

# EKOLÓGIA VÍNNYCH KVASINIEK

FEDOR MALÍK, ANNA VOLLEKOVÁ\*, VALTER VOLLEK

Chemickotechnologická fakulta STU, Bratislava

\* Slovenská postgraduálna akadémia medicíny, Bratislava

**Kľúčové slová:** ekológia, killerová aktivita, klasifikácia, vínne kvasinky

Pred viac ako sto rokmi vyslovuje Louis Pasteur hypotézu, že rôzne kmene kvasiniek sú zodpovedné za špecificky odlišný organoleptický charakter rôznych vín. Výskumy nasledujúcich desaťročí, potvrdzujúc genialitu zakladateľa vinárskej mikrobiológie, budujú základy vednej disciplíny zaoberajúcej sa zákonitostami života kvasiniek. Napriek skutočnosti, že ekológia vinných kvasiniek sa etabluje ako moderná veda, jej filozofia je založená na troch „dogmatických“ postulátoch.

Prvý postulát hovorí, že vínne kvasinky druhu *Saccharomyces cerevisiae* sú všadeprítomné v prírode. Nachádzajú sa predovšetkým v pôde viníc a sádov, prednostne na orgánoch *Vitis vinifera* L. Navyše každú mikroklimatickú lokalitu charakterizuje špecifická mikroflóra kvasiniek. Druhá „dogma“ vychádza z presvedčenia, že medzi zástupcami mikroflóry kvasiniek sa musia nevyhnutne nachádzať i excelentné kmene. To umožňuje vyhľadávať, izolovať, selektovať, charakterizovať a aplikovať tých najvýkonnejších zástupcov mikroflóry kvasiniek do vinárskej praxe a vyrábať tak vína najvyššej kvality. Tretí postulát hovorí, a to je skutočne dogmatické, že výroba hroznového vína je nepredstaviteľná bez kvasiniek rodu *Saccharomyces* [1].

## KVASINKY PRÍRODNÝCH STANOVÍŠŤ

Kvantitatívne a kvalitatívne zastúpenie kvasiniek a kvasinkovitých organizmov

v prírodných stanovištiach (pôda, orgány viniča, hrozno) je výsledkom dlhodobého procesu adaptácie pôdnym a klimatickým podmienkam pestovania viniča v jednotlivých regiónoch a lokalitách. Zloženie mikroflóry viniča ovplyvňujú aj agrotechnické a biologické zásahy pestovateľa [2].

Kvasinkovú flóru hrozna, muštu a rmutu tvorí pestrá paleta sporogénnych a asporogénnych kvasiniek. Súčasné taxonomické štúdie potvrdzujú existenciu okolo 500 druhov kvasiniek, z ktorých je však len 15-20 druhov použiteľných vo vinárskej praxi. Na počiatku spontánneho kvasenia možno zaznamenať dominanciu rodov *Kloeckera*, *Hanseniaspora* a druhov *Candida*, na ktoré vo fáze búrlivého kvasenia a dokvasovania nadväzujú populácie rodu *Saccharomyces* [3].

Podľa zastúpenia a frekvencie na hrozne a v mušte možno kvasinky prírodných stanovišť zadeliť do troch skupín. V prvej sú asporogénne druhy *Kl. apiculata* a *C. pulcherrima*. Tie zodpovedajú za začiatok spontánneho kvasenia, sú menej výkonné a po 2-3 dňoch sú eliminované vlastným metabolitom – etanolom. Sporogénne kvasinky druhu *S. cerevisiae* potláčajú v ďalšej fáze kvasenia nesporulujúce druhy, preberajú kvasnú iniciatívu a vďaka svojej etanoltolerancii zabezpečujú prekvasenie cukrov muštu.

Druhú skupinu tvoria kvasinky, ktorých frekvencia je síce druhoradá, avšak v niektorých vinohradníckych oblastiach môžu al-

koholové kvasenie výrazne ovplyvniť (*S. carlsbergensis* v tokajskej oblasti, *H. anomala* v okrajových vinohradníckych oblastiach) [4].

Tretiu skupinu tvoria kvasinky, ktoré sa v mikroflóre muštov vyskytujú len sporadicky, a preto nemajú technologický význam (*Rhodotorula*, *Cryptococcus*) [5].

