

I. Literárny prehľad

Ing. SOŇA MICHALČÁKOVÁ, Doc. Ing. ERNEST ŠTURDIK, CSC.

Katedra biochemickej technológie Chemickotechnologickej fakulty SVŠT, 812 37 Bratislava

Kľúčové slová: vínne kvasinky, šľachtenie priemyselných kmeňov kvasiniek, génové manipulácie u kvasiniek, tolerancia k etanolu, smrtiace vlastnosti, flokulácia, tvorba peny, produkcia metabolitov a SO_2 .

ÚVOD

Pre šľachtenie kvasiniek vrátane vínnych možno použiť spektrum klasických i moderných prístupov, akými sú selekcia klonov, mutagénna, sexuálna hybridizácia a sporulácia, parasexuálna hybridizácia, fúzia protoplastov a transformácia rekombinantov DNA. Klasické prístupy pri hľadaní vhodných typov vínnych kvasiniek umožňujú len zmenu vlastností, ktoré bunka už má. Z tohto dôvodu sa pozornosť orientuje skôr na získanie nových vlastností využitím fúzie kvasničných protoplastov a rekombinantných techník. Nasledujúci prehľad sumarizuje poznatky dosiahnuté v tomto smere.

1. Tolerancia k etanolu

Dôležitou vlastnosťou kmeňov používaných vo vinárstve a v liehovarníckom priemysle je tolerancia k etanolu. V definovaných podmienkach sa rôzne kmene vyznačujú rôznou schopnosťou znášať etanol a pre každý kmeň je táto vlastnosť reprodukovateľným fenoménom [1]. Do súčasnosti neboli identifikované alebo charakterizované gény, ktoré by bunke udeľovali vyššiu toleranciu k etanolu [2]. Komplexná povaha toxického účinku etanolu poukazuje na to, že mechanizmus etanolovej tolerancie si vyžaduje sériu génov. Komplikáciou je fakt, že schopnosť kvasiniek produkovať etanol je nezávislá od ich tolerancie k nemu. Najodolnejšie kvasinky neprodukujú etanol veľmi dobre a naopak, kmene senzitívne na etanol ho tvoria dobre. Získanie vysokej koncentrácie etanolu je obmedzené jeho inhibičným pôsobením na rast, fermentačnú aktivitu kvasiniek a ich vitalitu, ako aj koncentráciu substrátu, ktorá ovplyvňuje osmotický tlak. Produkciu etanolu možno zvýšiť prídavkom invertázy alebo dusíkatých zložiek do melasy, recykliáciou biomasy, imobilizáciou buniek alebo použitím flokulujúcich kmeňov [3].

Kvasinky rodu *Saccharomyces* sú všeobecne dosť odolné voči etanolu. Okrem individuálnej odolnosti kmeňa vplyva na túto vlastnosť koncentrácia redukujúcich sacharidov muštu. Pri nižšej koncentrácii je prekovasovacia schopnosť vyššia. Pri doliehovaní na 10 až 12 obj. % etanolu sa zistil jeho značný inhibičný účinok. Hraničná koncentrácia, pri ktorej sa prírodné kmene ešte rozmnožujú a kvasia, je 17 obj. %, pre väčšinu kmeňov je táto hranica menšia ako 14 obj. % [4]. V saké fermentácii sú schopné kvasinky *S. cerevisiae*, var. saké Kyokai No7 vytvoriť až 20 % etanolu. *Steinkraus* [5] použil pivovarské kvasinky *S. cerevisiae* vo fermentácii typu saké a zistil produkciu 25,6 % etanolu, čo je najvyššia hladina etanolu, ktorá bola v literatúre zaznamenaná pre rod *Saccharomyces*. Kmene so zvýšenou toleranciou k etanolu majú vyšší obsah nenasytených mastných kyselín, hlavne linolénovej. Tolerancia sa zvyšuje prídavkom ergosterolu a stigmasterolu do rastového média [6]. Kvasinky môžu produkovať 20–30 % alkoholu, ak rastú

