

VPLYV MEĎNATÝCH IÓNOV NA DIVERZITU KVASINIEK ASOCIOVANÝCH S HROZONOM A MUŠTOM

KORNÉLIA NEMCOVÁ^a, EMÍLIA BREIEROVÁ^a
a EMA PAULOVICOVÁ^b

Chemický ústav – Centrum Glykomiky SAV, ^aOddelenie Zbierky kultúr kvasiniek, ^bOddelenie imunochémie glykokonjugátov, Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava
kornelia.nemcova@savba.sk, emilia.breierova@savba.sk, ema.paulovicova@savba.sk

Došlo 17.7.14, prijaté 3.9.14.

Kľúčové slová: autochtónne kvasinky, hrozno, meďnaté ióny, rastová rýchlosť

Úvod

Autochtónne kmene kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov asociovaných s prostredím vinohradu môžu svojou metabolickou aktivitou zabezpečiť jedinečné organoleptické vlastnosti regionálnych vín^{1–3}. Nezávisle na vinohradníckej oblasti, v čerstvo vylisovanom mušte sa vyskytujú askomycetické a bazidiomycetické druhy rodov kvasiniek pochádzajúcich z hrozna, *Hanseniaspora*, *Candida*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, *Sporidiobolus*, *Rhodospiridium* a kvasinkovitý mikroorganizmus *Aureobasidium pullulans*. V počiatočnej fáze spontánnej alkoholovej fermentácie prevládajú apikulátne kvasinky spolu so slabokvasiacimi druhmi, ktoré sú postupne nahradené etanoltolerantnými kmeňmi druhu *S. cerevisiae*^{1,4}.

Viacero faktorov ovplyvňuje množstvo a zastúpenie kvasinkových druhov na hrozne v čase dozrievania a zberu úrody a následne v mušte na začiatku alkoholovej fermentácie^{1,4,5}. Kľúčovú úlohu hrá použitie pesticídov a fungicídov na ochranu viniča^{6,7}. V rámci novej environmentálnej ochrannej stratégie založenej na redukcii zvlášť nebezpečných xenobiótik sa zvyšuje požiadavka na používanie medi vo forme $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ a oxychloridu meďnatého⁸ ako náhrady, a to predovšetkým v biologickej produkcii, čo je predmetom viacerých štúdií^{9,10}. To však môže vyvolať hromadenie tohto prvku nielen vo víne, ale aj v pôde a okolitom životnom prostredí^{11,12}.

Meď ako esenciálny stopový prvok pre mnohé organizmy má veľmi úzky rozsah optimálnej koncentrácie, nad ktorou sa prejavuje jeho inhibičný účinok¹³. Vyššia, než optimálna hladina medi inhibuje kvasinkové bunky kvôli rýchlejšej strate bunkových iónov draslíka, čo spôsobuje na-

rušenie integrity plazmatickej membrány a následne bunkovú smrť¹⁴. Dôležitý podiel toxicity medi pochádza z jej schopnosti prijímať a odovzdávať elektróny pri zmene oxidačného stavu. Tým vznikajú veľmi reaktívne radikálové ióny, ako napríklad hydroxylový radikál (oxidačný stres). Vyššie koncentrácie medi v mušte môžu mať toxický účinok na rast a fermentačnú aktivitu kvasiniek, u ktorých bol rozvinutý ochranný mechanizmus. Kvasinky odpovedajú na zvýšenú koncentráciu medi v mušte niekoľkými spôsobmi, vrátane vstupu cez bunkovú membránu, biosorpciou na bunkovej stene a v extracelulárnych glykoproteínoch a tiež zrážacími, komplexotvornými a oxidačno-redukčnými reakciami. Absorpcia medi bola pozorovaná v počiatočnej fáze kinetiky rastu, kedy je meď adsorbovaná na membrány kvasiniek¹⁵. Prebytok medi v mušte môže byť odstránený pomocou kvasiniek, ktoré sú schopné sorbovať meď na povrch a do buniek a tak ju odstrániť z fermentujúceho muštu¹⁶.

Cieľom tejto štúdie bolo zistiť, ktoré kvasinkové druhy vyskytujúce sa na bobuliach v čase zberu a v kvasiacom mušte troch rôznych odrôd hrozna môžu byť eliminované vyššími koncentraciami medi, prípadne, ktoré druhy by mohli byť potenciálnymi absorbentami prebytočných koncentrácií meďnatých iónov v mušte.

