinofuranosidasas	Sobre expresión de <i>END1</i> (endoglucanasa), <i>EXG1</i> (exoglucanasa), <i>CEL1</i> (celodextrinasa), <i>BGL1</i> (β -glucosidasa, celobiasa), <i>PEL5</i> (pectato liasa) y <i>PEH1</i> (poligalacturonasa), <i>XYN1-5</i> (xilanasas), <i>ABF2</i> (arabinofuranosidasa)
Control de la sedimentación y floculación de las células	Floculinas	Expresión tardía de genes de floculación (<i>FLO1</i> , <i>FLO5</i> , <i>MUC1/FLO11</i>) bajo el control de promotores (<i>HSP30</i>)
Control de la flotación de células y la formación de flor	Proteínas hidrofóbicas de la pared celular	Expresión tardía de <i>MUC1/FLO11</i> bajo el control de promotores (<i>HSP30</i>)
Mejoramiento del control biológico de microorganismos alterantes		
Levaduras vínicas productoras de enzimas antimicrobianas	Lisozima, glucanasas, quitinasas	Expresión de <i>HELI</i> (lisozima del huevo blanco de gallina), <i>CTS1</i> (quitinasa), <i>EXG1</i> (exoglucanasa) y otras enzimas antimicrobianas
Levaduras vínicas productoras de péptidos antimicrobianos	Bacteriocinas	Expresión de <i>PED1</i> (pediocina), <i>LCA1</i> (leucocina) y otros genes heterogéneos de bacteriocinas y zimocinas
Levaduras vínicas productoras de anhídrido sulfuroso	Metabolismo del azufre y formación de SO ₂	Sobre expresión de MET14 (adenosilfosfosulfato quinasa) y MET16 (fosfoadenosilfosfosulfato reductasa), y eliminación de MET10 (sulfito reductasa)
Mejoramiento de la salubridad del vino		
Mejora en la producción de reveratrol	Síntesis de estilbeno	Expresión de <i>4CL9/216</i> (co-enzima A ligasa), <i>VST1</i> (estilbeno sintetasa)
Reducción en la formación de etilcarbamato	Metabolismo de aminoácidos, formación de urea	Eliminación de <i>CARI</i> (arginasa) o expresión de <i>URE1</i> (ureasa)
Reducción en la formación de aminas biogénicas	Enzimas bacteriolíticas, bacteriocinas	Expresión de <i>HELI</i> (lisozima del huevo blanco de gallina), <i>PED1</i> (pediocina), <i>LCA1</i> (leucocina) y otras bacteriocinas
Disminución de los niveles de alcohol	Flujo del carbono, metabolismo de glicerol y oxidación de la glucosa	Sobre expresión de <i>GPD1</i> y <i>GPD2</i> (glicerol-3-fosfato deshidrogenasa), modificación de <i>FPS1</i> (transportador de glicerol), expresión de <i>GOX1</i> (glucosa oxidasa)
Mejoramiento del aroma, sabor y otras características sensoriales		
Aumento en la liberación de terpenoides de la uva	Glicosidasas, glucanasas, arabinofuranosidasas	Sobre expresión de <i>END1</i> (endoglucanasa), <i>EXG1</i> (exoglucanasa), <i>CEL1</i> (celodextrinasa), <i>BGL1</i> (β -glucosidasa, celobiasa), <i>PEL5</i> (pectato liasa) y <i>PEH1</i> (poligalacturonasa), <i>ABF2</i> (arabinofuranosidasa)
Aumento en la producción de esteres volátiles deseables	Esterasas	Modificación de expresión de <i>ATF1</i> (alcohol acetil transferasa) y otras alcohol transferasas, <i>IAH1</i> (esterasa) y otras esterasas
Optimización en la producción de alcoholes amílicos	Metabolismo de aminoácidos	Eliminación de los genes <i>ILE</i> , <i>LEU</i> y <i>VAL</i>
Aumento en la producción de glicerol	Metabolismo del glicerol	Sobre expresión de <i>GPD1</i> y <i>GPD2</i> (glicerol-3-fosfato deshidrogenasa), <i>FPS1</i> (transportador de glicerol), y eliminación de <i>ALD6</i>
Ajuste biológico de la acidez del vino	Fermentación maloetanólica y maloláctica, producción de ácido láctico	Expresión de <i>MAE1</i> (malato permeasa), junto con <i>MAE2</i> (enzima málica) o <i>mleS</i> (enzima maloláctica), o <i>LDH1</i> (láctico deshidrogenasa)
Optimización de fenoles	Metabolismo de ácido fenólicos	Modificación de expresión de <i>PAD1</i> (ácido fenilacrilico decarboxilasa), <i>pac</i> (ácido p -cumárico decarboxilasa), <i>pacd</i> (ácido fenólico decarboxilasa)
Reducción en la producción de sulfito y sulfuro	Metabolismo del azufre, formación de sulfuro de hidrógeno	Eliminación de MET14 (adenosilfosfosulfato quinasa) y <i>MRX1</i> (metionina sulfato reductasa)