

7. Kvasinky - obecná charakteristika, morfologie, rozmnožování

8. Kvasinky - významné rody a druhy

Jsou to eukaryotické heterotrofní mikroorganismy.

Botanicky je řadíme mezi houby - vzhledem k jejich velikosti mezi mikromycety (mikroskopické houby) spolu s plísněmi.

Své české jméno dostaly podle schopnosti zkvašovat mono-, di-, nebo trisacharidy na ethanol a CO₂.

Kvasinky jsou většinou jednobuněčné organismy rozmnožující se pučením nebo dělením. Na pevných médiích tvoří kolonie a askospory.

O kvasinkovitých mikroorganismech hovoříme v případě pokud se kromě jednotlivých pučících buněk vytváří i vlákna (pravé a nepravé hyfy), které zpravidla netvoří vřečka.

Morfologie kvasinek

Tvar buněk je v přímé souvislosti s vegetativním rozmnožováním - **pučením** nebo **dělením**. Nejčastější tvar kvasinek je vejčitý, elipsoidní nebo kulovitý. Vyskytují se ale i kvasinky s buňkami dlouze protáhlými, citronkovitými, válcovitými nebo trojúhelníkovitými. Tvar buněk nebývá stálý a v čisté kultuře kolísá v závislosti na stáří kultury a kultivačním prostředí.

Velikost buněk se pohybuje v rozmezí 3-6 x 3-15 μm.

Některé kvasinky vytvářejí protáhlé buňky, které pučí pouze na pólech a zůstávají pak spojeny v dlouhá vlákna - **pseudomycelium**. V určitých místech pseudomycelia vznikají svazky kratších elipsoidních buněk - **blastospor**.

U jiných se tvoří **pravé mycelium** - vzniká příčným dělením protáhlých buněk a i zde vznikají blastospory.

Tvorba mycelia a pseudomycelia je charakteristická po rody se silným aerobním metabolismem (**Endomycopsis**, **Sporobolomyces**, **Candida**) nebo u tzv. R-mutantů (rough - drsný) tvořících drsné kolonie, které mají zvýšený aerobní metabolismus.

Pučení na široké základně je přechodem mezi pučením a dělením typické pro rod **Saccharomyces**.

Balistospory - exospory, tvořené některými kvasinkami, které vyrůstají na tenkých stopkách a jsou z nich zvláštním kapalinovým mechanismem odmršťovány.

Buňku kvasinky tvoří: Buněčná stěna polysacharidové povahy (80%) doplněná bílkovinami (6-10%), lipidy a fosfolipidy (3-10%) a fosforečnany. Nese **jizvy po pučení**, jejich počet se pohybuje mezi 9-43 (nejčastěji 15-24) a lze podle nich určit stáří kvasinky.

Jizva zrodu - místo kde byla kvasinka spojena s mateřskou buňkou.

Cytoplasmatická membrána, cytoplazma, vakuoly, ribozomy, mitochondrie, Golgiho aparát, jádro a jadérko.

Kvasinky vyžadují pro svůj růst kyslík, mají ale schopnost změnit metabolismus za anaerobních podmínek na fermentační a při silně omezeném růstu buněčné hmoty produkovat ethanol a CO₂.

Rostou v širokém rozmezí pH 3-11, teplot 0-45°C. Některé druhy rostou i při -10°C a hodnotách pH až 1,5.

Některé druhy jsou osmotolerantní.

Většina má nízkou teplotní odolnost usmrcuje je 2-5 minutové zahřívání na 56°C, spory jsou nepatrně odolnější.

Kvasinky nejsou taxonomicky jednotná skupina.

Podle způsobu pohlavního rozmnožování dělíme kvasinky do několika skupin

Rody tvořící askospory - řadíme je mezi **Ascomycotina** - do třídy **Hemiascomycetes** a řádu **Endomycetales**

Rody tvořící bazidiospory nebo sporidie a heterokaryotní mycelium s přezkami - řadíme mezi **Basidiomycotina**

Rody u nichž neznáme tvorbu pohlavních spor řadíme mezi **Deuteromycotina**. Dříve byly označovány jako nepravé kvasinky nebo kvasinkovité mikroorganismy.

Sporotvorné kvasinky nazýváme **pravými kvasinkami**. Někteří příslušníci této skupiny ztratily schopnost spájení jsou tedy **nedokonalými (imperfektními) stádii dokonalých (perfektních) kvasinek**. Mají spolu společné morfologické, fyziologické i biochemické vlastnosti, pouze taxonomické zařazení zůstalo zachováno.

Pohlavní rozmnožování kvasinek

Výsledkem pohlavního rozmnožování jsou pohlavní spory:

Askospory - endospory umístěné v asku (vřecku)

Exospory - umístěné vně sporotvorných buněk

Pohlavní rozmnožování je charakterizováno **konjugací (spájením)** dvou haploidních buněk a jejich jader (karyogamií) za vzniku diploidního jádra, které se pak meiózou dělí na čtyři haploidní jádra - základ pohlavních spor, nebo se dělí mitózou, pak teprve vznikají spory.

Izogamní spájení - spájení stejně velkých buněk (**Saccharomyces**)

Heterogamní spájení - spájení nestejně velkých buněk.

Rody tvořící askospory

Zahrnují několik skupin podle vegetativního rozmnožování

Vegetativní rozmnožování multilaterálním pučením *Saccharomyces*

Druhy kvasinek tohoto rodu jsou schopny zkvašovat většinou několik cukrů, nikdy ale nevyužívají laktosu jako zdroj uhlíku a NO_3^- jako zdroj dusíku. Jsou většinou krátce elipsoidní, vejčité nebo protáhlé, spájení je izogamní, askospory jsou kulovité až elipsoidní v asku po 1-4.

Saccharomyces cerevisiae

Technologicky nejdůležitější kvasinka.

Tvar buněk je kulovitý až oválný, pro starší buňky je charakteristická zřetelná ostře ohraničená vakuola. Velikost 6-7 x 7,5-8,7 μm . Zkvašuje glukosu, galaktosu, sacharosu, maltosu a částečně nebo úplně rafinosu.

Vzhled a konzistence kolonií: ***S. cerevisiae* subsp. *cerevisiae***- nátěr je těstovitý, krémový, světle hnědý, hladký, lesklý, ale může být i skládaný, kráterovitý, drsný, kučeravý. ***S. cerevisiae* subsp. *uvarum***- nátěr je těstovitý, krémový, hladký. Nikdy není drsný ani kučeravý. Obrovské kolonie rostou pomaleji než ***S. cerevisiae* subsp. *cerevisiae*** a dosahují i menších rozměrů. Prorůstají často do výšky.

Charakter nárůstu v kapalném mediu: ***S. cerevisiae* subsp. *cerevisiae*** - v kapalinách tvoří sediment a při okrajích prstenec, po delším čase se může vytvořit i tenká mázdra. ***S. cerevisiae* subsp. *uvarum***- v kapalných prostředích vytváří sediment, po delším čase mohou vytvořit prstenec. Mázdra se nevytváří.

Vinařské kmeny mají protáhlejší tvar, dříve byly označovány jako samostatná varieta ***S. cerevisiae* var. *elipsoideus***.

Je to pивní, vinná, lihovarnická a pekařská kvasinka, v jednotlivých odvětvích se využívají speciální kmeny, které vyhovují příslušným podmínkám. Je modelovým organismem pro biochemické a genetické práce.

Největší praktický význam má schopnost anaerobně zkvašovat hexosy na ethanol a CO_2 .



Teoretický výtěžek ethanolu je 51,1%.

Za aerobních podmínek (respirace) vzniká vedle ethanolu oxid uhličitý a voda a energetický zisk je mnohem větší.



Kmeny pro výrobu pekařského droždí a pivovarské vyžadují vyrovnanost tvaru, velikosti buněk a stálost technologických vlastností. Většinou byly vyselektovány polyploidní (nejčastěji triploidní) nebo aneuploidní buňky, které mají v důsledku nadbytečných chromozomů porušený průběh meiózy.

Pekařské droždí se připravuje aerobní fermentací okyselených melasových zápar přiživěných amonnými solemi a fosfátem. Zápary se provzdušňují sterilním stlačeným vzduchem přiváděným ke dnu kvasných tanků a aerobní metabolismus je zajištěn opakovanými přítoky melasové zápary. Buňky se rozmnožují za nízké koncentrace cukrů v prostředí. I při tomto procesu se následkem částečné hexosové represe dýchání produkuje určité množství ethanolu.

Kmeny pivovarských kvasinek

Svrchní pivovarské kvasinky

Velmi podobné pekařským kvasinkám. Většinou nemají enzym melibiasu - trisacharid rafinosu fermentují z 1/3 - pomocí invertasy odštěpují fruktosu, kterou zkvašují. Disacharid melibiosu, který pak vzniká neumí rozložit. Kvašení probíhá za vyšších teplot, nad 15°C (20-25°C), buňky jsou po proběhnutí kvašení vynášeny na povrch fermentační kapaliny (mladiny). Anglická piva.