simultánne s *Aspergillus oryzae*, ako v prípade saké fermentácie [7]. Proteolipidový komplex extrahovaný z *Aspergillus* po pridaní k bunkám zvyšuje etanolovú toleranciu. *Snow* [8] preto navrhuje klonovať gén pre príslušný proteolipidový komplex, vniesť ho do kvasiniek a tak získať etanoltolerantný fermentujúci kmeň. *Jiménez* a *Benítez* [3] otestovali toleranciu k etanolu a sacharidom a fermentačnú aktivitu u deviatich selektovaných kmeňov španielskych vínnych kvasiniek a zisťovali vplyv rôznych faktorov na zlepšenie fermentácie. Inhibícia rastu a fermentačnej rýchlosti sa prejavila pri koncentrácii etanolu nad 6 obj. % a 10 hmot. % glukózy a dosiahla 25–40 % pri 25 hmot. % glukózy.

Ismail a *Ali* [9] študovali meiotickú segregáciu etanolovej tolerancie v diploidnom kmeni *S. cerevisiae* po krížení haploidných buniek s rôznym stupňom tolerancie. Získané hybridy tolerovali vyššiu koncentráciu etanolu ako rodičovské bunky. Autori prvýkrát poskytli priamy dôkaz polygénovej regulácie tolerancie k etanolu. Genetickou analýzou kmeňov vínnych kvasiniek s vysokou toleranciou k etanolu ich výsledky potvrdili *Jiménez* a *Benítez* [10]. Etanoltolerantné kmene *S. oviformis* pripravil *Ali* *khanyan* a kol. [11] pôsobením UV žiarenia a dietylsulfátu. Mutanty boli schopné rásť pri koncentrácii 17,5 % etanolu, ktorá v porovnaní s toleranciou pôvodných divých kmeňov bola o 3,1 % väčšia. Mutanty súčasne produkovali vyššie množstvo aldehydov a acétátov (dôležité komponenty pre sherry fermentácie), pričom nespôsobovali negatívnu zmenu senzorických vlastností vína.

Fúziou protoplastov kmeňa *S. cerevisiae* s vysokou fermentačnou aktivitou a osmotolerantného kmeňa *S. mel-lis* získali *Legmann* a *Margalith* [12] hybrid, ktorý pri vyšších koncentráciách sacharidov (35 %) produkoval 13,6 % etanolu. Vysoká fermentačná aktivita hybridného kmeňa bola spôsobená nielen zvýšenou osmotoleranciou, ale aj zlepšenou schopnosťou vylučovať etanol z bunky. Fúziou protoplastov extrémne flokulujúceho kmeňa so slabou etanolovou toleranciou *S. cerevisiae* TJ1 a slabou flokulujúceho s vysokou toleranciou k etanolu *S. cerevisiae* N1 získali *Seki* a kol. [13] dobre flokulujúci hybrid produkujúci 12,4 % etanolu.

V roku 1983 boli publikované dve práce, v ktorých autori identifikovali genetické markery, ktoré by mohli determinovať etanolovú toleranciu u rodu *Saccharomyces*. V prvej [14] sa tolerancia divého kmeňa *S. cerevisiae* porovnávala s rovnakým kmeňom obsahujúcim pep 4.3 mutáciu, t.j. s deficienciou v 3 hlavných vakuolárnych proteázach. Pri 25 °C bola inhibícia rastovej rýchlosti 0 až 8 % etanolu rovnaká pre oba kmene. Pri 30 až 38 °C rovnaká koncentrácia etanolu výrazne inhibovala rast kmeňa s mutáciou. Autori sa domnievajú, že táto mutácia spôsobuje zrejme zmeny v kvasinkovej membráne. Kvasinky s takýmto membránami majú zníženú etanolovú toleranciu. Druhá práca [15] popisuje vzťah

medzi toleranciou k etanolu a indukciiu proteínov teplo-tným šokom („heat shock“). Ak sú kvasinky predinkubované 20 minút v etanole (1,55 mg/l), indukujú sa tieto proteíny prednostne pri 23 °C oproti normálne vyžadovanej teplote 36 až 41 °C. Prítomnosť etanolom indukovaných proteínov udeľuje bunkám vyššiu toleranciu k alkoholu. V 24 %-nom etanole bola po 36 hodinách vitalita kvasiniek 40 % v porovnaní s 0 % po 32 hodinách pre rovnaký kmeň bez spomínaných proteínov [16]. Kultúry kvasiniek s proteínmi indukovanými v neprítomnosti etanolu majú zvýšenú rezistenciu k strate vitality vplyvom etanolu. Bunka sa pravdepodobne po teplotnom šoku dostáva do dormantného stavu, v ktorom je schopná lepšie odolávať etanolom indukovanej strate vitality [17].

