

Úlohy a aktivity Zbierky kultúr kvasiniek

Sláviková, E.: The Roles and Activities of the Culture Collection of Yeasts. *Životné prostredie*, 2016, 50, 2, p. 118 – 120.

Microorganisms play an important role in decomposition of various compounds, contribute to nutrient cycling, serve as a source of valuable compounds, take part in the remediation and biotechnological processes but also can cause various diseases. Microorganisms, among them yeasts, are stored in culture collections by various methods which preserve their original properties. The Culture Collection of Yeasts (CCY) was founded by Dr. A. Kocková-Kratochvílová in Prague in 1946. Since 1963 the collection has been located at the Institute of Chemistry SAS. The CCY is a part of the "Centre of excellence for the protection and use of landscape and biodiversity" of the Operational Programme Research and Development. The CCY is a service collection and therefore, it offers maintenance, collection and dispatch of yeast strains, safe deposit of yeast cultures, deposit for the patent purposes, isolation and identification of unknown yeasts and yeast-like species. Moreover, the collection is regularly enriched by endemic isolates which have the potential for possible biotechnological applications in future. The yeast diversity associated with mushrooms, lakes, rivers, and soils was studied in the Culture Collection of Yeasts. At the moment the research is focused on the occurrence of yeasts on various parts of fruit trees. To understand the yeast relationships and activities in various natural environments, the monitoring of yeast communities is fundamental. The information on the structure and diversity of these communities will become a part of integral database which enable to use the data of all partners of the Centre of excellence for studying the biodiversity.

Key words: yeasts, diversity, maintenance, application of yeasts, deposit

Mikroorganizmy majú nezastupiteľnú úlohu v prírode v procesoch rozkladu látok a recyklácie chemických prvkov a v podstate celková ekologická rovnováha biosféry je determinovaná ich aktivitou. Využívajú sa v biotechnológiách, remedičných procesoch a v poľnohospodárstve, sú zdrojom veľkého množstva cenných látok a tiež užitočných informácií. Niektoré druhy môžu spôsobovať rôzne ochorenia, iné majú schopnosť produkovať látky, ktoré patogénne organizmy potláčajú. Mikroorganizmy sú biotickou zložkou ekosystémov so skutočným alebo potenciálnym využitím, alebo hodnotou pre ľudstvo, ako je uvedené v materiáloch z Konferencie Organizácie spojených národov o životnom prostredí a rozvoji v kapitole o uchovávaní biologickej diverzity z Ria de Janeiro z roku 1992.

Význam kvasiniek a založenie prvej zbierky na území Československa

Medzi mikroorganizmy patria aj kvasinky. Kvasinky sú jednobunkové eukaryotické mikroskopické huby. Rozdeľujú sa na dve veľké skupiny: *Ascomycetes* a *Basidiomycetes*, ktoré sa líšia spôsobom sexuálneho rozmnožovania. Formy, pri ktorých sa nedokázalo sexuálne rozmnožovanie, sú anamorfné jednej alebo druhej skupiny. Kvasinky sú dôležitou súčasťou mnohých ekosystémov. Je možné izolovať ich z atmosféry, z najhlbších vrstiev oceánov, sú prítomné v celej fylosfére a boli izolované z takmer všetkých druhov živočíchov. V pôde sa zapájajú do biologických a chemických procesov, prebieha-

júcich v tomto prostredí (Rosa, Péter, 2006; Botha, 2011; Buzzini, Margesin, 2014).

Kvasinky sa využívajú pri výrobe piva, vína, droždia, vitamínov, enzýmov a iných látok a majú veľký potenciál na využitie v biotechnológiách a v procesoch remediácie. Na druhej strane však existujú druhy, ktoré sú patogénne pre ľudí a zvieratá alebo spôsobujú kontamináciu výrobného procesu (Boundy-Mills, 2012). Z uvedených dôvodov je potrebné kvasinky izolovať, charakterizovať, študovať a uchovávať.