Experimentálna časť

Použitie kmene

Kvasinkové kmene boli izolované z hroznových (*Vitis vinifera* L.) bobúľ (zdravých a kontaktne porušených), stopiek (spájajú bobule so stonkou) a z muštu po prvom a siedmom dni spontánneho kvasenia troch odrôd (Veltlín zelený, Frankovka modrá a Sauvignon blanc) počas štyroch zberových období (2008–2011). Pôvod použitých kmeňov kvasiniek je uvedený v tab. I. Jednotlivé izoláty po prečistení boli identifikované na základe morfológických, fyziologických vlastností a tiež sekvenovaním D1/D2 oblasti 26S rRNA génu¹⁷. Všetky kmene boli uchovávané na šikmom sladínovom agare pri teplote 5 °C.

Rastové médium

Kultivačné médium na dusíkovej báze YNB (Difco) s glukózou (1 %) bolo použité ako rastové médium. 10 µl kvasinkovej kultúry ($1 \cdot 10^7$ buniek/ml) bolo postupne očkované do rastového média s prídavkom chloridu meďnatého (0,1 M $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) do výslednej koncentrácie 0,5; 1,0; 1,5; 3,0 mM Cu^{2+} a bez prídania meďnatých iónov (0 mM Cu^{2+}) do konečného objemu 250 µl.

Incubácia prebiehala na trepačke pri 350 otáčkach/min (PST-60 HL Plus Thermoshaker, Boeco, Germany) na mikrotitračných platničkách (The Microplate Immulon 4HBX, Dynex Technologies, USA) pri 22 °C. Rast vybraných kvasinkových kmeňov v mikrotitračných platničkách bol monitorovaný meraním absorbancie (OD) pri vlnovej dĺžke 630 nm na čítači mikrotitračných platničiek (MRX

Tabuľka I
Pôvod a rok jednotlivých izolovaných kmeňov kvasiniek

Druh	Kmeň	Pôvod ^a	Rok
<i>Aureobasidium pullulans</i>	1208	F, st	2008
<i>Aureobasidium pullulans</i>	1609	F, b2	2009
<i>Aureobasidium pullulans</i>	1510	F, st	2010
<i>Candida californica</i>	1711	F, m1	2011
<i>Candida oleophila</i>	0108	F, st	2008
<i>Cryptococcus magnus</i>	0409	V, st	2009
<i>Cryptococcus magnus</i>	1011	F, b1	2011
<i>Filobasidium elegans</i>	0811	S, m1	2011
<i>Filobasidium elegans</i>	0911	V, m1	2011
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	1608	F, m1	2008
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	2009	F, m7	2009
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	0610	S, st	2010
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	0311	F, m7	2011
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	2308	F, b1	2008
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	1809	F, st	2009
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	0710	V, b1	2010
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	1210	V, b2	2010
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	1411	F, m7	2011
<i>Pichia kluyveri</i>	1808	V, m1	2008
<i>Pichia kluyveri</i>	1110	V, b2	2010
<i>Pichia kudriavzevii</i>	1908	V, b1	2008
<i>Pichia kudriavzevii</i>	0709	V, m7	2009
<i>Pichia terricola</i>	2108	V, m7	2008
<i>Rhodotorula bacarum</i>	1811	S, b1	2011
<i>Rhodotorula glutinis</i>	0808	S, b2	2008
<i>Rhodotorula glutinis</i>	0908	S, b1	2008
<i>Rhodotorula minuta</i>	0510	S, m1	2010
<i>Rhodotorula nothofagi</i>	1409	V, st	2009
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1708	V, b2	2008
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2708	V, m7	2008
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0809	V, m7	2009
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1311	S, m7	2011
<i>Saccharomycopsis crataegensis</i>	2408	F, b1	2008
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	0708	S, b2	2008
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	0210	S, b2	2010
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	0711	F, st	2011

^a F – Frankovka modrá, S – Sauvignon, V – Veltlín zelený, b1 – zdravá bobuľa, b2 – poškodená bobuľa, st – stopka, m1 – mušt po 24 h alkoholového kvasenia, m7 – mušt po siedmom dni alkoholového kvasenia

II, Dynex, USA) na začiatku rastu (0 h) a po 24, 48 a 72 hodinách.

Výpočet rastovej rýchlosti

Špecifická rastová rýchlosť (μ) bola počítaná ako podiel rozdielu absorbancie (OD) a času (t) po začiatok

Tabuľka II

Vplyv rôznych koncentrácií Cu^{2+} na špecifickú rastovú rýchlosť kvasinkových kmeňov asociovaných s hroznom a muštom. Údaje reprezentujú priemer troch meraní s priemernou smerodajnou odchýlkou \pm SD