2. Smrtiace vlastnosti

Smrtiace (killer) vlastnosti kvasiniek sú dané ich schopnosťou produkovať extracelulárny proteínový alebo glykoproteínový toxín, ktorý usmrčuje iné citlivé kmene, v dôsledku čoho sa môže pri fermentácii eliminovať cudzia, nežiaduca kvasinková mikroflóra. Táto skutočnosť sa využíva v praxi pri selekcii a príprave nových produkčných kmeňov umožňujúcich znížiť nároky na mikrobiologickú čistotu pri súčasnom zvýšení biologickej stability výrobkov [18–21]. Smrtiaci fenotyp sa cytoplazmaticky dedí a je kontrolovaný jadrovými a cytoplazmatickými génmi. Killerové toxíny boli popísané u rodov *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida glabrata*, *Hansenula mrakii*, *Pichia kluyveri*, *Kluyveromyces lactis*. Existencia skupín s rozdielnou aktivitou a citlivosťou dokázali Young a Yagiu [22]. Jednotlivé skupiny sa líšia optimálnym pH, teplotou, stabilitou a citlivosťou voči proteolytickým enzýmom. Smrtiace vlastnosti môžu byť kódované ds RNA plazmidom (*S. cerevisiae*), ds DNA plazmidom (*Kluyveromyces*) [23], chromozomálnou DNA alebo inými, doteraz neidentifikovanými determinantami [24]. Killerové toxíny, ich charakter a mechanizmus účinku popísali súborne viacerí autori [25–27].

U kvasiniek rodu *Saccharomyces* je produkcia toxínu podmienená prítomnosťou dvoch druhov cytoplazmaticky lokalizovaných ds RNA plazmidov M a L. M ds RNA plazmid je kmeňovo špecifický, kóduje killerový toxín a tiež glykoproteín spôsobujúci imunitu hostiteľa k nemu. Má rôznu veľkosť (M1-1,9 kb, M2-1,7 kb, M3-1,5 kb) a je prítomný v smrtiacich kmeňoch typu K₁ až K₃. Medzi výnnymi kvasinkami bol nájdený štvrtý typ s veľkosťou M ds RNA 2,0 kb, ktorý usmrčuje K₁ a K₂ typy [26]. L ds RNA (4,7 kb) kóduje obalový proteín pre obidve formy ds RNA (L, M). Kmene môžu obsahovať L, L a M alebo žiadnu ds RNA. Prítomnosť samotného L ds RNA plazmidu v bunke ovplyvňuje udržiavanie M ds RNA, ale nemôže ovplyvniť fenotyp bunky [25].

Barre [29] sledoval pôsobenie smrtiaceho faktora na skladbu kvasinkovej populácie kvasiaceho hroznového muštu, kde vedľa seba existujú smrtiace a citlivé kmene. Ak sa v populácii kvasiniek nachádza kmeň so smrtiacim faktorom v množstve nad 2 %, vyradí tento úplne kmene kvasiniek citlivých k príslušnému toxínu. Táto skutočnosť je dôležitá pri zakvššaní čistým kmeňom kvasiniek, ak v prostredí pretrvávajú toxíny, hlavne pri sekundárnom kvasení.

Výskyt a rast killerových kvasiniek počas fermentácie muštu popísali Heard a Fleet [30]. Pri použití zmiešaného inokula smrtiacich a citlivých kvasiniek dochádza za 24 až 48 hodín k potlačeniu senzitivného kmeňa. Smrtiaca aktivita sa prejavuje aj pri pH 3,0 a 3,5 v rozsahu teplôt od 15 do 25 °C, ale v závislosti na pomere smrtiacich a citlivých buniek. Dominancia smrtiaceho kmeňa v zmiešanej fermentácii vedie k zmenám v produkcii etanolu, acetátu a glycerolu. Na nežiaduce kvasinky (*Kloeckera apiculata*) vyskytujúce sa v hroznovom mušte na začiatku fermentácie pôsobia kvasinky rodu *Kluyveromyces* [31].