Využívanie mikroorganizmov na rôzne účely vyžaduje ich uchovávanie v takej forme, aby si čo najvernejšie zachovali vlastnosti. Tým sa zabezpečí nielen reprodukovateľnosť výsledkov, ale aj ich použitie v budúcnosti. Uchovávanie mikroorganizmov na potreby výskumu, výučby, biotechnológie a priemyslu zabezpečujú zbierky mikroorganizmov. Často sú mnoho rokov práce budované a majú nenahraditeľnú hodnotu. Význam zbierok, ich funkcia a rozsah sú veľmi rôzne (Janssens et al., 2010). Riadia sa vlastným štatútom alebo štatútom materskej organizácie.

Zbierka kultúr kvasiniek (CCY) bola založená v roku 1946 RNDr. Annou Kockovou-Kratochvílovou, DrSc., vo Výskumnom ústave pivovarskom a sladovníckom v Prahe. Základ tejto zbierky tvorili kmene z laboratória vitamínovej a hormonálnej chémie v Prahe z rokov 1942 – 1944. Zbierka sa potom rozšírila o kmene z Holandska a Dánska. V roku 1953 bola prenesená na Katedru mikrobiológie a biochémie Chemickej fakulty vtedajšej Slovenskej vysokej školy technickej (dnešná

Slovenská technická univerzita) v Bratislave a rozšírila sa o kmene získané pri ekologických prieskumoch Malých Karpát, Českomoravskej vysočiny a Brnianskej vrchoviny, neskôr o kmene zo severovýchodného Mecklenburska v Nemecku. Od roku 1962 je Zbierka kultúr kvasiniek súčasťou Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied (CHÚ SAV). V zbierke sa postupne sústredilo mnoho produkčných kmeňov zo stredoeurópskych pivovarov, pribudli aj kmene z Výskumného ústavu liehvarov a konzervárni v Bratislave, ako aj kvasinky z Biologického ústavu vtedajšej Československej akadémie vied, ktorý bol v roku 1962 zrušený. Do zbierky bolo zaradených aj mnoho klinicky významných kmeňov. Neskôr sa zbierka rozšírila o kmene získané pri ekologických prieskumoch Záhorskej nížiny. Najväčšiu časť tvoria kmene izolované z povrchu húb, z vody jazier, rybníkov, riek a z rôznych pôdnych typov. V ostatných rokoch pribudli kmene izolované z ihličia a listov lesných stromov a z listov ovocných stromov. Práve endemické druhy mikroorganizmov majú veľkú hodnotu, pretože sú jedinečné.

Prepojenie Zbierky kultúr kvasiniek na medzinárodné organizácie a výskum

Zbierka kultúr kvasiniek CHÚ SAV patrí medzi najväčšie zbierky kvasiniek vo svete. Je v nej uložených takmer 3 300 kmeňov kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov. Má všeobecný charakter – sú v nej uložené kmene dôležité z hľadiska vedeckého, priemyselného, patogénne kmene, kmene taxonomicky a geneticky významné, kmene testovacie a štandardné, ako aj právne chránené kmene. Hlavnou úlohou zbierky je udržiavať pri živote čisté kultúry kvasiniek s ich pôvodnými vlastnosťami a tak zabezpečiť jej nasledovnú činnosť:

- uchovávať kmene kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov a definovať ich genotyp a fenotyp;
- rozširovať zbierku o domáce izoláty, typové kultúry a významné kmene z iných zbierok;
- poskytovať čisté kmene kvasiniek na ciele výskumu, výučby, výroby, na šľachtiteľskú činnosť génového inžinierstva, ako aj porovnávací materiál na klinickú prax;
- určovať a definovať kmene na vedecké, priemyselné potreby a na potreby ochrany životného prostredia;
- poskytovať odborné konzultácie o otázkach taxonómie a nomenklatúry a starať sa o metodickú úroveň kultivácie a úschovy kmeňov;
- viesť evidenciu o udržiavaných kmeňoch formou kartotéky a vybudovať banku dát ich vlastností s využitím počítača;
- spolupracovať s Úradom priemyselného vlastníctva



Obr. 1. Úschova kvasinkových kultúr klasickou metódou, založenou na obmedzení ich metabolizmu. Foto: Andrej Vadkerti

Slovenskej republiky v oblasti úschovy patentom chránených kmeňov.