Podiel vinných kvasiniek rodu *Saccharomyces*, zodpovedných za želateľný priebeh alkoholového kvasenia, je v čerstvo vylisovanom hroznovom mušte minoritný. Slabo kvasiace „divé“ rody *Kloeckera*, *Candida*, *Hansenula* a iné majú v mušte niekoľkonásobnú prevahu [6]. (Na jednom cm<sup>2</sup> bobule hrozna sa nachádza celkovo cca 5.10<sup>4</sup> blastokonidií, v jednom ml muštu 1 až 7.10<sup>5</sup> buniek kvasiniek.) Počas spontánneho kvasenia dochádza k významným zmenám v zložení kvasničnej biomasy. Podiel apikulátnej biomasy sa prudko znižuje a „ušľachtilé“ kvasinky preberajú kvasnú iniciatívu. Tieto pozitívne zmeny zloženia kvasinkovej flóry spontánneho kvasenia je možné ešte zosilniť aplikáciou oxidu siričitého. Apikulátna biomasa, citlivá na túto látku, je s iremím muštu z prostredia eliminovaná [7].

## KVASINKY DRUHOTNÝCH STANOVÍŠŤ

Kvasinkovú mikroflóru druhotných stanovišť (víno, zahustené mušty, vinárske zariadenia) možno rovnako zahrnúť do troch skupín. V prvej skupine sú druhy rodu *Saccharomyces*, ktoré nemožno považovať za



pravé kontaminanty, pretože sa zúčastňujú aj na spontánnom kvasení muštu. Vo vínach zodpovedajú za nežiaduce mikrobiologické zákaly a sekundárne dokvasenie vín so zvyškovým cukrom. Druhá skupina zahŕňa kvasinky s aeróbnym metabolizmom (*Candida*, *Pichia*, *Hansenula* sp.), ktoré sú zodpovedné najmä za birzovanie vín. Niektoré druhy rodu *Candida* (*vinii*, *zeylanoides*, *krusei*) sa na hrozne nevyskytujú, ale do vína sa dostávajú kontamináciou z uzáverov sudov, hadíc, ako aj zo stien a dlážok pivníc. V tretej skupine sú druhy asporogénnych rodov *Candida*, *Rhodotorula* a *Sporobolomyces*, ktoré nespôsobujú zákaly vína, avšak sú indikátorom hygienických pomerov v prevádzke. Boli izolované z vonkajších stien cisterien, ako aj z podláh a stien pivníc. *Candida stellata* bola však izolovaná i z primárnej lokality botrytídou napadnutého hrozna [8].

## KLASIFIKÁCIA VÍNNYCH KVASINIEK

Väčšina vínných kvasiniek prírodných i druhotných stanovišť patrí medzi rody s askomycetovou charakteristikou (tab. 1). Sú to jednak druhy teleomorfných rodov (askosporogénne, div. *Ascomycota*), alebo im zodpovedajúce anamorfné štádiá (div. *Deuteromycota*). So zástupcami bazídiomycetových kvasiniek sa stretávame v prostredí hroznového muštu a vína zriedkavejšie, ponajviac ako s kontaminantmi. S výnimkou niekoľkých jedincov nie sú schopné skvasovať sacharidy, druhy niektorých rodov sa však môžu podieľať pri tvorbe kožky (tab. 2).

### Familia *Saccharomycetaceae*

K priemyselne a vinársky najvýznamnejším patria rody a druhy sacharidy skvasujúcich a sedimentujúcich kvasiniek z čeľade *Saccharomycetaceae* a z nich najmä zástupcovia rodu *Saccharomyces*. Niekoľkonásobné premenovávajú a preradenie druhov v rode *Saccharomyces*, izolácia a opis nových, či vyradenie iných na základe novozistených odlišností je príčinou nejednotnej a nestabilnej nomenklatury v tomto vinársky najvýznamnejšom rode kvasiniek.

Yarrow už v roku 1984 do rodu *Saccharomyces* in sensu stricto zahrnul z pôvodných desiatok druhov iba sedem [9]. Sú to *S. unisporus*, *S. dairensis*, *S. servazzii*, *S. telluris*, *S. cerevisiae*, *S. kluyveri* a *S. exiguus*. Prvé tri druhy tvoria skupinu fyziologicky príbuzných druhov a sú vinársky nevýznamné. Boli izolované pri spracovaní mlieka, skvasujú glukózu a sčasti galaktózu i trehalózu. *S. telluris*, fyziologicky podobný predchádzajúcim druhom, bol na základe nálezu bradavičnatých askospór preradený do rodu *Arxiozyma* [10].