Hybridizáciou výnných kvasiniek konvenčným spôsobom zaviedli v Japonsku smrtiace vlastnosti do priemyselných kmeňov [32]. Seki [33] pripravil nový kmeň cytodukciou killerového a priemyselného kmeňa výnných kvasiniek. Hara [34] vniesol killerový plazmid do kvasiniek, ktoré krížil s divým kmeňom izolovaným z kontaminácie saké zápar. Získal killerový hybrid produkujúci

júci vína kvalitou porovnateľné s rodičovskými kmeňmi. Ouchi a kol. [35] opísali metódu získavania smrtiacich kvasiniek u saké fermentácie bez zmeny jadrového genotypu.

3. Flokulácia

Flokulačná (aglutinačná) schopnosť kvasiniek, t.j. schopnosť buniek vytvárať zhluky a sedimentovať, je geneticky kontrolovaná [37]. Už prvé štúdie flokulujúcich kmeňov potvrdili, že aglutináciu v rôznych životných podmienkach determinujú tri dominantné a tri recesívne gény. Mechanizmus flokulácie kvasiniek a rozdiely flokuláčnych vlastností kmeňov *S. cerevisiae* a *S. uvarum* (carlsbergensis) sa pokúsil vysvetliť Stewart [37]. Agregácia buniek môže byť aktívna alebo pasívna. Pri pasívnej agregácii sa bunky po bunkovom delení neseďarujú (jav je známy ako refazanie kvasiniek). Aktívna agregácia vyžaduje stabilné zhluky ako výsledok náhodnej zrážky buniek. Flokulácia sa uskutočňuje mimo bunkového delenia a vyžaduje viazanie dvojmocných (obyčajne Ca²⁺) iónov s aniónovými skupinami na povrchu bunky. Významné rozdiely flokulujúcich a neflokulujúcich kmeňov boli zistené elektrónovou mikroskopiou. Povrch buniek flokulujúcich kultúr je pokrytý vrstvou vlásočnic, neflokulujúce bunky majú povrch hladký.

Flokulačný charakter rastu sa u mnohých kmeňov kvasiniek ruší alebo obmedzuje v prípade respiračnej deficiencie [38], u niektorých kmeňov môže v prípade „petite“ mutantov dôjsť naopak k zvýšeniu flokuláčnej schopnosti. Formaldehydom indukované respiračne deficitné mutanty majú zvýšenú flokuláčnú schopnosť a lepšie sedimentačné vlastnosti. Respiračne deficitné mutanty indukované etídiumbromidom u pôvodne flokulujúcich kmeňov s FLO 1 génom sú neflokulujúce alebo majú znížený stupeň flokulácie. Mitochondriálne mutanty s rezistenciou k antibiotikám silne flokulujúceho kmeňa *S. diastaticus* strácajú úplne alebo čiastočne flokuláčny charakter. Po krížení veľká časť segregantov, ktorá stratila rezistenciu k antibiotikám, získava opätovne flokuláčne vlastnosti. Kmene kvasiniek často strácajú schopnosť flokulovať. Suzzi a kol. [39] sledovali frekvenciu, stabilitu a expresiu flokulácie v diploidných kmeňoch výnných kvasiniek. Opakovane po troch rokoch podrobili genetickej analýze flokuláčne vlastnosti 30 kmeňov *Saccharomyces* po ich izolácii z vína. Zistili, že u homozygotných kmeňov je flokuláčná schopnosť stabilná. Nestabilita v expresii flokulácie u heterozygotných kmeňov je typická pre cytoplazmatickú dedičnosť.

De Figueroa a kol. [40] získali hybridizáciu neflokulujúceho haploidného komerčného kmeňa *S. cerevisiae* používaného v liehovarníctve so silne flokulujúcim kmeňom diploidný hybridný kmeň s extrémne flokuláčnymi vlastnosťami. Thornton [41] selekčnou hybridizáciou a spätným krížením získal z pôvodne „praškovitého“ kmeňa kvasiniek flokulujúci, s dobrými sedimentačnými vlastnosťami. Alikhanian a kol. [42] popísali selekciu kmeňov „Champagne“ s lepšimi sedimentačnými vlastnosťami po pôsobení X-lúčov, dietyl-sulfátu alebo ich kombinácie. Zambonelli a kol. [43] testovali flokuláciu 70 kmeňov výnných kvasiniek v polosyntetickej pôde a v mušte a zistili prítomnosť dvoch génov podmieňujúcich flokuláciu.