Zbierka kultúr kvasiniek sa už v roku 1947 zaradila do Medzinárodného centra čistých kultúr mikroorganizmov v Laussane vo Švajčiarsku. Od roku 1977 je zaregistrovaná vo Svetovom katalógu zbierok mikroorganizmov pod číslom 333 a patrí do Svetového združenia zbierok mikroorganizmov (WFCC, *World Federation for Culture Collections*). Od roku 1982 je zaradená aj do Európskeho združenia zbierok mikroorganizmov (ECCO, *European Culture Collection's Organization*). Ako jediná na Slovensku je od roku 1992 autorizovaná na ukladanie právne chránených kmeňov kvasiniek podľa Budapeštianskej zmluvy. Právne chránené kmene sú v zbierke udržiavané počas 30 rokov a preto je nutná záruka kvalitnej a spoľahlivej úschovy kmeňov aspoň dvomi spôsobmi. Na úschovu kvasiniek sa najčastejšie používajú:

- metódy založené na obmedzení metabolizmu;
- metódy rýchleho vysušania (napr. lyofilizácia);
- uschovávanie pri nízkych a ultranízkych teplotách.

V zbierke sa zatiaľ používajú dve metódy: klasická metóda, založená na obmedzení metabolizmu (zalievanie parafínovým olejom), a úschova kvasiniek pri ultranízkej teplote v tekutom dusíku pri $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, ktorá sa momentálne považuje za najspoľahlivejšiu úschovnú metódu.

Kvasinky sa zaraďujú do rodov a druhov na základe ich morfológických a fyziologických vlastností. Medzi morfológické vlastnosti patrí napr. veľkosť a tvar buniek, vzhľad pseudomycélia, tvorba spór, ktoré sa sledujú pomocou mikroskopu. Fyziologické vlastnosti zahŕňajú napr. skvasovanie a asimiláciu sacharidov, asimiláciu dusíkatých zdrojov a iné biochemické vlastnosti, vyhodnocované pomocou spektrofotometrie.

Okrem uvedených činností sa na pracovisku Zbierky kultúr kvasiniek riešia aj vedecké projekty, zamerané na ekológiu a taxonómiu kvasiniek a kvasinkovitých



Obr. 2. Úschova kvasiniek v tekutom dusíku pri $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$.
Foto: Hana Dudášová

mikroorganizmov. Ich cieľom je študovať úlohu týchto organizmov v ekosystéme, nakoľko sú prirodzenou súčasťou prostredia a vytvárajú spoločenstvá na základe podobných fyziologických vlastností a tolerancie voči určitým látkam.

Prvá ekologická štúdia zameraná na izoláciu a identifikáciu kvasiniek na území Slovenska pochádza z roku 1964 a venuje sa bylinám, rastúcim v malokarpatskej oblasti. Od roku 1981 sa skúmajú kvasinky asociované s rôznymi substrátmi v oblasti Záhorskej nížiny. Boli izolované kvasinky a kvasinkovité mikroorganizmy z hmyzu, plodníc vyšších húb, vôd jazier, rybníkov a riek Dunaja a Moravy (Kocková-Kratochvílová et al., 1988; Sláviková et al., 1992; Sláviková, Vadkertiová, 1997). Porovnávala sa diverzita kvasiniek, vyskytujúcich sa v lesnej, zatravnenej a poľnohospodárskej pôde (Sláviková, Vadkertiová, 2003). Výskytu kvasiniek, osídľujúcich ihlice a listy lesných stromov, sa venovali ďalšie práce (Sláviková et al., 2007). V ostatných rokoch je výskum zameraný na kvasinky a kvasinkovité organizmy asociované s listami, kvetmi a plodmi ovocných stromov s ohľadom na ich vlastnosti a toleranciu voči nepriaznivým vplyvom prostredia (Sláviková et al., 2009; Vadkertiová et al., 2012).