Kmeň kvasinky	Špecifická rastová rýchlosť μ [10^{-3} h^{-1}]				
	0 mM	0,5 mM	1 mM	1,5 mM	3 mM
<i>A. pullulans</i> 1208	10,34 \pm 1,09	8,32 \pm 0,12	2,45 \pm 0,02	0,92 \pm 0,05	0
<i>A. pullulans</i> 1609	13,56 \pm 0,64	10,25 \pm 0,52	2,17 \pm 0,01	0,83 \pm 0,07	0
<i>A. pullulans</i> 1510	12,61 \pm 0,63	11,54 \pm 0,45	2,49 \pm 0,07	0,85 \pm 0,06	0
<i>C. californica</i> 1711	18,33 \pm 0,78	0,70 \pm 0,06	0,20 \pm 0,01	0	0
<i>C. oleophila</i> 0108	17,93 \pm 0,82	10,71 \pm 0,52	4,20 \pm 0,11	2,79 \pm 0,14	1,59 \pm 0,09
<i>Cr. magnus</i> 0409	12,42 \pm 0,58	5,07 \pm 0,20	0,41 \pm 0,03	0,27 \pm 0,03	0
<i>Cr. magnus</i> 1011	8,83 \pm 0,42	4,71 \pm 0,30	3,55 \pm 0,12	2,51 \pm 0,11	0,84 \pm 0,08
<i>F. elegans</i> 0811	6,84 \pm 0,32	0,40 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02	0	0
<i>F. elegans</i> 0911	7,15 \pm 0,34	0,80 \pm 0,06	0,13 \pm 0,02	0,17 \pm 0,01	0
<i>H. uvarum</i> 1608	8,79 \pm 0,41	0,80 \pm 0,07	0,40 \pm 0,02	0	0
<i>H. uvarum</i> 2009	7,15 \pm 0,31	0,62 \pm 0,05	0,55 \pm 0,02	0	0
<i>H. uvarum</i> 0610	8,25 \pm 0,43	0,95 \pm 0,01	0,42 \pm 0,01	0	0
<i>H. uvarum</i> 0311	13,44 \pm 0,58	0,55 \pm 0,04	0,53 \pm 0,02	0,4 \pm 0,09	0
<i>M. pulcherrima</i> 2308	16,53 \pm 0,78	15,26 \pm 0,71	9,31 \pm 0,31	0,72 \pm 0,12	
<i>M. pulcherrima</i> 1809	17,51 \pm 0,83	17,22 \pm 0,86	2,99 \pm 0,14	0,12 \pm 0,05	0
<i>M. pulcherrima</i> 0710	11,07 \pm 0,54	10,03 \pm 0,01	4,31 \pm 0,13	0,98 \pm 0,24	0
<i>M. pulcherrima</i> 1210	17,36 \pm 0,82	13,71 \pm 0,56	6,83 \pm 0,31	1,14 \pm 0,01	0
<i>M. pulcherrima</i> 1411	18,03 \pm 0,89	12,42 \pm 0,58	4,38 \pm 0,20	0,57 \pm 0,11	0
<i>P. kluyveri</i> 1808	13,36 \pm 0,64	0,5 \pm 0,02	0,36 \pm 0,07	0,25 \pm 0,01	0
<i>P. kluyveri</i> 1110	17,93 \pm 0,83	0,50 \pm 0,02	0,20 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	0
<i>P. kudriavzevii</i> 1908	14,29 \pm 0,72	0,20 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	0
<i>P. kudriavzevii</i> 0709	13,36 \pm 0,64	0,95 \pm 0,07	0,28 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0
<i>P. terricola</i> 2108	16,92 \pm 0,81	3,49 \pm 0,08	0,14 \pm 0,01	0	0
<i>R. bacarum</i> 1811	3,06 \pm 0,12	0,04 \pm 0,01	0	0	0
<i>R. glutinis</i> 0808	11,11 \pm 0,58	0,74 \pm 0,03	0,03 \pm 0,01	0	0
<i>R. glutinis</i> 0908	18,06 \pm 0,87	13,68 \pm 0,67	0,05 \pm 0,01	0	0
<i>R. minuta</i> 0510	15,15 \pm 0,74	9,04 \pm 0,42	1,46 \pm 0,01	1,32 \pm 0,03	1,31 \pm 0,05
<i>R. nothofagi</i> 1409	13,65 \pm 0,63	2,50 \pm 0,12	0,35 \pm 0,03	0	0
<i>S. cerevisiae</i> 1708	7,89 \pm 0,36	0,70 \pm 0,06	0,40 \pm 0,02	0	0
<i>S. cerevisiae</i> 2708	12,07 \pm 0,63	7,63 \pm 0,13	0,13 \pm 0,02	0,03 \pm 0,01	0
<i>S. cerevisiae</i> 0809	15,18 \pm 0,72	0,40 \pm 0,02	0,20 \pm 0,01	0	0
<i>S. cerevisiae</i> 1311	13,36 \pm 0,56	0,96 \pm 0,01	0,17 \pm 0,06	0	0
<i>Sc. crataegensis</i> 2408	14,42 \pm 0,72	0,40 \pm 0,03	0,30 \pm 0,02	0	0
<i>Sp. pararoseus</i> 0708	15,28 \pm 0,76	1,71 \pm 0,08	0,03 \pm 0,01	0	0
<i>Sp. pararoseus</i> 0210	11,53 \pm 0,57	0,03 \pm 0,01	0	0	0
<i>Sp. pararoseus</i> 0711	18,61 \pm 0,86	0,09 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0	0