4. Tvorba peny

Tvorba peny počas fermentácie je neželaným znakom niektorých výnných kvasiniek. Neumožňuje plné využitie fermentačného tanku, a preto je potrebné rezervovať až do 25 % kapacity fermentačnej nádoby. Veľká časť buniek v peně sa viaže na steny a vrch fermentačného tanku, ďalšej fermentácie sa nezúčastňuje, alebo vytvorí vrstvy na povrchu. Preto sa z prírodných kmeňov izolovali kmene netvoriace penu.

Tvorba peny bola študovaná u kvasiniek saké fermentácie a je determinovaná FRO 1 a FRO 2 génmi. Fenotyp kvasiniek tvoriacich penu je kontrolovaný dvomi dominantnými génmi, ktoré ležia na tom istom chromozóme [44]. Eliminácia tejto schopnosti hybridizáciou poskytla dva kmene s vylepšenými vlastnosťami, ktoré netvorili penu. Ouki a Akiyama [45] získali selekčné kmene bez

schopnosti tvorí penu na základe bunkovej aglutinácie a metódou flotácie. Pri flotačnej metóde bunky pôvodného kmeňa tvoriace penu sa adherujú na bublinky CO_2 , ktorý vzniká počas fermentácie, nepeniace túto schopnosť nemajú. Selekcia na základe bunkovej aglutinácie využíva skutočnosť, že v kyslých roztokoch kvasinky sáke aglutinujú s baktériami *Lactobacillus*, kým nepeniace kvasinky túto schopnosť nemajú. *Eschenbruch a kol.* [46] popísali metódu získania vinných kvasiniek bez schopnosti tvorí penu na podobnom princípe, použitím selektívnej hybridizácie.

5. Tvorba sírnych zlúčenín a iných metabolitov

Veľký praktický význam má tvorba H_2S a SO_2 vinnými kvasinkami. SO_2 sa používa na dezinfekciu fermentačných zariadení, na ochranu vína pred neželanou oxidáciou, na kontrolu mikroorganizmov pôsobiacich počas fermentácie, chráni pred nežiadúcimi enzýmovými reakciami. V snahe zabrániť pridávaniu aditív do vína vystúpila do popredia schopnosť tvorby SO_2 samotnými kvasinkami. Kým SO_2 do určitej koncentrácie má pozitívny účinok, H_2S je neželaným metabolitom ovplyvňujúcim vôňu a chuť vína.

Tvorbu SO_2 a H_2S detailne popísal *Eschenbruch* [47]. Väčšina kvasiniek produkuje 10 až 30 mg/l SO_2 v porovnateľných podmienkach, niektoré kmene tvoria až 100 mg/l SO_2 . Prirodzenou selekciou získali kvasinky dobrú toleranciu k SO_2 [48]. SO_2 tolerancia je geneticky kontrolovaná a determinovaná. *Thornton* [49] potvrdil, že je kontrolovaná dominantnými polymérnymi génmi.

Väčšinu genetických prác týkajúcich sa produkcie SO_2 a H_2S uskutočnili *Zambonelli a kol.* [50]. Medzi kmeňmi kvasiniek sú výrazné rozdiely v rezistencii k SO_2 . Krížením rezistentného a senzitivného kmeňa získali rezistentný hybrid. Rezistenciu a senzitivitu segregovali v pomere 2:2 v askospórových klonoch. Zistila sa kontrola rezistencie jedným dominantným génom. Množstvo H_2S , ktoré produkuje rod *Saccharomyces* závisí od kmeňa a fermentačných podmienok. *Tauro a Rupela* [51] selektovali mutanty vylučujúce menšie množstvo H_2S . *Zambonelli a kol.* [52] sledovali frekvenciu výskytu kmeňov vinných kvasiniek, ktoré neprodukovali H_2S . Študovali biochemické mechanizmy a požiadavky na výživu podmieňujúce neschopnosť tvorí H_2S . Táto vlastnosť pozorovaná u 1 % sledovaných kmeňov je spojená s tvorbou siričitanov a zníženou aktivitou sulfireduktázy. Nový kmeň vinných kvasiniek získal *Romano a kol.* [53] konjugáciou spór. Metóda spočíva v krížení flokulujúceho a H_2S netvoriaceho kmeňa. Získal sa kmeň dobre flokulujúci, netvoriaci H_2S , produkujúci etanol vo vysokom výťažku dobrou fermentačnou rýchlosťou.