Štúdium biodiverzity je v súčasnosti považované za jeden z najvýznamnejších výskumných trendov biologických vied a je aj jednou z hlavných aktivít projektu *Centra excelentnosti pre ochranu a využívanie krajiny a biodiverzitu*, podporeného z Operačného programu Výskum a vývoj, financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja, do ktorého je pracovisko zbierky zapojené.

* * *

Monitorovanie kvasinkovej komunity je základom pochopenia fungovania vzťahov kvasiniek v rôznych

prirodzených prostrediach. Informácie o štruktúre a diverzite kvasinkového spoločenstva budú súčasťou vybudovanej databázy (vytvorenej a používanej pomocou softvérov a počítačov), ktorá bude v Centre excelentnosti integrovaná do jednotného systému, umožňujúceho prístup aj z iného partnerského pracoviska, čo povedie k integrácii pracovísk, študujúcich biodiverzitu ako integrálnu súčasť krajiny.

Tento článok bol vytvorený realizáciou projektu Centrum excelentnosti pre ochranu a využívanie krajiny a biodiverzitu na základe podpory Operačného programu Výskum a vývoj, ITMS 262401120014, financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

- Botha, A.: The Importance and Ecology of Yeasts in Soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43, p. 1 – 8.
- Boundy-Mills, K.: Yeast Culture Collections of the World: Meeting the Needs of Industrial Researchers. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2012, 39, p. 673 – 680.
- Buzzini, P., Margesin, R.: Cold-Adapted Yeasts. *Biodiversity, Adaptation Strategies and Biotechnological Significance*. Berlin, Heidelberg (Germany): Springer-Verlag, 2014, 548 p.
- Janssens, D., Arahall, D. R., Bizet, Ch., Garay, E.: The Role of Public Biological Resource Centers in Providing a Basic Infrastructure for Microbial Research. *Research in Microbiology*, 2010, 161, p. 422 – 429.
- Kocková-Kratochvílová, A., Sláviková, E., Kovačková, R.: Yeasts Isolated from Fruitbodies of Mushrooms of the Lowland Záhorie. *Česká mykologie*, 1988, 42, p. 112 – 121.
- Rosa, C., Péter, G. (eds.): *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. Berlin, Heidelberg (Germany): Springer-Verlag, 2006, 579 p.
- Sláviková, E., Vadkertiová, R.: Seasonal Occurrence of Yeasts and Yeast-Like Organisms in the River Danube. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1997, 72, p. 77 – 80.
- Sláviková, E., Vadkertiová, R.: The Diversity of Yeasts in the Agricultural Soil. *Journal of Basic Microbiology*, 2003, 43, p. 430 – 436.
- Sláviková, E., Vadkertiová, R., Kocková-Kratochvílová, A.: Yeasts Isolated from Artificial Lake Waters. *Canadian Journal of Microbiology*, 1992, 38, p. 1206 – 1209.
- Sláviková, E., Vadkertiová, R., Vránová, D.: Yeasts Colonizing the Leaf Surfaces. *Journal of Basic Microbiology*, 2007, 47, p. 344 – 350.
- Sláviková, E., Vadkertiová, R., Vránová, D.: Yeasts Isolated from Fruit Tree Leaves. *Annals of Microbiology*, 2009, p. 419 – 424.
- Vadkertiová, R., Molnárová, J., Vránová, D., Sláviková, E.: Yeasts and Yeast-Like Organisms Associated with Fruits and Blossoms of Different Fruit Trees. *Canadian Journal of Microbiology*, 2012, 58, p. 1344 – 1352.

Ing. Elena Sláviková, PhD., elena.slavikova@saoba.sk
Zbierka kultúr kvasiniek Chemického ústavu SAV,
Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava