

BORÉLESZTŐK SPÓRÁZTATÁSA

PAZONYI BÉLA

(Érkezett : 1952 november 15-én)

Bevezetés

Ha az igen gazdag élesztő-spóráztatási irodalmon végigtekintünk, szembeszökő az, hogy mennyi munkát, fáradságot fordítottak ennek az egyszerűnek látszó problémának a megoldására.

Alaposan átvizsgálva a régebbi vizsgálatok célját és a bevont élesztő-fajtákat, rájövünk arra, hogy a különböző kutatók más-más célkitűzéssel és nem azonos élesztőfajtákkal dolgoztak, s ez az egyik magyarázata annak, hogy az eredmények annyira ellentmondók.

De sokféle a módszer is, amivel az élesztőket spórázásra akarták serkenteni, mert a különböző módszerek más-más elméleti elgondolás alapján készültek. Attól függően, hogy a kutató milyen faktort tart spórázásra serkentőnek, — változik spóráztatási módszere.

A szerzők a legkülönbözőbb időpontokat jelölik meg a spórázás megindulására : 1—7 naptól 60, sőt 90 napig terjedő idő is lehetséges, és a spórázás beálltának időpontját fajtára jellemző bélyegnek tartják.

Az élesztők spóráztatására legklasszikusabb módszer az ú. n. gipsztömbös spóráztatás (ENGEL 1872). Ennek lényege az, hogy magasabb Petri-csészébe 4—6 cm magasságú csonkakúp vagy csonkagúla alakú gipsztömböt teszünk. A Petri-csészébe vizet öntve, azt sterilizzük, majd a spóráztatandó anyagot a csonkakúp felső lapján szétterítjük.

A gipsztömbös módszer sok fajtánál nem válik be és a spóráztatandó felületet fertőző más mikroorganizmusok is könnyen ellephetik, úgyhogy ennek is több módosítása ismeretes. Legegyszerűbb módosítása az, hogy a gipsztömböket hengeralakúra alakítva ferdére vágva vattadugós kémcsőbe teszik. Bár így a befertőződés mértéke kisebb, a levegőztetés nem olyan intenzív (BOWHILL 1899).

Variálható a módszer azzal is, hogy nem gipsz, hanem cement (HARTELIUS, DITLEVSEN 1951), porcelán (ELION 1951), burgonya vagy répafélékből a mikrobiológiában általánosan használt módon készített tömböket alkalmaznak.

BEIJERINCK (1898) ajánlotta spóráztató felületnek az alaposan kimosott és kémcsővekbe öntött ágárt, minden más anyag hozzáadása nélkül. Módszere csak egészen speciális esetekben vált be.

GORODKOVA (1908) kémcsőbe vagy Petri-csészébe öntött 1%-os ágárt ajánl, de javasol hozzá : 1,0 g húskivonatot, 0,5 g NaCl-t és 0,25 g glukózt, 100 ml deszt. vízben oldva.

Több amerikai szerző, elsősorban MRAK, PHAFF és DOUGLAS (1942) a spórátatást megelőzően úgynevezett előspórátató táptalajt javallanak. Szerintük ez feltétlenül szükséges és elégséges is a jó spórázáshoz. Ezt használja évek óta LINDEGREN is (1944).

Bizonyos élesztőfajtáknál STANTIAL (1928, 1935) ért el igen jó spórázási százalékokat citrancs (grape-fruit) levélvel készült előspórátató alkalmazásával.

A legjobb eredményeket — az irodalmi adatok alapján értékelve — ADAMS (1949) érte el, paradicsomleves előspórátató és nátriumacetátos spórátató alkalmazásával. Vizsgálatait pékélesztőn végezte, s magas spórázási százalékokat ért el.

Vizsgálati anyag és módszerek

Megvizsgáltam 75 magyar borélesztő törzset a Szőlészeti Kutatóintézet gyűjteményéből, továbbá ugyaninnen származó 15 külföldi törzset s egy pár általam izolált — a balatonfüredi borvidékről származó — borélesztőt.

A magyar borélesztők huzamosabb ideje (legrégibbek 1901 óta) gyűjteményben állottak; még régebbiek a külföldi törzsek, mert egyrészek még a múlt század utolsó évtizedében került gyűjteménybe. Az általam izoláltak 1 évig álltak gyűjteményben. Ezeket azért spórátattuk, hogy mint frissen begyűjtött törzs némileg kontrollként szerepeljen a régebben raktározottakkal szemben (Balatonfüred S és Balatonfüred X).

Ugyancsak bevontuk a vizsgálatba az általunk (CSIK, PAZONYI, ZSOLT, 1951. a) alkoholhoz adaptált Balatonfüred 2 törzs rasszait is. A Balatonfüred 2 adapt. 1 rassz az említett dolgozatban részletesen leírt körülmények között, a Balatonfüred 2 adapt. 2 rassz pedig még huzamosabb ideig volt kitéve magas alkohol-koncentráció hatásának. Célunk volt ezzel annak kiderítése, hogy az általunk alkalmazott módszerrel való alkoholhoz szoktatás során megváltozik-e az élesztők spórázási tulajdonsága?

Az összes vizsgált törzsek, beleértve az általam izoláltakat is, általánosan használatos jó borokat adó élesztők.

A törzsek a Szőlészeti Kutatóintézet gyűjteményéből származnak és ott a szokásos 10%-os szaharóz-oldatban állanak. Kezelésüket (évenkénti felújítás) a Szőlészeti Kutatóintézet végzi. Ez év elején az évi felújítás után közvetlenül MAYER-féle peptonos, 10% glukózt tartalmazó ágárra vittük. Amikor a telepek kifejlődtek az ágár-lejtőt steril paraffin olajjal öntöttük le. Több hónapig paraffinolaj alatt való állás után (anaerob nyugalmi helyzet) használtuk fel a telepek élesztőit. Mindig 1 kacsnyi élesztőt kivéve oltottam a különböző sorozatokat.

Az összes tenyészeteket kétféle módon juttattam spórátató talajra. Az egyik sorozatot először előspórátató táptalajra oltottam és csak azután vittem végbe a spórátatást; a másik sorozatot az olaj alól az előbbivel egyidőben közvetlenül a spórátató felületre vittem.

Előspórátatónak a paradicsomleves MAYER-féle peptonos-glukózos táptalaj (CSIK, PAZONYI, ZSOLT 1952. b) 2%-os ágárral készült kémcsövekbe öntött ferde felületeit használtam. Egy hét alatt 24°-on igen dús, vastagon szétterülő szép kolóniák fejlődtek rajta.

Spórátató táptalajnak az ADAMS (1949) által ajánlott nátriumacetátos ágárt alkalmaztam az általa ajánlott kiegészítésekkel. Vízmentes nátrium-

acetátból 0,14%-os deszt. vizes oldatot készítettem. Tettem hozzá 0,04% dextrózt, nyomokban WITTE-peptont és 2% ágárt. Sterilizve, kémcsőbe öntve használtam.

A spórázási százalékok kiértékelése úgy történt, hogy erről az acetátos táptalajról hetenként mintát vettem, lemezre kenve rögzítettem, majd malachit-zölddel és szafraninnal festve elzártam (MC CLUNG 1943). Az elzárt készítményeket mikroszkóp alatt vizsgáltam, majd kivetítettem. Megszámoltam a pirosra festett vegetatív sejtek és a zöldre festett aszkuszok számát és azt az összes sejtek százalékában fejeztem ki. Ugyancsak megszámláltam az aszkuszokban levő spórák számát és az aszkuszokat ezek alapján csoportokba soroltam; majd egymáshoz arányítva százalékoltam. Egy hónapig minden hét azonos napján vettem a mintát és mindkét sorozatot egyazon termosztátban, 24 C°-on, sötétben inkubáltam. Igyekeztem a két sorozat számára teljesen azonos élettani körülményeket teremteni, vigyázva arra is, hogy mintavételkor, — amikor is a termosztátból ki kellett venni a tenyészeteket, — mindegyik egyforma ideig tartózkodjon a dolgozó helyiség szórt fényében.

A kísérletek célja és irodalmi tájékoztató

A kísérletek fő célja az volt, hogy eldöntsük azt, hogy a borélesztők esetében a spórázást megelőzőleg szükség van-e előspóráztatásra? Azaz a spórázási szakasz bekövetkezését lehet-e, szükséges-e — a borélesztők esetében — előspóráztatással kiváltani? Vajjon az ADAMS (1949) által a pékélesztőn elért eredmények vonatkoznak-e a borélesztőkre és megállapításait át lehet-e egyszerűen ültetni egy más anyageseretípusú élesztőre? Vajjon a borélesztők ugyanazon körülményeket igénylik-e, mint a pékélesztők? Az aerob körülményeket igénylő spórázás nem követeli-e, a borélesztőnél, aerob jellegű előéletet és előfeltételeket?

A pékélesztők esetében — ismerve gyártástechnológiájukat — az ember átalakító befolyása sokkal erőteljesebb, mint a borélesztőknél. A pékélesztők túlnyomólag oxidatív típusú életre vannak kényszerítve és így életkörülményeik alapvetően mások, mint a túlnyomólag fermentatív úton élő borélesztőké. Jelentkezik-e ez különbségként egyik legfontosabb életszakaszuk: a spórázás bekövetkezésénél?

A felvetett kérdések eldöntésére úgy állítottam be a két sorozatot, hogy az egyiket egy hétig tartó paradicsomleves-előspóráztatáson szaporítva vittem át a spórázató táptalajra. A másik sorozatot, mely vele párhuzamosan futott, a már leírt módon olaj alatt tartott óriáskolóniákból kiemelve terítettem rá a spórázató felületre.

Így a két sorozat összehasonlításra kerülő azonos tagjai egyazon anyakolóniából származtak, a különbség csak az volt, hogy az első sorozat az olaj alól egy — szinte kizárólag oxidatív jellegű — paradicsomos előspóráztatáson átesve került a spórázató talajra, viszont a második sorozat közvetlenül az anaerob nyugalmi állapotból került spóráztatás alá.

Lényegében tehát egy oxidatív — szaporodási szakasz után — (első sorozat) és egy anaerob nyugalmi állapot (második sorozat) utáni spórázási képességet vizsgáltam és hasonlítottam össze.

Gyűjteményekben tartott élesztők vizsgálata régen megszokott (NASTUKOV 1898) és indokolt is, mert feltehető, hogy a huzamosabb gyűjtemény-

ben való tartás során tulajdonságaik megváltoznak. A vizsgálatomba bevont magyar borélesztőket morfológiai és fiziológiai szempontból többször megvizsgálták már (ÁSVÁNY, NYERGESNÉ, ZSOLT 1949; Soós, ÁSVÁNY 1950). Legalaposabb Soós—ÁSVÁNY vizsgálata, mely a törzsek legtöbb tulajdonságát felöleli. E vizsgálatok a spórázásra is kiterjedtek és gipsztömbös módszerrel folytak. Megállapították, hogy 4-nél több spóra egy törzs aszkuszában sincs és hogy a spórák gömbölyűek, síma felületűek.

Az általuk nem spórázó törzsnek találtak közül a nátriumacetátos spóráztatás alkalmával több spórázott és a több spórát tartalmazó aszkuszokkal rendelkező törzsek száma is gyarapodott.

A *Mikrobiológija* folyóirat hasábjain a közelmúltban lezajlott vita egyik sarkalatos kérdése volt a gyűjteményekben tartott törzsek leromlásának problémája. KUDRJAVCEV (1951) szerint a gyűjteményekben tartott mikroorganizmusok a régi módszerrel kezelve leromlanak és az erjesztési gyakorlatban nem használhatók. Cikke végén mégis azt állapítja meg, hogy »bármily rosszak is a tenyészetek laboratóriumi őrzésének régi módszerei, használatuk mégis biztosít bennünket a meglepetések ellen.«

Ugyancsak KUDRJAVCEV hangsúlyozza említett cikkében, hogy az élesztők folyékony közegben történő tenyésztésük alkalmával vegetatív úton szaporodnak és nem képeznek spórákat. Végeredményben életükből teljesen kikapcsolódik a nemi folyamat.

KUDRJAVCEV cikke megerősít bennünket abban a felfogásunkban, hogy az élesztők spórázásának és az ezt követő ivaros folyamatoknak kutatásai még nagyon fontos elméleti és gyakorlati eredményekre vezethetnek.

A gyűjteményekben őrzött kultúrák leromlásáról nem egységesek a vélemények. VESZELOV (1951) szerint semmiképpen nem lehet lemondani a tiszta kultúráknak laboratóriumi fenntartásáról, csupán csak azért, mert helyes kezelésüket még nem ismerjük.

Eltérőek a vélemények arról is, hogy egyes tulajdonságok mennyire maradnak meg és mennyire tűnnek el a gyűjteményben. MOSZIASVILI (1951) tényeket közöl arról, hogy a laboratóriumban őrzött fagyálló élesztőkultúrák e tulajdonságukat két éven át 10%-os mustban való őrzés mellett csaknem teljesen elvesztették. SZILISCSENSZKÁJA (1951) szerint viszont ha mutatkozik s degenerációs jelenség, azt pár átoltással, futtatással ki lehet küszöbölni. Szerinte például az ipari élesztőfajták a Szovjetunióban az utolsó 20 év alatt nem rosszabbodtak. Ellenkezőleg emelkedett a szesznyerés, pedig a gyárak túlnyomó része gyűjteményi kultúrákkal dolgozik.

A vizsgálatok menete és eredményei

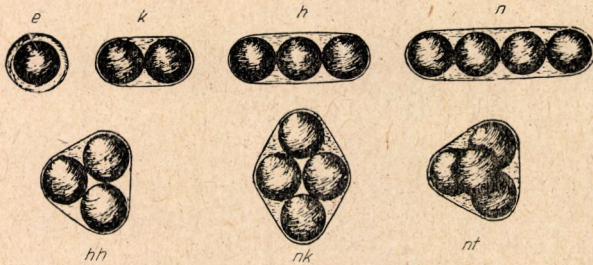
A spóráztató táptalaj felületén lévő élesztőből hetenként mintát vettem. Ezt tárgylemezre kenve a már ismertetett szafranin-malachitzöldes festései differenciáltam vegetatív sejtre és aszkuszokra.

Az aszkuszokban egy-négy aszkospórát találtam. Ez megerősíti Soós—ÁSVÁNY (1950) megfigyelését. Az összes vizsgált törzsnél az *1. ábrában* feltüntetett konfigurációk egyike vagy másika volt látható az aszkusz belsejében:

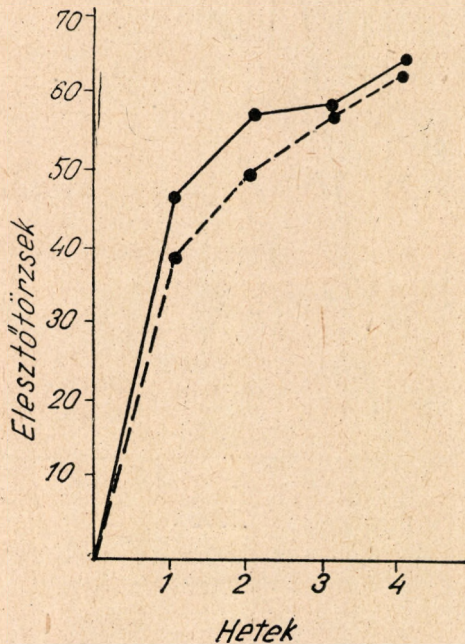
Egy spórásnak bizonyult a Kecskemét 2 és a »Bouzy poros« törzs, az összes többiek a felsorolt konfigurációk egyikét vagy másikat, egymással

kombinálva, tartalmazták. Az összes észlelt csoportokat képezik spórázásukkor a Dicsőszentmárton 2, Pécs 3 és a Cronberg-törzs.

Maguk a spórák a magyar borélesztőknél kivétel nélkül szabályos gömbalakúak, síma felületűek. Ez is egybevág Soós—ÁSVÁNY (1950) megfigye-



1. ábra. Magyar borélesztők askuszainak félig vázlatos képe. Betűk jelentését l. 98. old.



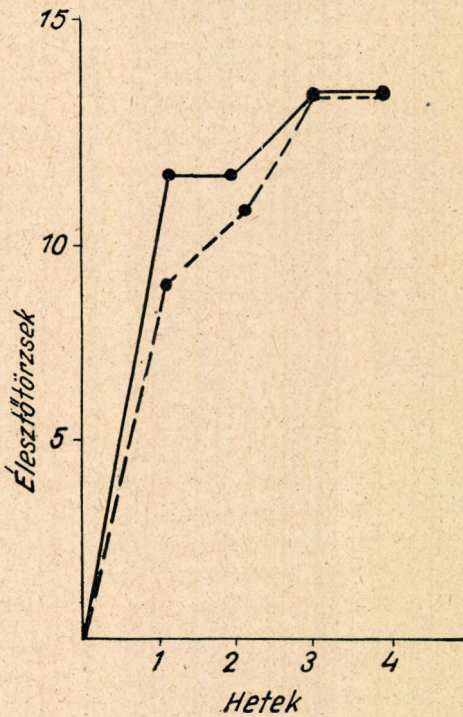
2. ábra. Magyar borélesztők törzseinek spórázása anaerob (folytonos vonal) és aerob (szaggatott vonal) előzmények után

léseivel. A 2. ábra azt tünteti fel, hogyan emelkedett hétről-hétre a 68 sporogén magyar borélesztő között a spórázó törzsek száma. A folytonos vonal az anaerob nyugalmi helyzetből kiinduló spórázó törzsek számát mutatja hetenként. A szaggatott vonal ugyanazon törzsek előspóráztatással kezelt spórázó tenyészeinek számát szemlélteti.

Látható, hogy az anaerob nyugalmi állapotból való kiindulás esetén a magyar borélesztőknél az első héten a sporogén törzsek 70%-a spórázott.

Aerob előspóráztatást alkalmazva, csak 57% a spórázó törzsek száma. Bár a spóráztatás következő heteiben emelkedik a spórázó törzsek száma, az anaerob kezdetű spóráztatásnál mindvégig több spórázó törzs marad.

Ugyanezt mutatják a mult század óta gyűjteményben álló külföldi borélesztő-törzsek azonos módon és azonos körülmények között spóráztatott tenyészetei is. Itt a sporogén törzsek 64%-a spórázó az aerob kezdetnél és 86% spórázik első héten az anaerob kezdetűnél (lásd 3. ábra). A vizsgálatainkba bevont törzsek nevét, a talált spórázási százalékot, és a talált — spóráztatással kapcsolatos — tulajdonságokat a mellékelt táblázaton tüntetjük fel.



3. ábra. Külföldi borélesztők törzseinek spórázása anaerob (folytonos vonal) és aerob (szaggatott vonal) előzmények után

E táblázatból látható, hogy a vizsgált borélesztők közül asporogén fajták a Tokaj 12, Pécs 1, Pécs 2, Kecskemét 6, Eger 4, Cegléd 1, Mór 4 és Schloss-Vollrats. A többi törzs spóráképző.

A táblázat számadataiból a két sorozat százalékainak összevetése után az is kiderül, hogy előspóráztatás nélkül nemesak a spórázó törzsek száma nagyobb, de — néhány kivételtől eltekintve — általában nagyobb a spórázási százalék is. Ez annál is inkább figyelemreméltó, mert minden valószínűség szerint az olaj alól közvetlenül a spóráztató táptalajra felkent sejtek közül sokkal több lehet a nem élő sejt, amely tehát spórázt sem fog képezni, mint azok között, melyek az előspóráztatón nemrég jöttek létre.

Láthatjuk azt, hogy — a jelen kísérlet fiziológiai körülményei között — a négy hét folyamán általában a spórázás lassan emelkedik. Egyes esetekben azonban az emelkedés ugrásszerűen játszódik le, a végleges spórázási százalék már az első héten kialakul. Ez azt mutatja, hogy spórázás szempontjából törzseink heterogének.

A törzsek között vannak olyanok, melyek előspóráztatás után spóráztak, — egyébként nem : Tokaj 8 gyengén, Csombord 6 gyengén, Ménes 3 gyengén. Vannak viszont olyanok is, amelyek csak előspóráztató nélkül spóráztak : Tokaj 5 gyengén, Tokaj 13, Magyarád 1 erősen, Mór 1 gyengén.

Általában legerősebben spóráztak : I. Tokaj 15 (anaer. 70%). II. Tokaj 22 (anaer. 67%). III. Pécs 3 (anaer. 58,7%). IV. Tokaj 10 (aer. 55%). V. Balatonfüred 2 (anaer. 50,8%).

A fermentatív életmód felé hajló, tehát erjesztéscsereanyagcseretípusú (azaz erősen és gyorsan erjesztő és gyengén légző) törzsek előspóráztatással nem, vagy csak gyengén spóráznak (pl.: Tokaj 5, Tokaj 13, Magyarád 1, Ménes 1, stb.). Természetesen ezeknél az anaerob módon lefolyt spórázás sem ugrik ki. A borélesztők legnagyobb része így is, úgy is aránylag jól spórázik.

A gyűjteményben szereplő és régebben begyűjtött magyar borélesztőtörzsek spórázása és a kontrollként alkalmazott frissen izolált Balatonfüred S és Balatonfüred X spórázása között lényeges különbség nem mutatkozott, és a magyar borélesztőkön semmi morfológiai elfajulás nem észlelhető.

Más az eset a gyűjteményben szereplő külföldi eredetű rasszoknál. Bár ezeknél is csak azok a konfigurációk vannak, mint a magyar borélesztőkénél, mégis ezek nem oly világosan szembetűnők, mert az aszkuszfal vékony, és a mikrotechnikai festési eljárás során nagyrésztben tönkremegy. De elvékonyult a magyar borélesztőkhöz viszonyítva a spórák fala is, és erősen csökken a festékvisszatartó képességük. A spórák alakja, szemben a magyar borélesztők szabályosan gömbalakú spóráival, deformált, ellipszoid, vagy csepp alakú.

Bevontam a vizsgálatokba a Balatonfüred 2 adapt. 1 és a Balatonfüred 2 adapt. 2 törzseket, mint a Balatonfüred 2 törzs alkoholhoz rövidebb és huzamosabb ideig szoktatott változatait is (CSIK, PAZONYI, ZSOLT 1951 a).

A spórázásnál az eredeti Balatonfüred 2-höz viszonyítva, a Balatonfüred 2 adapt. 1 az oxidatív életmód esetén erősen visszaesett, s az első héten 25%-kal kisebb a spórázási százaléka. Ez a további hetek folyamán eléri az eredeti törzs szintjét. Anaerob kezdet esetében az eredeti törzshöz viszonyítva viszont 20%-os emelkedés mutatkozott a spórázásnál, és ez állandónak bizonyult.

A különbség még szembetűnőbben látszik az alkoholhoz huzamosabb ideig adaptált Bf. 2 adapt. 2-nél. Itt az aerob kezdet esetén 68%-os a csökkenés az eredetihez viszonyított spóraszámában, és azt a 4. héten is csak 20%-ra közelíti meg. Anaerob kezdetnél viszont a Bf. 1 adapt. 1-el egyértékű spórázása, tehát az eredeti törzssel szemben 20%-kal magasabb.

Nyilvánvalóan látszik, hogy az alkoholhoz szoktatott törzseknél az oxidatív élet a spórázást visszaveti a jelen kísérlet fiziológiai körülményei között — összehasonlítva olyan törzssel, — amely anaerob környezetből egyenesen spóráztatásra kényszerült.

A táblázat két utolsó oszlopa azt tünteti fel, hogy az aszkuszokban lévő spóra-kombinációkból az egyes törzseknél melyek fordulnak elő. A már elmondottakon kívül azt állapíthatjuk meg ezzel kapcsolatban, hogy az

alkalmazott fiziológiai faktorok ellenére ugyanazon törzsnél ugyanazon konfigurációkat találtuk a lefolytatott kísérlet körülményei között. Szembeszökő azonban az, hogy előspórátatás alkalmazása esetében sokkal több a magasabb spóraszámot tartalmazó aszkusz. — A magyarázat kézenfekvő. Azok az élesztők, amelyek az előspórátató táplálékdús felszínén szaporodtak, több táplálékhoz juthattak, mint a másik sorozatnál az olaj alatt tengődők. Több plazma- és tartaléktápanyaggal rendelkezvén, egy sejtől könnyebben képződhetett magasabb spóraszámú aszkusz. Nem lehetetlen azonban az sem, hogy az előspórátatóban lévő paradicsomlé valamelyik hatóanyaga (CSIK PAZONYI, ZSOLT 1951 b) hatott így, vagy az említett két faktor közös hatása okozta az észlelhető különbséget.

Eddigi vizsgálataim alapján arra nem tudok még magyarázatot adni, hogy kísérletem fiziológiai körülményei között az előspórátatás miért emelte az aszkuszokban lévő spóraszámot és miért nem emelte maguknak az aszkuszoknak a vegetatív sejtekhez viszonyított számát?

Megszámoltam és százalékoltam az aszkuszokban lévő spóraszámok egymás közti arányát is a négy hét folyamán. Az ezt feltüntető részletes kimutatást technikai okok miatt nem közölhetem. A végeredmény az, hogy a spóraszámban általában nem nagy az ingadozás, de az első hetekben inkább nagyobb spóraszámú aszkuszok, a kísérlet utolsó hetében pedig szinte kizárólag csak alacsonyabb spóraszámú aszkuszok keletkeztek. Az arányok eltolódásából tűnt ez ki világosan. A magyarázat itt is kézenfekvő, mert hisz tudjuk, hogy a később spórázó sejtek számára a felszínen az amúgy is kevés táplálék is és a víz is rohamosan csökkenő mennyiségben áll rendelkezésre.

Összefoglalás

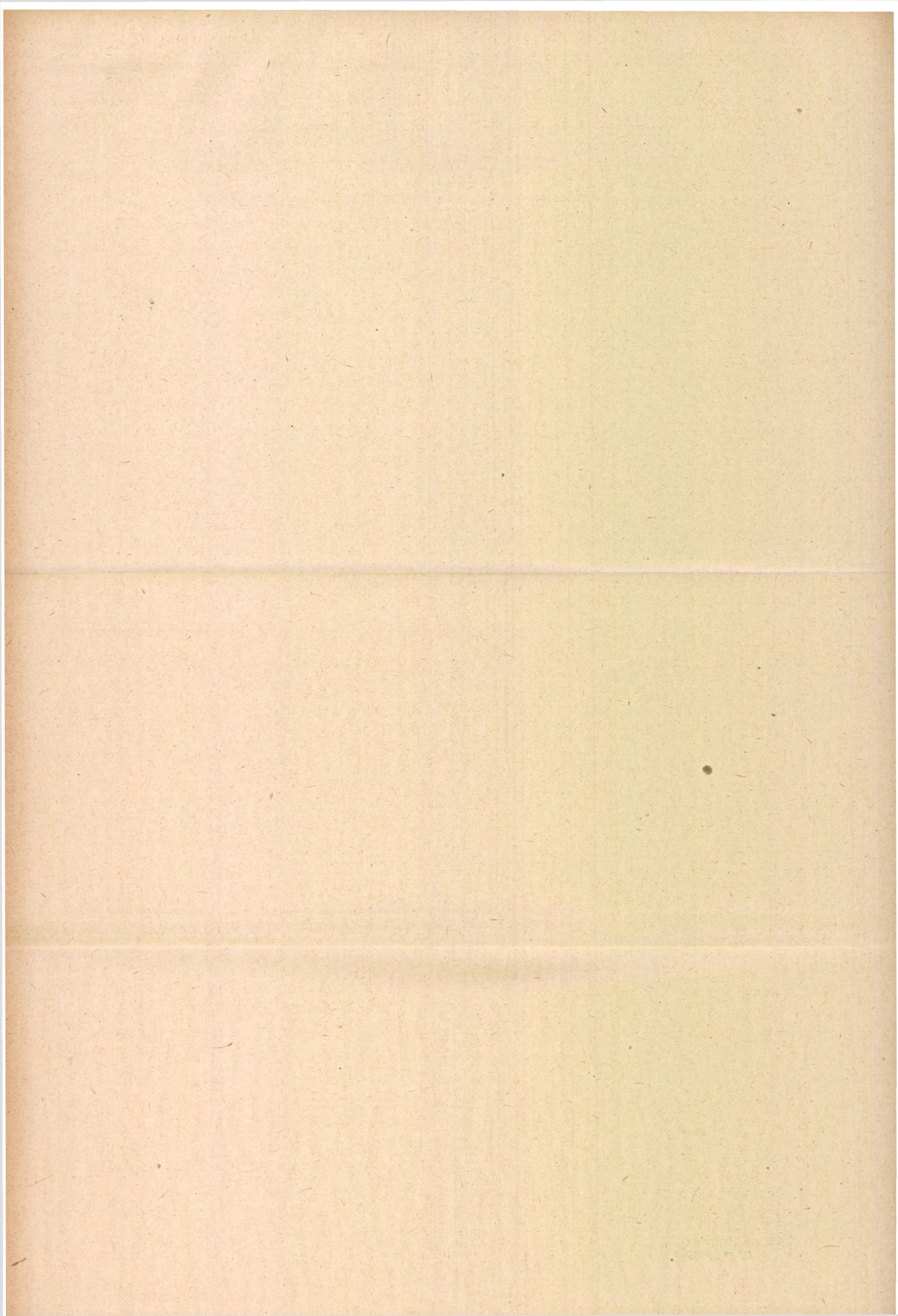
Spórátatási vizsgálatokat végeztünk 75 magyarországi és 15 külföldi eredetű borélesztőn. A hazai élesztők 1901 óta vannak gyűjtve, a külföldi élesztőtörzsek zöme még a múlt század utolsó évtizedében került a gyűjteménybe.

Bevontunk a vizsgálatokba két frissen begyűjtött borélesztőtörzset és két — alkoholhoz huzamosabban adaptált — törzset is.

Megállapítottuk, hogy a magyar élesztőtörzsek közül 7 aszkospórát nem képez. A külföldiek közül 1 anazkosporogén van. A képzett aszkuszokban 1 (jele : e), 2 (jele : k), 3 egysoros (jele : h), 3 háromszög alakban elhelyezkedő (jele : hh), 4 egysoros (jele : n) 4 keresztalakban elhelyezkedő (jele : nk), 4 tetraéderelesen elhelyezkedő (jele : nt) spóra volt található. A magyar törzsek spórái mind gömbalakúak és síma felületűek. Az egyes törzsekre mindig ugyanazok a konfigurációk jellemzők.

Eddig nem spórázónak vélték a következő sporogén törzseket : Mór 1, Somlyó 1, Gyöngyös-Visonta 2, Heves 2, Tokaj 4, Tokaj 13, Tokaj 22 ; Soós—ÁSVÁNYnak gipsztömbön spórázott, nekünk nem : a Kecskemét 6 törzs.

A vizsgálatba bevont külföldi törzsek is a fenti konfigurációkat mutatták, de ezeken degenerációs jelenségként aszkusz- és spórafal elvékonyodást, aszkusz- és spóra-alakeltorzulást, rossz festődőképességet észleltünk.



A spórátzatást úgy végeztük, hogy a steril paraffinolaj alatt tartott törzsekből paradicsomleves, glukózos előspórátató táptalajra oltottunk, majd egy hét múlva erről vittük törzseinket a nátriumacetátos spórátató ágárra. Ez utóbbi mozzanattal egyidejűleg ugyanabból a kolóniából származó ugyanazon törzseket a steril paraffinolaj alól közvetlenül az acetátos táptalajra vittük. A vizsgálatok eredményeit a 2—3 ábra és a táblázat tüntetik fel.

1. Az anaerob nyugalmi állapotból való kiindulás esetén a sporogén magyar borélesztőknél az első héten 70%, a sporogén külföldi törzseknél a törzsek 86%-ban spórázóak. Előspórátatást alkalmazva a magyar törzseknél csak 57%, a külföldi törzseknél csak 64%-a spórázik.

2. Pár kivételtől eltekintve anaerob kezdet után az egyes törzseken belül a sejtek nagyobb százalékban spóráltak akkor, amikor előspórátatót nem alkalmaztunk. Ennek megfelelően ADAMS vizsgálatait a más anyagszeretűspú borélesztők túlnyomó részére nem alkalmazhatók.

3. Számbavéve az aszkuszokban lévő spórák számát, azt állapítottuk meg, hogy előspórátatást alkalmazva több magasabb spóraszámot tartalmazó aszkusz jött létre. Ennek oka a sejtek jobb táplálék-ellátása mellett a paradicsomlében lévő anyagok hatása is lehet.

4. Megállapítottuk, hogy a spórátatás első heteiben aránylag több magas spóraszámú aszkusz jön létre, mint a spórátatás végefelé, amikor is csaknem kizárólag egy- és kétspórás aszkuszok képződnek.

A nemrégiben gyűjteménybe hozott Balatonfüred S és Balatonfüred X jelzésű törzsek spórázása és a régebben gyűjteményben lévő magyar borélesztők spórázása között semmi különbséget nem észleltem.

Az általunk huzamosabb ideig alkoholhoz adaptált Balatonfüred 2 adapt. 1 jelzésű törzs az eredeti Balatonfüred 2 törzshöz viszonyítva aerob viszonyoknál az első héten 25%-kal kisebb spórázást ad. Anaerob kezdet esetében az eredeti törzshöz viszonyítva 20%-os emelkedés mutatkozott a spórázásban. A még huzamosabban adaptált Bf. 2. adapt. 2 jelzésű törzsnél aerob kezdet esetén az eredeti törzshöz viszonyítva 68%-os csökkenés mutatkozik. Anaerob kezdetnél viszont az eredeti törzsszel szemben szintén 20%-kal magasabb a spórázás.

Ebből a tényből is és más erjesztési kísérletekkel kapcsolatos megfigyeléseinkből is azt a következtetést vonjuk le, hogy összefüggés van az élesztők oxidatív, vagy fermentatív anyagszeretűspusa és spórázási képességük között.

IRODALOM

ADAMS, A. M. (1949): A convenient method of obtaining ascospores from bakers' yeast. *Canad Jour. Res. C.*, **27**. 179—189.

ÁSVÁNY Á., NYERGES P.-NÉ és ZSOLT J. (1949): A magyar borélesztők az Orsz. Magyar Szőlő—Borgazdasági Kísérleti Intézet Gyűjteményében. *Agrártudomány*, **1**. 134—135.

BEIJERINCK, M. W. (1898): Ueber Regeneration der Sporenbildung bei Alkohol-hefen, wo diese Function im Verschwinden begriffen ist. *Centralblatt f. Bakt.* II. Abt. **4**. 657—663, 721—730.

BOWHILL, TH. (1899): Zur bakteriologischen Technik. — Zur Kultur der Hefen auf Gypsflächen, etc. *Centralblatt f. Bakt.* II. Abt. **4**. 420—421.

CSIK L., PAZONYI B., ZSOLT J. (1951 a): Vizsgálatok egy magyar borélesztő alkoholadaptációjáról. *Annal. Biol. Tihany*. **20**. 257—263.

- CSIK L., PAZONYI B., ZSOLT J. (1951 b) : Légzési és erjesztési vizsgálatok a *Sacch. cerev. anamensis* élesztőgombán. *Annal. Biol. Tihany*. **20**. 240—256.
- ELION, E. (1951) : An improved Block for Spore Formation in Yeast. *Nature* **163**. 4287.1130.
- ENGEL, L. (1872) : Les ferments alcooliques. Thesis of the Faculty of Sciences. University of Paris Library.
- GORODKOVA, A. A. (1908) : Über das Verfahren rasch die Sporen von Hefepilzen zu gewinnen. *Bull. Jard. botan. St. Petersburg*. **3**. 163—170.
- HARTELIUS, V. and E. DITLEVSEN (1951) : The Cement Block, an Improved Block for Spore-formation in Yeast. *Nature* **163**. 385.
- KUDRJAVCEV, V. J. (1951) : A mikroorganizmusok folytonos szelekciója üzemből. *Mikrobiologija* **20**. 155—167.
- LINDEGREN, C. C. and G. LINDEGREN (1944) : Sporulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *The Botan. Gazette* **105**. 3. 304—316.
- McCLUNG, L. S. (1943) : On the staining of yeast spores. *Science* **98**. 159—160.
- MOSZIASVILI, G. I. (1951) : Mikroorganizmusok folyamatos szelektálása az üzemből. *Mikrobiologija* **20**. 452—453.
- MRAK, E. M., H. J. PHAFF, H. C. DOUGLAS (1942) : A sporulation stock medium for yeasts and other fungi. *Science* **96**. 432.
- NASTÜROFF, A. (1898) : Über die Sporenbildung der russischen Weinhefen. *Centralblatt f. Bakt.* II. Abt. **4**. 420—421.
- Soós I., ÁSVÁNY Á. (1950) : A magyar borerlesztők morfológiai és fiziológiai vizsgálata. *Szőlészeti Kutatóintézet Évkönyve* **10**. 255—291.
- STANTIAL, H. (1928) : The Sporulation of Yeasts *Trans. Roy. Soc. Can.* **22**. Sec. III. 257—261.
- STANTIAL, H. (1935) : The Sporulation of Yeasts : Second paper. *Ibid.* **29**. Sec. III. 175—188.
- SZILISCSENSZKAJA O. M. (1951) : Mikroorganizmusok folyamatos szelektálása az üzemből. *Mikrobiologija* **20**. 456—469.
- VESZELOV I. JA. (1951) : Üzemi mikroorganizmusok szelekciója és tenyésztése. *Mikrobiologija* **20**. 550—555.

СПОРООБРАЗОВАНИЕ У ВИНОГРАДНЫХ ДРОЖЖЕЙ

Пазони Б.

Выводы

В связи с спорообразованием дрожжей были проведены опыты на 75 венгерских и 15 зарубежных штаммах виноградных дрожжей. Отечественные дрожжи входят в коллекцию с 1901-го года, а большинство иностранных штаммов находится в коллекции еще с последнего десятилетия прошлого столетия.

В опыт были включены и два свежeweделенных штамма виноградных дрожжей и два штамма длительно адаптированные к спирту.

Установлено, что между венгерских штаммов 7 не образует аскоспоры. А между заграничных 1 штамм оказался аспорогенным. В образующихся асках были обнаружены : 1 однорядная (условный знак : e), 2 однорядные (усл. знак : k), 3 однорядные (усл. знак : h), 3 располагающиеся в виде треугольника (усл. знак : hh), 4 однорядные (усл. знак : n), 4 располагающиеся крестообразно (усл. знак : nk) и 4 располагающиеся тетраэдрически (усл. знак : nt) споры. Споры венгерских штаммов всегда шарообразные, с гладкой поверхностью. На отдельные штаммы характерны всегда те-же самые конфигурации.

До сих пор неспособными образовать споры считались следующие спорогенные штаммы : Мор 1, Шомй 1, Дьендеш—вишонта 2, Хевеш 2, Токай 4, Токай 13, Токай 22 ; штамм Кечкемет 6 на гипсовом блоке в опытах Шоош—Ашвань образовал споры, а в наших опытах не образовал.

Подопытные заграничные штаммы давали те-же конфигурации, но в качестве признака вырождения у них наблюдается утончение стенки и деформация формы аска и споры, а также и плохая способность к окрашиванию.

Образование спор осуществлялось таким образом, что из штаммов, выдерживанных под стерильным парафиновым маслом проводился пересев на питательную среду, состоя-

шую из томатного супа и глюкозы, а затем через неделю штаммы переносились на натрий-ацетатную агарную питательную среду. Одновременно происходящие из одной и той же колонии штаммы переносились из под стерильного парафинового масла непосредственно на ацетатную среду. Результаты экспериментов показаны на рис. 2. и 3. и на приложенной таблице.

1. В случае исхода из анаэробного состояния покоя, в течение первой недели 70% спорогенных венгерских виноградных дрожжей приступило к образованию спор, а между спорогенных заграничных штаммов — 86%. В случае применения предварительной споруляции, у венгерских штаммов наблюдалось только 57%-ое спорообразование, а у заграничных только 64%-ое.

2. Несмотря на несколько исключений, после анаэробного начала в пределах одного штамма больше клеток образовало споры в том случае, если не применялась предварительная споруляция. Соответственно этому, опыты Адамса не применимы к большинству виноградных дрожжей, обладающих иным типом обмена веществ.

3. При учете количества спор в одном аске было установлено, что в случае применения предварительной споруляции образовалось больше асков с повышенным количеством спор. Причиной этого — мимо лучшего распределения пищи — может явиться и влияние веществ, имеющих в томатном супе.

4. Установлено, что на первых неделях споруляции образуется относительно больше асков с повышенным числом спор, чем в конце, когда возникают почти исключительно одно и двух спорые аски.

Между спорообразованием штаммов Балатонфюред S и Балатонфюред X, недавно включенных в коллекцию, и между спорообразованием венгерских виноградных штаммов находящихся уже более давно в коллекции не наблюдается никакой разницы.

Адаптированный нами к спирту в течение довольно длительного времени штамм Балатонфюред 2 адапт. 1, по сравнению с оригинальным штаммом Балатонфюред 2 при аэробных условиях на протяжении первой недели образует на 25% меньше спор. При анаэробном начале по сравнению с оригинальным штаммом обнаруживалось 20%-ое повышение в образовании спор. У штамма BF 2. адапт. 2, адаптированного к спирту в течение еще более длительного времени, в случае аэробного начала наблюдается 68%-ое понижение к образованию спор по сравнению с оригинальным штаммом. При анаэробном же начале, у данного штамма также наблюдается 20%-ое повышение спорообразования по сравнению с оригинальным штаммом.

На основании этого факта и наблюдений в процессе проведенных бродильных опытов, сделано заключение, что существует связь между окислительным или ферментативным типом обмена веществ дрожжей и их способностью образовывать споры.

SPORULATION OF WINE YEASTS

B. PAZONYI

Summary

Sporulation investigations were made of 75 Hungarian and 15 foreign wine yeasts. The Hungarian yeasts have been collected since 1901; the bulk of the foreign strains have been in the collection since the last decade of the foregoing century.

Two newly collected wine yeast strains were brought under investigation; as well as two strains which were adapted to alcohol over a considerable period.

It was found that 7 of the Hungarian strains do not form ascospores. One among the foreign strains was also anascosporogenic. In the asci formed, the following spore groupings were to be found: single (e); 2 in a row (k); 3 in a row (h); 3 disposed triangularly (hh); 4 in a row (n); 4 in the form of a cross (nk); 4 in tetrahedral form (nt). The spores of the Hungarian strains were all spherical and smooth-surfaced. The same configurations were always characteristic.

The following sporogenic strains were hitherto supposed to be non-sporulating Mór 1, Somlyó 1, Gyöngyös-Visonta 2, Heves 2, Tokaj 4, Tokaj 13, Tokaj 22; strain Kecskemét 6 sporulated for Soós and Ásvány on gypsum block, but not for us.

The foreign strains investigated also showed the above configurations but signs of degeneration were observed in the form of thinning of ascus- and sporewalls, deformation of asci and spores, bad stainability.

Sporulation was carried out by inoculating from strains maintained under sterile paraffine oil on to a pre-sporulating culture media of tomato juice and glucose, then, a week later, transferring the strains to sodium-acetate sporulation agar. At the same time, samples from the same strains, deriving from the same colony were put under sterile paraffine oil directly on to an acetate medium. The results are shown in the accompanying *Figures 2—3* and *Table*.

1. When setting out from the anaerobic resting state, 70% of the sporogenic Hungarian wine yeasts sporulate during the first week, and of the foreign sporogenic strains 86%. When pre-sporulating medium is used only 57% of the Hungarian strains and 64% of the foreign sporulate.

2. With a few exceptions, using the anaerobic beginning, the cells of the different strains sporulated in higher percentages when pre-sporulations were not employed. Consequently Adam's methods are not suitable for the greater part of the other metabolic type of wine yeast.

3. As to the number of spores present in the asci, it was shown that the use of pre-sporulation produced more asci with a larger number of spores. The cause of this, aside from the cell's better supply of nourishment, may be the effect of substances present in the tomato juice.

4. It was found that during the first weeks of sporulation there were relatively more many-spored asci than towards the end, when almost exclusively one- and two-spored asci were formed.

No difference in sporulation could be observed between the Balaton-Füred S and Balaton-Füred X strains, which were recently added to the collection, and the older Hungarian wine yeasts in it.

The strain designated Bf 2 adapt. 1, adapted to alcohol over a considerable period, produced 25% less spores during the first week under aerobic conditions than the original Balaton-Füred 2 strain. When beginning anaerobically it showed a 20% rise in sporulation over the original strain. With an aerobic beginning the long-adapted Bf 2 adapt. 2 strain showed a 68% decrease as compared with the original strain. With anaerobic beginning, on the other hand, its sporulation was also 20% higher than the original strain.

From this fact and from other observations made during fermentation experiments, the conclusion is drawn that there is a correlation between the oxidative, or fermentative metabolic type and sporulation capacity.