Jednotlivé kmene vinných kvasiniek majú rôznu schopnosť tvorí glycerol, ktorá je daná geneticky, pH, teplotou, koncentráciou sacharidov, aminokyselín, tiamínu a SO_2 . *Eustace a Thornton* [54] hybridizáciou a následnou selekciou získali dva kmene produkujúce 10 až 11 g glycerolu v l v porovnaní s 3 až 6,6 g glycerolu v l u pôvodného kmeňa. Táto schopnosť bola overená aj v prevádzkovom rozsahu. Hybridy mali nižšiu aktivitu glycerol-3-fosfátdehydrogenázy ako rodičovské kmene.

Kvasinky produkujú do vína rôzne estery, ktoré sú dôležitými zložkami sekundárneho buketu vína. *Wöhrman a Lange* [55] identifikovali vo vzorkách vinných kvasiniek zo 40 lokalít Európy štyri esterázové miesta. Všetky kmene mali aspoň dve aktívne miesta EST 1, EST 2. Významné zmeny chuti možno dosiahnuť použitím kmeňov kvasiniek nesúcich esterázové mutácie, ktoré redukujú, zvyšujú alebo menia rovnováhu medzi jednotlivými esterami.

Rous a kol. [56] dosiahli zníženie produkcie vyšších alkoholov pri fermentácii použitím leucín-auxotrofných mutantov.

Obsah acetátu vo víne je determinovaný kmeňom kvasiniek, fermentačnou a rastovou rýchlosťou, obsahom sacharidov, teplotou. Akumuláciu kyseliny octovej v kvasinkách stimuluje malé množstvo kyseliny nikotínovej. Zvýšená tvorba acetátu bola pozorovaná pri nedostatku inozitolu a kyseliny pantoténovej. V NSR bol selektovaný kmeň, ktorý produkuje v syntetickom médiu s pH < 3 alebo > 9 až 1,3 g/l kyseliny octovej [57].

ZÁVER

Z uskutočneného prehľadu je zrejmé, že šľachtenie vinných kvasiniek je smer v súčasnosti vo svete hodne rozvíjaný. V súvislosti so snahami o široké používanie čistých kultúr vinných kvasiniek sa javí vysoko aktuálnym aj v ČSSR. Naše pracovisko spolu s Ústavom biotechnológie SVŠT, Komplexným výskumným ústavom vinohradníckym a vinárskym a Výskumným ústavom potravinárskym v Bratislave ho preto zahrnuje do svojich výskumných programov. O dosiahnutých výsledkoch budeme referovať v ďalších číslach nášho časopisu.