Teleomorfné aj anamorfné štádium tohto druhu (syn. *C. pintolopesii*, *C. bovina*, *C. slooffii*) možno izolovať z pôdy vinice alebo ňou kontaminovaných materiálov.

Z hľadiska fyziologického i morfológického je v poradí piaty druh *Saccharomyces cerevisiae* značne variabilný. Tisíciky jeho

izolátov sa odlišujú schopnosťou skvasovať niektoré sacharidy (najmä galaktózu, maltózu, rafinózu a trehalózu), tolerovať rôzne koncentrácie etanolu v prostredí, alebo schopnosťou produkovať asky, pseudomycélium či blastokonídiá rôznej veľkosti a ploidiie. Kocková-Kratochvilová [9] označuje *S. cerevisiae* ako „spoločný, združený“ druh a delí ho do dvoch podrodov – subspecies *cerevisiae* a subspecies *uvarum*. Jong et al. [10] pre druh *S. cerevisiae* uvádza viac ako sto synonym, pôvodne samostatných a navzájom ťažko odlišiteľných druhov a variet. K najvýznamnejším druhovým menám patria: *ellipsoideus*, *carlsbergensis*, *bayanus*, *heterogenicus*, *italicus*, *pastorianus*, *oviformis*, *beticus*, *cheresiensis*, *uvarum*, *vinii*. Na rozdiel od Yarrowa Jong et al. do druhu *S. cerevisiae* zaradil aj *S. kluyveri* (syn. *S. chevalieri*) a *S. exiguus* (syn. *S. capensis*).

I keď väčšinu pôvodných, prirodzených druhov a názvov „pohltil“ druh *S. cerevisiae*, v odbornej vinárskej literatúre sa i naďalej uvádza zaužívané názvoslovie, ktoré charakterizuje vinohradnícku oblasť, spôsob spracovania hrozna, či isté špecifické vlastnosti vyrobeného vína [14]. Tieto pôvodné, v jednotlivých závodoch i vinohradníckych oblastiach rokmi udržiavané izoláty možno označiť za biotypy *S. cerevisiae*, ktoré charakterizujú stabilné technologické vlastnosti.

Kvasinky druhu *Saccharomyces cerevisiae* sú v enológii kvasinkami „par excellence“ [15]. Vyznačujú sa oválnymi, elipsoidnými bunkami, ich spóry sú guľaté. Skvasujú glukózu, galaktózu, maltózu, sacharózu a do 1/3 i rafinózu. Všetky kmene sú výrazne glukofilné, nevyužívajú etanol a mnohé z nich majú výrazné etanolotolerantné a osmofilné vlastnosti. I z tohto dôvodu sa prednostne využívajú ako čisté kultúry vínných kvasiniek. Je mimoriadne vhodné využívať ich na účely dokvasovania, sekundárneho kvasenia, ako aj na účely inokulácie vysokocukorných muštov neskorých zberov a bobulových výberov. Vítané sú aj chemorezistentné vlastnosti týchto kultúr, ktoré umožňujú prekvášať mušty a vína s vyššou koncentráciou oxidu siričitého, či reziduí postrekových látok [16].

Do vinársky najrozšírenejšieho rodu *Saccharomyces* zaraďujeme i druh *S. carlsbergensis*. Čerstvé prírodné izoláty dobre sporulujú, zbierkové kmene spravidla nesporelujú. *S. carlsbergensis* netvorí pseudomycélium, je triploidný alebo aneuploidný, etanol nevyužíva a je schopný produkovať až 15–17 % obj. etanolu. Býva súčasťou kvasinkovej mikroflóry tokajských muštov a vín [4].

Kultúry *S. beticus* a *S. cheresiensis*, iniciujúce zošľachťovací proces výroby vín je-rezového typu, dnes jednotne začleňujeme do druhu *Saccharomyces cerevisiae* [5]. Ich činnosť v procese výroby vín „sous voile“ je nenahraditeľná. Oxidujú etanol na acetaldehyd, aldehyddehydrogenázou na kyselinu octovú, ktorá sa aktivuje na acetyl-CoA, ktorý prechádza do Krebsovho cyklu. Uhlík

alkoholu sa oxiduje na CO<sub>2</sub> a na konci dýchania sa vodík kyslíkom oxiduje na H<sub>2</sub>O. Syntetizovanou ATP sa získava energia na syntézu látok buniek. Počas sherryzácie sa neznižuje len koncentrácia prchavých kyselín (takmer na tretinu), ale kvasinky metabolizujú i glycerol vína, ktorý je v rovnováhe s glyceraldehydfosfátom. Glykolyzou môže degradácia pokračovať až na kyselinu pyrohroznovú, ktorú kvasinky môžu predýchať, prípadne z nej môžu vzniknúť i malé množstvá kyseliny mliečnej [17].

*Torulaspora (Saccharomyces) rosei* je známy druh, ktorý prešiel rôznymi rodovými pomenovaniami. Skvasuje glukózu, fruktózu, sacharózu a rafinózu do 1/3, nevyužíva etanol. V kvapalných prostrediach vytvára sediment a len neucelený prstenec. Prekvasovacia schopnosť je nízka (max. 10 % obj. alkoholu), pri kvasení muštu však produkuje minimálne množstvo prchavých kyselín (0,1–0,3 g.l<sup>-1</sup>). *S. rosei* je preto vhodným biokomponentom zmesných, najmä však združených kultúr kvasiniek [18].

Z vinárskeho hľadiska je zaujímavý i rod *Zygosaccharomyces*, rovnako patriaci do čeľade *Saccharomycetaceae*. Takmer všetky druhy rodu *Zygosaccharomyces* potrebujú v externom prostredí vitamíny a tolerujú vysoké koncentrácie sacharidov v prostredí. Druh *Zygosaccharomyces bailii*, jeden z najnebezpečnejších kontaminantov vína, je navyše výrazne chemorezistentný a fruktofilný druh. Kontaminujúce flašované vína, vytvára v nich jemný „prachový“ sediment či prstenec, ale nikdy nie kožku [19].

Kožkotvorné kvasinky čeľade *Saccharomycetaceae* majú vo vinárstve veľmi rozporné poslanie. Tieto askogénne kvasinky spravidla slabo kvasia a keďže sú aeróbne, rastú na povrchu vín a spôsobujú jeho ochorenie (birza). Kvasinky rodu *Brettanomyces* a *Dekkera* sa tvarom podobajú apikulárnym kvasinkám čeľade *Saccharomycodaceae*. Nefunguje v nich Pasteurov efekt, s čím vo veľkej miere súvisí zvýšená produkcia kyseliny octovej oxidáciou z acetaldehydu. Staršie práce jednoznačne úlohu kožkotvorných kvasiniek čeľade *Saccharomycetaceae* vo víne posudzujú negatívne. Zaznamenali sa poruchy kvasenia pri sherryzácii i výrobe šumivých vín. *Brettanomyces* inicioval zákaly v juhoafrických bielych vínach a bol pozorovaný vznik „myšiny“ už v hroznovom mušte. Metabolickú charakteristiku *Brettanomyces* opísal Veracher et al. [20]. Tieto kvasinky metabolizujú substrát až na hladinu 9–12 % obj. etanolu, produkujú prchavé kyseliny až do koncentrácie 6–7 ‰. Heresztyn [21] informuje o produkcii prchavých fenolických substancií (4-etylguajakol, 4-etylphenol), ktoré dodávajú vínu korenistú arómu. *Brettanomyces* je senzitivný na oxid siričitý (100 mg.l<sup>-1</sup> celkového SO<sub>2</sub>). *Brettanomyces* produkujúci zvýšené koncentrácie aromatických látok sa však v poslednom čase využíva i v procese kvasenia modrých rmutov. Eschenbruch a Wong [22] referujú o úspešnom použití zmesnej kultúry rodov *Brettanomyces*, *Kloeckera* a *Saccharomyces*



Tab. 1 Klasifikácia vinársky zaujímavých rodov kvasiniek s askomycétovou charakteristikou  
(upravené podľa: [9, 11, 12, 13])

Divisio ASCOMYCOTA Ordo Endomycetales (Saccharomycetales)	Divisio DEUTEROMYCOTA Ordo Cryptococcales	Niektoré charakteristické znaky a vlastnosti skupiny alebo rodu kvasiniek
Familia Saccharomycetaceae Genus Saccharomyces <i>Torulaspora</i> <i>Zygosaccharomyces</i>	Familia Ceroptococcaceae Genus Candida pro parte <i>Candida (Torulopsis)</i> nepomenovaný	I. skvasujúce, sedimentujúce, pučiace
<i>Debaryomyces</i> <i>Dekkera</i> <i>Hansenula</i> <i>Issatchenkia</i> <i>Pichia</i> <i>Saccharomycopsis</i> ( <i>Cyniclomyces</i> ) <i>Zygopichia (Pichia)</i> <i>Yarrowia</i>	<i>Candida</i> <i>Brettanomyces</i> <i>Candida</i> <i>Cnadida</i> <i>Candida</i> <i>Candida</i> pro parte	II. skvasujúce, kožkotvorné, pučiace
Familia Schizosaccharomycetaceae Genus Schizosaccharomyces	nepomenovaný	III. silne skvasujúce, kožku netvoriace, deliace sa priehradkami
Familia Saccharomycodaceae Genus Hanseniaspora <i>Saccharomyces</i>	<i>Kloeckera</i> nepomenovaný	IV. slaboskvasujúce, kožku netvoriace, bipolárne pučiace (apikulátne)
Familia Sporophthoraceae ( <i>Metschnikowiaceae</i> ) Genus Metschnikowia	<i>Candida</i>	V. slaboskvasujúce, kožku netvoriace, alebo variabilne, pučiace
<b>teleomorfné štádium</b>	<b>anamorfné štádium</b>	

Tab. 2 Klasifikácia bazidiomycetových kvasiniek muštu a vína  
(upravené podľa: [9, 11, 12, 13])

Divisio BASIDIOMYCOTA Ordo Ustilaginales	Divisio DEUTEROMYCOTA Ordo Cryptococcales	Niektoré charakteristické znaky a vlastnosti skupiny alebo rodu kvasiniek
Familia Filobasidiaceae Genus Filobasidium <i>Filobasidiella</i>	Familia Cryptococcaceae Genus Cryptococcus <i>Cryptococcus</i>	neskvasujúce, kožku netvoriace, pučiace
Familia Ustilaginaceae Genus Leucosporidium <i>Rhodospiridium</i>	Genus Candida <i>Rhodotorula</i>	neskvasujúce, kožku tvoria neskvasujúce, kožku netvoriace
Familia Sporobolomycetaceae Genus Sporidiobolus	Genus Sporobolomyces	neskvasujúce, kožku tvoria variabilne, balistospóry
<b>teleomorfné štádium</b>	<b>anamorfné štádium</b>	

pri výrobe odrodového vína Blauburger na Novom Zélande.

Kožkotvorné druhy rodu *Hansenula* sa vyskytujú na hrozne, v muštoch i vínach. Tvoria dobre vyvinuté pseudomycélium s chumáčovite usporiadanými blastospórmi. Spôsobujú obdobne ako *Pichia sp.* birzovatenie vína, na rozdiel od tohto rodu využívajú však ako jediný zdroj dusíka KNO<sub>3</sub> (štiepením eskulínu a arbutínu). Asimilujú široké spektrum cukrov, sú mierne glukofilné, tvoria max. 4–6 % obj. etanolu, ktorý napokon aj využívajú. *Hansenula anomala* je výrazným producentom esterov (700 mg.l<sup>-1</sup>) [23].

Druhy rodu *Pichia* sa u nás na primárnych i sekundárnych stanovištiach vyskytujú

zriedkavejšie. Zo slovenských a moravských lokalít sa izolovali druhy *P. vini*, *P. farinosa*, *P. fermentans* a *P. membranaefaciens* [4]. Všetky druhy tohto rodu spôsobujú birzovatenie vína, navzájom sa líšia schopnosťou skvasovať glukózu. *Pichia membranaefaciens* je značne tolerantná voči SO<sub>2</sub> [24], *Pichia farinosa* výrazne asimiluje etanol [25].

#### Familia Schizosaccharomycetaceae

Široká paleta druhov rodu *Schizosaccharomyces* sa zaraďuje do čeľade *Schizosaccharomycetaceae*. Druhy tohto rodu sa rozmnožujú priečnym delením valcovitých až sférických buniek. Askus sa vytvára somatickým spĺvaním vegetatívnych buniek. V asku sa nachádzajú 3–4 oválne až guľaté

hladké spóry. Druhy rodu *Schizosaccharomyces* pseudomycélium netvoria. Ich bunky sú bohaté na dehydrogenázy organických kyselín. Druh *Schizosaccharomyces pombe* Lindner (izolovaný už v r. 1783 Lindnerom z afrického prosového piva „pombe“) sa na orgánoch *Vitis vinifera* L. vyskytuje zriedkavo, avšak čisté kultúry tohto druhu sa úspešne využívajú v procese biologickej degradácie organických kyselín mladého vína. Na rozdiel od cesty bakteriálnej deacidifikácie metabolizujú však kyselinu jablčnú následnými dekarboxyláciami cez kyselinu pyrohroznovú a acetaldehyd na etanol. Aplikácia týchto kvasiniek vo vinárskej praxi si žiada odstránenie pôvodnej kvasinkovej mikroflóry mladého vína (pasterizáciou, zasiernením na 150 mg.l<sup>-1</sup> SO<sub>2</sub>), aplikáciu minimálne 5 % kvapalného zákvasu a zohriatie média na 25 °C. Nevýhodou použitia *Schizosaccharomyces pombe* je i pomerne dlhá technická generačná doba a možnosť tvorby monosulfánu. *Sch. pombe* má však osobitný detoxikačný mechanizmus proti ťažkým kovom (Cd, Zn, Cu). Ak sa populácia tohto druhu kvasinky vyskytuje v prostredí s toxickým účinkom týchto prvkov, indukuje syntézu dvoch peptidov, ktoré viažu ióny týchto kovov. Tieto peptidy neobsahujú aromatické aminokyseliny ani histidín, ale obsahujú veľa cysteínu [26].

V praxi bola odskúšaná i aplikácia druhov *Sch. acidodevoratus* a *Sch. mosquensis*. *Schizosaccharomyces acidodevoratus* taxonomicky určil už v roku 1964 Ditttrich. Rodriguez a Thornton [27] referujú o rýchlej deacidifikácii mladého vína mutantmi *Sch. malidevorans* s minimálnou utilizáciou glukózy. *Sch. malidevorans* sa morfológicky podobá *Sch. pombe*, avšak fyziologicky je odlišný (neskvasuje a ani neutilizuje maltozu oxidatívne).

#### Familia Saccharomycodaceae

Apikulátne kvasinky čeľade *Saccharomycodaceae* sa v enológii pozitívne technologicky nevyužívajú, avšak vedecký záujem o ne je enormný. Táto čeľaď zahŕňa jednobunkové kvasinky, ktoré pučia bipolárne. Väčšina skvasuje sacharidy, neasimiluje nitrát a v prostredí vyžaduje inozitol a pantothenát. Rod *Hanseniaspora* je sporogénny, rod *Kloeckera* asporogénny. U nás najfrekvencovanejší druh *Kloeckera apiculata* tvorí dominantný podiel „divej“ kvasinkovej mikroflóry zrelého hrozna a zodpovedá tak za začiatok spontánneho alkoholového kvasenia [28]. Neskvasujú sacharózu, produkujú vyššie koncentrácie glycerolu z prchavých kyselín a mastných kyselín, čo na začiatku fermentácie môže spôsobiť i poruchy kvasenia [29]. Zastúpenie oboch rodov závisí od geografického polohy vinice. V severných vinohradníckych regiónoch je dominantný rod *Kloeckera*, v južných zase prevláda rod *Hanseniaspora*. Kinetikou rastu druhov oboch rodov sa zaoberala celá plejáda autorov, poukazujúc na ich dominantnosť v spontánnej mikroflóre muštu [25]. U druhu *Kloeckera apiculata* bola na-



príklad potvrdená signifikantná produkcia extracelulárnej proteázy [30]. Zastúpenie ostatných rodov čeľade *Saccharomycodaceae* na primárnych i sekundárnych stanovištiach je nevýznamné.

## KILLEROVÁ AKTIVITA KVASINIEK

Už v roku 1953 poukazuje Schulle na účinnosť „antibiózy“ apikulátnych kvasiniek voči populácii *S. cerevisiae*. Killerová aktivita rodov *Kloeckera* a *Hanseniaspora* bola však opísaná až omnoho rokov neskôr [31]. Týmto účinkom apikulátnych kvasiniek na ušľachtilú biomasu sa zaoberalo doposiaľ niekoľko autorov [32].

V poslednom desaťročí boli z primárnych i druhotných stanovišť izolované stovky kmeňov s killerovými vlastnosťami [33]. Killer faktory (zymocíny) sú glykoproteíny alebo proteíny produkované tzv. smrtiacimi kvasinkami, ktoré usmrcujú bunky rovnakých či príbuzných rodov a druhov [34]. Spravidla rezistentné sú však k vlastnému killerovému faktoru. Po prvýkrát bola smrtiaca reakcia opísaná v kvasinkách *S. cerevisiae* v oxfordskej genetickej zbierke [35]. Kmene produkujúce zymocíny boli izolované z rôznych prírodných stanovišť a išlo o ušľachtilé ako aj o divé rody a druhy kvasiniek [36]. Okrem rodu *Saccharomyces* patrí do skupiny okolo dvoch desiatok rôznych rodov – producentov killeru – *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Candida*, *Rhodotorula* a *Debaryomyces*. Toxíny rodov *Pichia* a *Candida* preukazujú oveľa slabší toxický účinok ako toxíny väčšiny kmeňov *Saccharomyces*. Killerové kvasinky boli však izolované i zo sekundárnych stanovišť, kde boli označené za pôvodcov porúch fermentačného procesu.

Killerové toxíny kmeňov rodu *Saccharomyces* majú molekulovú hmotnosť okolo 16 000 a ich aktivita je najvyššia v rozpätí pH 3,8–4,2 a pri teplote 22–24 °C. Pri nižšom pH a vyššej teplote strácajú smrtiace bunky svoju aktivitu. V súvislosti so smrtiacim fenoménom bola dokázaná existencia troch fenotypov kvasiniek: killerového, neutrálneho a citlivého. Produkcia smrtiaceho faktora sa označuje K<sup>+</sup> a rezistencia k nemu R<sup>+</sup>, fenotyp killerových kvasiniek K<sup>+</sup>R<sup>+</sup>. Kmene citlivé na smrtiace kvasinky a zároveň nevykazujúce killer charakter (K<sup>-</sup>R<sup>-</sup>) sú pôsobením smrtiaceho faktora v krátkom čase usmrtené. Neutrálne kmene K<sup>-</sup>R<sup>+</sup> ani neusmrcujú, ani nie sú citlivé na killerový faktor [37].

## LITERATÚRA

- [1] MARTINI, A., MARTINI, A.V.: Grape must fermentation: past and present. In: Yeasts Technology. Ed. J.F.T. Spencer and D.M. Spencer, Springer Verlag, Berlin, 1990, s.105.
- [2] VIVIANI-NAUER, A., et al.: Obst. Weinb. **131**, 1995, s. 390.
- [3] FLEET, G.H.: The microorganism of wine-making – isolation, enumeration and identification. In: Wine microbiology and biotechnology. Ed. Graham H. Fleet. Harwood Academic Publishers Chur, 1993, s. 1.
- [4] MINÁRIK, E., NAVARA, A.: Chémia a mikrobiológia vína. Príroda, Bratislava, 1986.
- [5] BARNETT, J. A., PAYNE, R. W., YARROW, D.: Yeasts, characteristics and identification. Cambridge University Press, Cambridge, 1990.
- [6] KREGER-VAN RIJ, N.: Classification of yeasts. In: The Yeasts, Vol. 1. Ed. A.H. Rose and J. S. Harrison, Academic Press, London, 1987, s. 5.
- [7] TROOST, G.: Technologie des Weines. Verlag E. Ulmer, Stuttgart, 1988, s. 128.
- [8] JUNGOVÁ, O., MINÁRIK, E.: Mitt. Klostern. **36**, 1986, s. 67.
- [9] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A.: Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov. Alfa, Bratislava, 1990.
- [10] JONG, S.C., BIRMINGHAM, J.M., GUOZHONG, M.: Stedman's ATCC Fungus Names. Williams et Wilkins, Baltimore, 1993, s. 253.
- [11] LODDER, J.: The Yeasts; a taxonomic Study. 2. Ed. North-Holl. Publ. Comp. Amsterdam, London, 1970.
- [12] KREGER-VAN RIJ, N.J.W.: The Yeasts; a taxonomic Study. 3. Ed. Elsevier Science Publ., Amsterdam, 1984.
- [13] DE HOOG, G.S., GUARRO, J.: Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor Schimmcultures, Universitat Rovira i Virgili, 1995, s. 720.
- [14] DITTRICH, H.H.: Mikrobiologie des Weines. Verlag E. Ulmer, Stuttgart, 1987.
- [15] RIBÉREAU-GAYON, J., PEYNAUD, E.: Traité d'oenologie. Lib. Polytechnique Béanger, Paris, 1960.
- [16] HEARD, G.M., FLEET, G.H.: Austr. N. Zeal. Wine Ind. J. **3**, 1988, s. 57.
- [17] AMERINE, M.A.: The technology of wine making. 4th Ed. Avi Publ. Comp. Westport, Conn., 1982, s. 391.
- [18] MINÁRIK, E., ŠESTINOVÁ, O.: Kvasny Prum. **28**, 1982, s. 206.
- [19] MINÁRIK, E.: Vinohrad **25**, 1987, s. 20.
- [20] VERACHTER, H., KUMARA, S., DAWOND, E.: Yeasts in mixed cultures wine special emphasis on lambic beer brewing. In: Yeasts Biotechnology and Biocatalysis. Eds. H. Verachter and R. De Mot. Marcel Dekker, New York, 1990, s.429.
- [21] HERESZTYN, T.: Am. J. Enol. Viticult. **37**, 1986, s. 127.
- [22] ESCHENBRUCH, R., WONG, M.: The use of Brettanomyces and apiculate yeasts in red-wine making. In: 10th International Oenological Symposium Montreaux, 1993, s. 268-275.
- [23] SPONHOLZ, W. R.: Wine spoilage by microorganisms. In: Wine microbiology and biotechnology. Ed. Graham H. Fleet. Harwood Academic Publishers Chur, 1993, s. 395.
- [24] ROMANO, P., SUZZI, G.: Sulfur dioxide and wine microorganisms. In: Wine microbiology and biotechnology. Ed. Graham H. Fleet. Harwood Academic Publishers Chur, 1993, s. 378.
- [25] SPONHOLZ, W.R., DITTRICH, H.H., HAN, K., 1990: Vitis **45**, 1990, s. 65.
- [26] RADLER, F.: Yeasts-metabolism of organic acids. In: Wine microbiology and biotechnology. Ed. Graham H. Fleet. Harwood Academic Publishers Chur, 1993, s. 165.
- [27] RODRIQUEZ, S., THORNTON, R.: Rapid utilization of malic acid by a mutant of *Schizosaccharomyces malidevorans*. In: Proceeding of the Second Cool Climate Viticulture and Oenology Symposium. New Zealand, 1988, s. 313.
- [28] VOJTEKOVÁ, G., MINÁRIK, E.: Mitt. Klostern. **35**, 1985, s.82.
- [29] HERRAIZ, T. et al.: Am. J. Enol. Viticult. **41**, 1990, s. 313.
- [30] LAGACE, L.S., BISSON, L.F.: Am. J. Enol. Viticult. **41**, 1990, s. 147.
- [31] PHILLISKIRK, G., YOUNG, T.W.: Antonie van Leeuwenhoek **41**, 1975, s.147.
- [32] RADLER, F., SCHMITT, M. J., MEYER, B.: Arch. Mikrobiol. **154**, 1990, s.175.
- [33] MICHALČÁKOVÁ, S., MALÍK, F.: Aplikácia smrtiacich kvasiniek vo vinárstve. Vinohrad **29**, 1991, s. 154.
- [34] MICHALČÁKOVÁ, S., et al.: Wein-Wiss. **46**, 1991, s. 123.
- [35] BEVAN, E. A., MAKOVER, M.: The physiological basic of the killer character in yeasts. In: Proceedings of the Eleventh International Congress of Genetics, Hague, 1963, s. 202.
- [36] MARÁZ, A., et al.: Development of killer yeast population during Tokaj wine fermentation. Book of Abstract. Food Micro '96. Budapest, 1996, 2/P17, 105.
- [37] CIOLFI, G.: Riv. Viticult. Enol. **38**, 1985, s. 242.

Lektorovala:

prof. ing. Kateřina Demnerová, CSc.  
Do redakcie došlo 1. 12. 1998