stacionárnej fázy rastu ($\mu = \Delta\text{OD}/\Delta t$). Všetky výsledky boli získané z troch nezávislých experimentov pre každý kmeň a sú uvádzané ako priemer s SD ako štandardnou odchýlkou.

Výsledky a diskusia

Hroznový mušt okrem prirodzených látok z hrozna môže obsahovať aj rezíduá pesticidov používaných pri ošetrovaní viniča, ktoré výrazne ovplyvňujú množstvo a zloženie mikroflóry na hrozne a následne v mušte⁶. Z tohto dôvodu sme sledovali rast 36 vybraných autochtónnych kvasinkových kmeňov pri rôznych koncentráciách meďnatých iónov.

Apikulátne kmene druhu *Hanseniaspora uvarum* sú najčastejšími kvasinkovými izolátmi na hrozne vo vinohradoch po celom svete a tiež dominujú na začiatku alkoholového kvasenia¹⁸. Použili sme štyri rôzne kmene druhu *H. uvarum* izolované počas štyroch rokov, pričom dva z nich boli izolované z búrlivo kvasiaceho muštu (m7) Frankovky modrej (tab. I). Špecifická rastová rýchlosť všetkých testovaných apikulátnych kmeňov bola do $1 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ v médiu s najnižšou použitou koncentráciou meďnatých iónov. Rovnako pri použití média s prídavkom $0,5 \text{ mM Cu}^{2+}$ boli eliminované všetky testované kmene druhov *C. californica*, *F. elegans*, *P. kluyveri*, *P. kudriavzevii*, *R. bacarum* a *Sc. crataegensis* (tab. II).

Inhibícia rastu kvasinkových druhov *Cr. magnus*, *R. glutinis*, *S. cerevisiae* a *Sp. pararoseus* Cu^{2+} iónmi bola rôzna v závislosti od jednotlivých kmeňov (tab. II). Obidva testované kmene druhu *Cr. magnus* (0409, 1011) boli schopné rásť pri koncentrácii medi $0,5 \text{ mM}$. Avšak, v médiu s vyššími koncentraciami meďnatých iónov rástol iba kmeň izolovaný v roku 2011 z nepoškodených bobulí Frankovky modrej (tab. I), a to až do koncentrácie $1,5 \text{ mM Cu}^{2+}$ (obr. 1a). Milanović a spol.¹⁰ potvrdili vyšší výskyt *Cryptococcus*, spp. na bobuliach hrozna pestovaného vo vinohrade ošetrovanom prípravkami na báze medi. Schopnosť tohto druhu produkovať kapsulárne polysacharidy zvyšuje ich rast v prostredí so zvýšenou koncentráciou medi¹⁹.

V prostredí s $0,5 \text{ mM Cu}^{2+}$ kmeň *R. glutinis* 0808 nerástol, ale *R. glutinis* 0908 výrazne rástol, hoci rast bol spomalený dlhšou lag fázou 72 h (obr. 1b). Rovnako predĺžením lag fázy do 72 h sa správal aj kmeň *R. nothofagi* 1409 (obr. 1c), *P. terricola* 2108 a *Sp. pararoseus* 0708 ako jediný z viacerých testovaných kmeňov tohto druhu (tab. II). Výnimku medzi bazidiomycetickými druhmi predstavoval kmeň *R. minuta* 0510 izolovaný z muštu odrody Sauvignon blanc v roku 2010 (tab. I), ktorý dobre rástol v médiu s prídavkom $0,5 \text{ mM Cu}^{2+}$ a postupne až do testovanej koncentrácie 3 mM Cu^{2+} (obr. 1d).

Je známe, že bazidiomycetické kvasinky sa viac nachádzajú na zdravej ako na poškodenej úrode^{1,4}, čo môže byť dôsledkom použitia meďnatých prípravkov na ošetrovanie hrozna¹⁰.

Prítomnosť meďnatých rezíduí pesticidov v mušte je dobre preskúmaná ako príčina zníženia rastu a ako dôsledok nedostatočného a pomalého kvasenia vinnej kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*^{6,13,20}. V našej práci testované kmene *S. cerevisiae* boli citlivé voči zvýšenej koncentrácii meďnatých iónov už pri koncentrácii $0,5 \text{ mM Cu}^{2+}$ (tab. II). Výnimku tvoril iba kmeň *S. cerevisiae* 2708, kedy

rastová rýchlosť bola spomalená na základe predĺženia lag fázy po 48 h počas rastu (obr. 1e). Ferreira a spol.¹⁶ rovnako zistili kmeňovú rozdielnosť rastu *S. cerevisiae* v prítomnosti zvýšenej koncentrácie meďnatých iónov.

Všetky testované kmene druhu *Aureobasidium pullulans* (1208, 1609, 1510) a *Metschnikowia pulcherrima* (2308, 1809, 0710, 1210, 1411) vykazovali odolnosť voči zvýšenej koncentrácii meďnatých iónov až do výšky $1,5 \text{ mM Cu}^{2+}$ (tab. II).

Askomycetický oxidatívny kvasinkový mikroorganizmus *A. pullulans* sa bežne vyskytuje v ekosystéme vinohradu, a to na rôznych častiach viniča, vo vzduchu, v pôde i v mušte na začiatku alkoholového kvasenia^{2,21}. Všetky kmene druhu *A. pullulans* použité v tejto štúdii boli izolované z bobulí a stopiek odrody Frankovky modrej z rôznych ročníkov (tab. I). Zistili sme rovnaký rast pri všetkých testovaných kmeňoch s predĺžením lag fázy 72 h (obr. 1f).

Kmeň zriedkavo vyskytujúceho sa druhu v ekosystéme viniča, *C. oleophila* 0108, rástol v médiu s meďnatými iónmi až do koncentrácie 3 mM Cu^{2+} (obr. 2a).

Schopnosť rásť v prostredí so zvýšenou koncentraciou medi sme overili na piatich rôznych kmeňoch *M. pulcherrima*. Všetky kmene druhu *M. pulcherrima* dobre rástli pri koncentrácii $0,5 \text{ mM Cu}^{2+}$ s 24 h lag fázou (obr. 2b) a so zvyšujúcou sa koncentraciou meďnatých iónov sa ich schopnosť rásť znižovala (tab. II). Výnimku tvoril kmeň izolovaný v roku 2010 z bobulí hrozna odrody Veltlínu zeleného *M. pulcherrima* 1210 (tab. I), ktorý dobre rástol aj pri $1,0$ a $1,5 \text{ mM Cu}^{2+}$ s predĺženou lag fázou rastu 72 h (obr. 2c). *M. pulcherrima* sa svojimi vlastnosťami zaraďuje medzi významné druhy v procese výroby vína²².

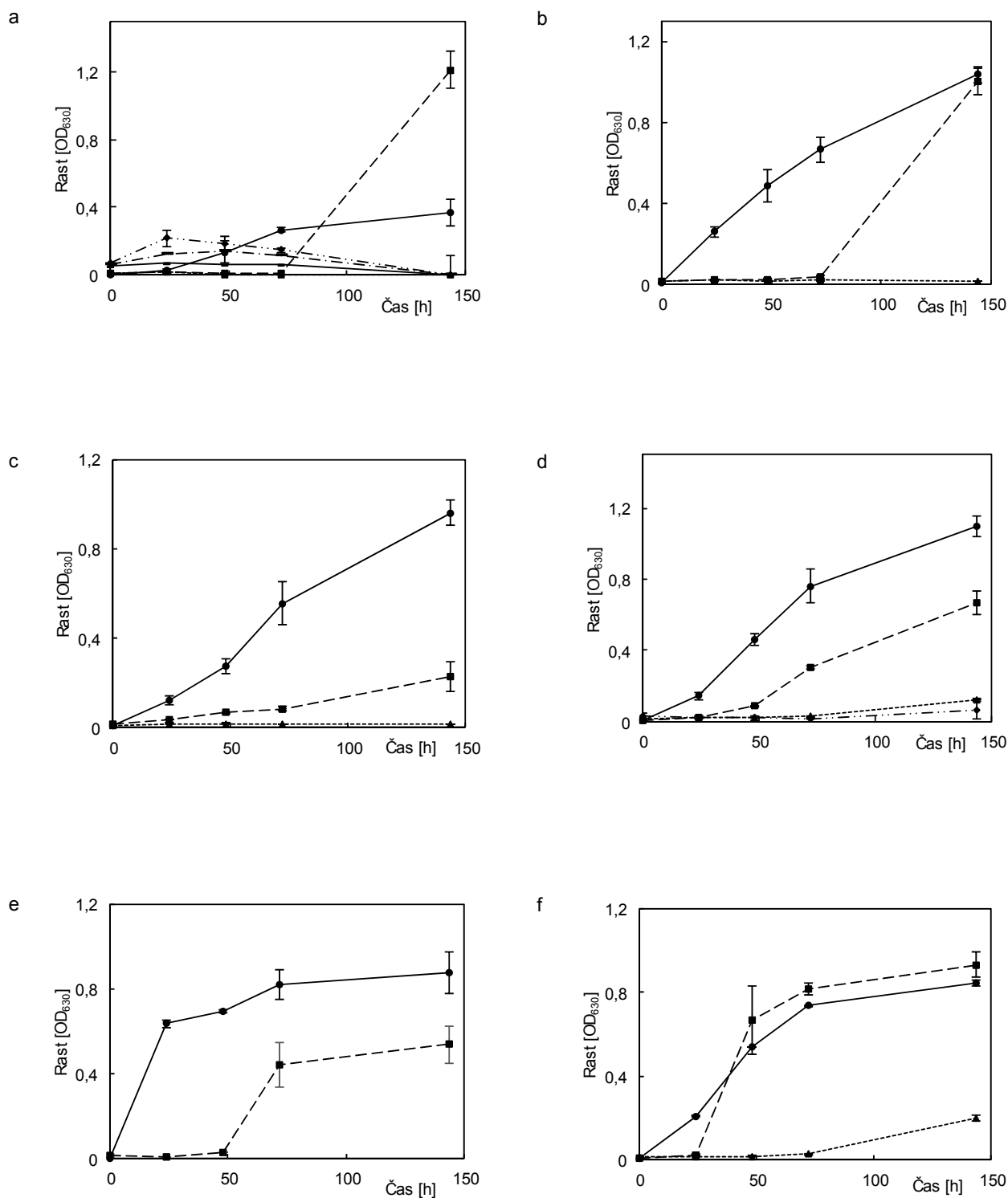
Záver

V našej štúdii sme ukázali, že prípravky na ochranu viniča na báze meďnatých iónov výrazne ovplyvňujú zastúpenie kvasiniek a kvasinkových mikroorganizmov nachádzajúcich sa na hrozne a následne v mušte, čím sa znižujú organoleptické vlastnosti vína.

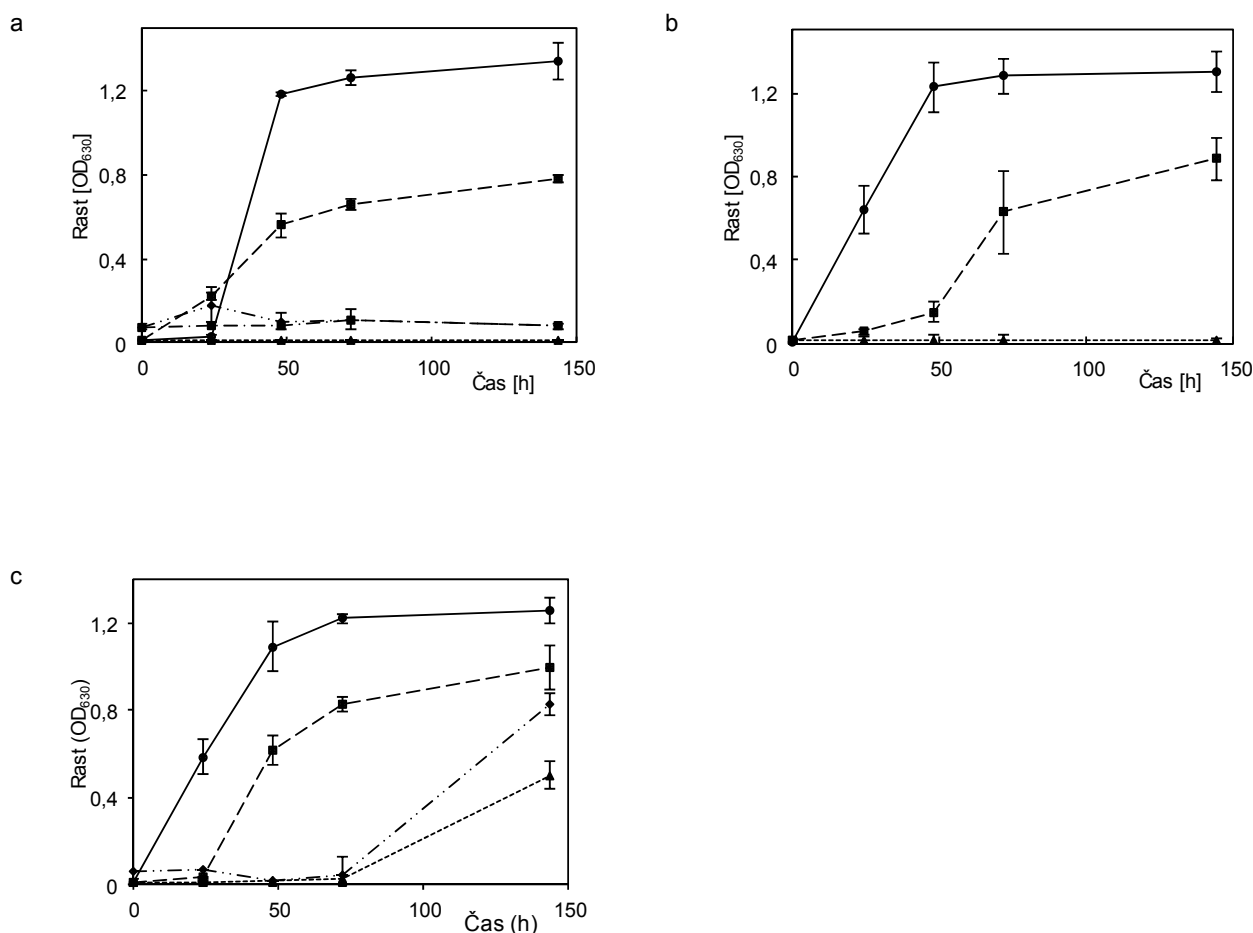
Schopnosť niektorých nesaccharomycetických oxidatívnych a slabokvasiacich kvasinkových druhov rásť v prítomnosti Cu^{2+} iónov pomocou predĺženej lag fázy rastu (72 h) eliminuje anaeróbný spôsob fermentácie vína. Kvasinkové druhy odolné voči vyšším koncentraciám medi (*C. oleophila*, *M. pulcherrima*, *R. minuta*) sú schopné znižovať obsah meďnatých rezíduí vo fermentujúcom mušte. Spôsob sorpcie medi autochtónnymi kvasinkami z muštu bude predmetom ďalšieho výskumu.

LITERATÚRA

1. Jolly N. P., Augustyn O. P. H., Pretorius I.S.: S. Afr. J. Enol. Vitic. 27, 15 (2006).
2. Baffi A. M., Tobal T., Lago J. H. G., Boscolo M.,



Obr. 1. Vpiv různých koncentrací měďnatých iónů na změnu rastu kvasinkových kmeňů. Údaje reprezentují průměr troch měření s průměrnou smerodajnou odchýlkou; a) *Cr. magnus* 1011, b) *R. glutinis* 0908, c) *R. nothofagi* 1409, d) *R. minuta* 0510, e) *S. cerevisiae* 2708, f) *A. pullulans* 1510, 1210; ● 0 mM Cu^{2+} , ■ 0,5 mM Cu^{2+} , ▲ 1 mM Cu^{2+} , ◆ 1,5 mM Cu^{2+} , — 3 mM Cu^{2+}



Obr. 2. Vplyv rôznych koncentrácií meďnatých iónov na zmenu rastu kvasinkových kmeňov. Údaje reprezentujú priemer troch meraní s priemernou smerodajnou odchýlkou; a) *C. oleophila* 0108, b) *M. pulcherrima* 1411, c) *M. pulcherrima* 1210; ● 0 mM Cu²⁺, ■ 0,5 mM Cu²⁺, ▲ 1 mM Cu²⁺, ◆ 1,5 mM Cu²⁺, × 3 mM Cu²⁺

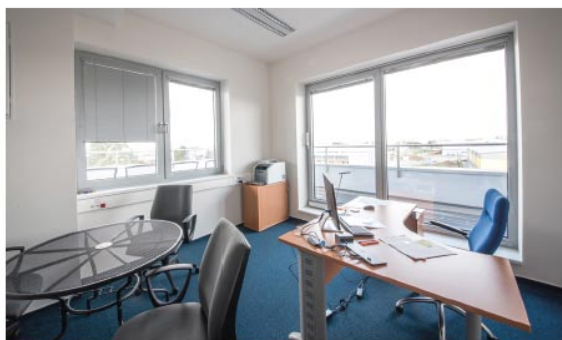
- Gomes E., Da-Silva R.: Appl. Biochem. Biotechnol. 169, 493 (2013).
- Medina K., Boido E., Fariña L., Gioia O., Gomez M. E., Barquet M., Gaggero C., Dellacassa E., Carrau F.: Food Chem. 141, 2513 (2013).
 - Barata A., Malfeito-Ferreira M., Loureiro V.: Int. J. Food Microbiol. 153, 243 (2011).
 - Li S. S., Cheng Ch., Li Z.: Int. J. Food Microbiol. 138, 85 (2010).
 - Čadež N., Zupan J., Raspor P.: FEMS Yeast Res. 10, 619 (2010).
 - Malherbe S., Bauer F. F., du Toit M.: S. Afr. J. Enol. Vitic. 28, 169 (2007).
 - Vidal M. T., Poblet M., Constanti M., Bordons A.: Am. J. Enol. Vitic. 52, 223 (2001).
 - Cordero-Bueso G., Arroyo T., Serrano A., Tello J., Aporta I.: Int. J. Food Microbiol. 145, 132 (2011).
 - Milanović V., Comitini F., Ciani M.: Int. J. Food Microbiol. 161, 240 (2013).
 - Brandolini V., Tedeschi P., Capece A., Maietti A., Mazzotta D., Salzano G., Paparella A., Romano P.: World J. Microbiol. Biotechnol. 18, 499 (2002).
 - Komárek M., Čadková E., Chrástný V., Bordas F., Bollinger J.-C.: Environ. Int. 36, 138 (2010).
 - Azenha M., Vasconcelos M. T., Moradas-Ferreira P.: J. Biosci. Bioeng. 90, 163 (2000).
 - Avery S. V., Howlett N. G., Radice S.: Appl. Environ. Microbiol. 62, 3960 (1996).
 - Das N., Vimala R., Karthika P.: Indian J. Biotechnol. 7, 159 (2008).
 - Ferreira J., du Toit M., du Toit W. J.: Aust. J. Grape Wine Res. 12, 50 (2006).
 - Nemcová K., Breierová E., Vadkertiová R., Molnárová J.: Folia Microbiol. 60, 103 (2015).
 - Moreira N., Pina C., Mendes F., Couto J. A., Hogg T., Vasconcelos I.: Food Control. 22, 662 (2011).

19. Free S. J.: Adv. Genet. 88, 33 (2013).
20. Čuš F., Bach B., Barnavon L., Pongrac V. Ž.: Food Control. 33, 274 (2013).
21. Sabate J., Cano J., Esteve-Zarzoso B., Guillamón J. M.: Microbiol. Res. 157, 267 (2002).
22. Oro L., Ciani M., Comitini F.: J. Appl. Microbiol. 116, 1209 (2014).

K. Nemcová^a, E. Breierová^a, and E. Paulovičová^b
 (^aYeast Culture Collection, ^bDepartment of Immunochimistry of Glycoconjugates, Glycomics Centre, Slovak Academy of Sciences, Bratislava): **Influence of Copper Ions on the Yeast Diversity Associated with Grapes and Must**

The diversity of yeasts and yeast microorganisms on grapes and, consequently, in musts may be strongly influenced by using Cu^{2+} products. The effect of Cu^{2+} concen-

tration on the growth of native yeast strains isolated from grapes and grape must of three grape varieties was studied. The growth of *H. uvarum*, *P. kluyveri*, *P. kudriavzevii*, *C. californica*, *F. elegans*, *R. bacarum* and *Sc. crataegensis* was inhibited in the presence of a minimum concentration of 0.5 mM Cu^{2+} . The growth of *S. cerevisiae*, *Cr. magnus*, *R. glutinis* and *Sp. pararoseus* depended on the strain tested. The strains of *A. pullulans*, *M. pulcherrima*, *C. oleophila*, *P. terricola*, *R. nothofagi* and *R. minuta* were growing at increasing Cu^{2+} concentrations but their growth was reduced by prolongation of the lag phase compared with their growth in the absence of Cu^{2+} . The growth reduction of ethanol-tolerant yeast strains at higher concentration of Cu ions shows the effect of the prolonged action of wine fermentation. Autochthonous yeast strains resistant to higher Cu^{2+} concentrations (*C. oleophila*, *M. pulcherrima*, *R. minuta*) appear to be an appropriate solution to reduction of Cu residues in the fermenting must.



SPOJENÍ PŘÍJEMNÉHO ZÁZEMÍ S NÁPADITÝM PROSTŘEDÍM V OLOMOUCI

Kanceláře s prostornými terasami i specializované laboratoře k pronájmu. To je nově otevřený blok C. Budova nabízí 26 kanceláří a 22 laboratoří a sousedí s výzkumnými centry Univerzity Palackého v Olomouci pro výzkum nanomateriálu a biotechnologií. Vědeckotechnický park Univerzity Palackého vytvořil ideální místo pro vaše podnikání! Přijďte se podívat nebo navštivte naše stránky www.podnikanivolomouci.cz.

www.podnikanivolomouci.cz



EVROPSKÁ UNIE
EVROPSKÝ FOND PRO REGIONÁLNÍ ROZVOJ
INVESTICE DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI



Vědeckotechnický
park

Univerzita Palackého
v Olomouci