Literatúra

- [1] KALMOKOFF, M., INGLEDEW, W. M.: J. Am. Soc. Brew. Chem., **43**, 1985, s. 189
- [2] D'AMORE, T., STEWART, G. G.: Enzyme Microb. Technol., **9**, 1987, s. 322
- [3] JIMÉNEZ, J., BENÍTEZ, T.: Appl. Microbiol. Biotechnol., **25**, 1986, s. 150
- [4] MINÁRIK, E., NAVARA, A.: Chémia a mikrobiológia vína, 1. vyd., Príroda Bratislava, 1986
- [5] STEINKRAUS, K. H. et al. in Bioconversion and Biochemical Engineering, Vol. 2 (Ghosh, T. ed.), New Delhi, 1981
- [6] THOMAS, D. S., ROSE, A. H.: Arch. Microbiol., **122**, 1979, s. 49
- [7] CASEY, G. P., INGLEDEW, W. M.: CRC Crit. Rev. Microbiol., **13**, 1986, s. 219
- [8] SNOW, R. in Yeast Genetics, Fundamental and Applied Aspects, (Spencer, J. F. T., Spencer, D. M., Smith, A. R. W., eds.), Springer-Verlag, New York, 1983
- [9] ISMAIL, A. A., ALI, A. M. M.: Folia Microbiol., **16**, 1971, s. 350
- [10] JIMÉNEZ, J., BENÍTEZ, T.: Curr. Genet., **12**, 1987, 421
- [11] ALIKHANYAN, S. I., NALBANDYAN, G. M., AVAKYAN, B. P.: Sov. Genet., **1**, 1971, s. 1287
- [12] LEGMANN, R., MARGALITH, P.: Appl. Microbiol. Biotechnol., **23**, 1986, s. 198
- [13] SEKI, T. et al.: Biotechnol. Lett., **5**, 1983, s. 351
- [14] SUGDEN, P. A., OLIVER, S. G.: Biotechnol. Lett., **5**, 1983, s. 419
- [15] PLESSET, J., PALM, C., McLAUGHLIN, C. S.: Biochem. Biophys. Res. Commun., **100**, 1982, s. 1340
- [16] WATSON, K., CAVICCHIOLI, R.: Biotechnol. Lett., **5**, 1983, s. 683
- [17] WATSON, K., DUNLOP, G., CAVICCHIOLI, R.: FEBS Lett., **172**, 1984, s. 299
- [18] VONDREJS, V., JANDEROVÁ, B., BENDOVIÁ, O.: Kvas. prům., **31**, 1985, s. 29
- [19] VONDREJS, V.: Microbiol. Sci., **4**, 1987, s. 313
- [20] PFEIFFER, P. et al.: Appl. Environ. Microbiol., **54**, 1988, 1068
- [21] POLONELLI, L., MORACE, G.: J. Clin. Microbiol., **25**, 1987, s. 460
- [22] YOUNG, T. W., YAGIU, M.: Ant. van Leeuwenhoek, **44**, 1978, s. 59
- [23] GUNGE, N.: Ann. Rev. Microbiol., **37**, 1983, s. 253
- [24] GUNGE, N.: Yeast, **2**, 1986, s. 153
- [25] TIPPER, D. J., BOSTIAN, K. A.: Microbiol. Rev., **48**, 1984, s. 125
- [26] BENDOVIÁ, O.: Folia Microbiol., **31**, 1986, s. 422
- [27] PHILLISKIRK, G., YOUNG, T. W.: Ant. van Leeuwenhoek, **41**, 1975, s. 147
- [28] EXTREMERA, A. L., MARTIN, I., MONTOYA, E.: Curr. Genet., **5**, 1982, s. 17
- [29] BARRE, P.: Bull. Off. Off. Int. Vigne Vin., **57**, 1985, s. 635
- [30] HEARD, G. M., FLEET, G. H.: Appl. Environ. Microbiol., **53**, 1987, s. 2171
- [31] ROSINI, G., CANTINI, M.: FEMS Microb. Lett., **4**, 1987, s. 81
- [32] OUCHI, K., AKIYAMA, H.: J. Ferment. Technol., **54**, 1976, s. 615
- [33] SEKI, T., CHOI, E. H., RYU, D.: Appl. Environ. Microbiol., **49**, 1985, s. 1211
- [34] HARA, S., HIMURA, Y., OTSUKA, K.: Am. J. Enol. Vitic., **31**, 1980, s. 28
- [35] OUCHI, K., NISHIYA, I., AKIYAMA, H.: J. Ferment. Technol., **61**, 1983, s. 631
- [36] RUSSELL, I. et al.: J. Inst. Brew., **86**, 1980, s. 120
- [37] STEWART, G. G.: Can. J. Microbiol., **27**, 1981, s. 973
- [38] SPENCER, J. F. T., MILLER, R., SPENCER, D. M. in Current Development in Yeast Research (Stewart, G. G., Russell, I., eds.), Pergamon Press, Toronto 1981, s. 33
- [39] SUZZI, G., ROMANO, P., ZAMBONELLI, C.: Can. J. Microbiol., **30**, 1984, s. 36
- [40] de FIGUEROA, L. I., de RICHARD, M. F., de van BROOCK, M. P.: Biotechnol. Lett., **6**, 1984, s. 171
- [41] THORNTON, R. J.: Am. J. Enol. Vitic., **36**, 1985, s. 47
- [42] ALIKHANYAN, S. I., NALBANDYAN, G. M., AVAKYAN, B. P.: Sov. Genet., **7**, 1972, s. 1452
- [43] ZAMBONELLI, C., GUERZONI, M. E., NANNI, M.: Revista Vitic. Enol., **26**, 1973, s. 104
- [44] THORNTON, R. J.: Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., **5**, 1978, s. 103
- [45] OUCHI, K., AKIYAMA, H.: Agric. Biol. Chem., **35**, 1971, s. 1024

- [46] ESCHENBRUCH, R. et al.: Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., **14**, 1982, s. 155
- [47] ESCHENBRUCH, R.: Am. J. Enol. Vitic., **25**, 1974, s. 157
- [48] ŠČERBAKOV, S. S., TSIBUDEEVA, D. T., KISHKOVSKII, Z. N.: Vinodel. Vinograd. SSSR, **5**, 1986, s. 45
- [49] THORNTON, R. J.: Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., **14**, 1982, s. 159
- [50] ZAMBONELLI, C., MUTINELLI, P., PACCHATTI, G.: Arch. Microbiol., **102**, 1975, s. 247
- [51] TAURO, P., RUPELA, O. P.: Proc. Vith Int. Ferm. Symp., London, Ontario, 1980, s. 84
- [52] ZAMBONELLI, C., SOLI, M. G., GUERRA, D.: Ann. Microbiol., **34**, 1984, s. 7
- [53] ROMANO, P. et al.: Appl. Env. Microbiol., **50**, 1985, s. 1064
- [54] EUSTACE, R., THORNTON, R. J.: Can. J. Microbiol., **33**, 1987, s. 112
- [55] WÖHRMANN, K., LANGE, P.: J. Inst. Brew., **86**, 1980, s. 174
- [56] ROUS, C. V., SNOW, R., KUNKEE, R. E.: J. Inst. Brew., **89**, 1983, s. 274
- [57] SUBDEN, R. E.: CRC Crit. Rev. Biotech., **5**, 1987, s. 49

Lektoroval doc. Ing. Fedor Malík, CSc.

Michalčáková, S. — Šturdík, E.: Šľachtenie vínnych kvasiniek. I. Literárny prehľad. Kvas. prům., **34**, 1988, č. 10, s. 293—296.

Článok zhŕňa poznatky týkajúce sa šľachtenia vínnych kvasiniek vzhľadom na technologicky žiadané vlastnosti, predovšetkým toleranciu k etanolu, flokuláciu, smrtiace vlastnosti, zníženú schopnosť tvoriť penu, produkciu želaných metabolitov a optimálny metabolizmus sírnych zlúčenín.

Михалчакова, С., — Штурдик, Э.: Генетические манипуляции винными дрожжами. I. Литературный обзор. Квас. прум., **34**, 1988, № 10, стр. 293—296.

Статья резюмирует сведения, касающиеся селекции винных дрожжей с отношением к технологически требуемым свойствам, прежде всего толерантности к этанолу, флокуляции, смертеносным свойствам, неспособности пенообразования, продукции требуемых метаболитов и оптимальному метаболизму серных соединений.

Michalčáková, S. — Šturdík, E.: Genetic Improvement of Wine Yeasts. I. Literature Review. Kvas. prům., **34**, 1988, No. 10, pp. 293—296.

The genetic improvement of wine yeast with respect to an achievement of the desired technological properties is described. The following properties are discussed: tolerance to ethanol, flocculation, killing properties, inability of foam formation, production of desired metabolites and optimum metabolism of sulphur compounds.

Michalčáková, S. — Šturdík, E.: Genetische Züchtung der Weinhefen. I. Literaturübersicht. Kvas. prům., **34**, 1988, Nr. 10, S. 293—296.

Der Artikel enthält Erkenntnisse und Erfahrungen aus der genetischen Züchtung der Weinhefen mit Hinsicht auf ihre technologisch geforderten Eigenschaften, vor allem Toleranz gegenüber Äthanol, Flokkulation, lethale Eigenschaften, Unfähigkeit zur Schaumbildung, Produktion erwünschter Metabolite und optimaler Metabolismus der Schwefelverbindungen.