Spodní pivovarské kvasinky

Kvašení probíhá při 6-10°C a trvá déle, pH mladiny 4,2-5,6 , koncentrace zkvasitelných cukrů 11-12% extraktu, při pomnožování vyžadují aerobní podmínky (vzdušnění) při kvašení a dokvašování vyžadují anaerobní podmínky, po prokvašení klesají kvasinky na dno kvasných nádob. Rafinosu zkvašují úplně. Piva vyrobená spodním kvašením mají delší trvanlivost než piva svrchně kvašená.

Dříve se tyto kvasinky označovaly jako *S. uvarum*, ještě dříve jako *S. Carlsbergensis*. Česká piva.

Saccharomyces exiguus

Fermentuje glukosu, galaktosu, sacharosu, vyskytují se na ovoci, ovocných výrobcích, v limonádách, fermentovaných nápojích lahůdkách aj.

Zygosaccharomyces

Osmotolerantní kvasinky, v prostředí snesou i 50% glukosy. Buňky mohou tvořit pseudomycelium. Vyštěpily se z rodu *Saccharomyces*.

Bývají příčinou kažení medu, čokolád a čokoládových cukrovinek.

Zygosaccharomyces bisporus - významně fermentuje glukosu, působí kvašení medu a sirupů za vzniku pěny.

Zygosaccharomyces bailii (dříve ***Saccharomyces. bailii***) - vyskytuje se na potravinách s obsahem cukru nad 5%, marcipánu. Snáší nízké teploty a nízké pH. Snáší i poměrně vysoké koncentrace ethanolu a SO₂. Je kontaminantem ve vinařství (tvorba křísu v láhvovaném víně)

Kluyveromyces

K. marxianus var. marxianus (dříve ***K. marxianus*** a ***K. fragilis***) - Na kapalinách vytváří mázdru nebo kožku.

K. marxianus var. lactis (dříve ***K. lactis***)

Obě fermentují laktosu. Jsou složkou kefírových zrn (konglomerát kvasinek a bakterií) používaných při výrobě kefiru. ***K. marxianus var. lactis*** se používá k výrobě krmných kvasnic (pěstuje se na syrovárce)

Pichia

Rod s nízkou kvasnou schopností. Na tekutých substrátech tvoří křísy bílé barvy a moučnatého vzhledu. Z cukrů vzniká kys. octová. Org. kyseliny tvoří s alkoholy estery, které mohou působit nepříjemnou chuť a pach kontaminovaného produktu. Častý průvodce pivních kvasinek. Jsou nežádoucím kontaminantem piva, vína, ovocných šťáv, kysaného zelí.

-*Pichia membranaefaciens*

Hansenula

Od rodu ***Pichia*** se liší schopností využívat dusičnan. Fermentují cukry, tvoří kyseliny a estery. Jsou křísotvorné. Lehce sporulují i v křísu. V přírodě jsou velmi rozšířené, kontaminující kvasinky v potravinářském průmyslu, způsobují zákaly piva a nežádoucí chuťové změny kontaminovaných potravin tvorbou esterů. Vyskytují se i psychofilní druhy.

Yarrowia

Je tvořen druhem ***Yarrowia lipolytica*** (dříve ***Candida lipolytica*** nebo ***Saccharomyces lipolytica***) Nemá fermentační schopnosti, ale může štěpit tuky. Tento druh byl úspěšně použit pro produkci biomasy z n-alkanů ropy pro krmivářské účely a k biotechnologickému čištění ropy.

Debaryomyces

Je typický heterogenním spájením (izogamní se také vyskytuje),

kvasné schopnosti jsou velmi slabé, někdy úplně chybí. Většina druhů roste dobře v přítomnosti 50% glukosy.

Debaryomyces hansenii - křís bělavé barvy. Fermentuje slabě. Vyskytuje se na mléčných výrobcích, mase, výr. studené kuchyně, na pokožce lidí a zvířat, na fermentovaném tabáku.

Zvláštní kmen bývá složkou kultur tepelně neopracovaných masných výrobků pro jeho schopnost snižovat redoxpotenciál, štěpit tuky a přispívat k tvorbě aroma a stabilizovat jejich zbarvení.

Saccharomycopsis

Saccharomycopsis fibuligera - křídovitá plíseň chleba.

Lipomyces

Nematospora

Metschnikowia - některé druhy jsou parazity obratlovců, některé se se vyskytují na rostlinách a ovoci.

Metschnikowia pulcherina - Čerstvé izoláty často tvoří purpurově červené (barva burgundského vína) kolonie - barvivo pulcherimin, které se uvolňuje i do média. Slabě fermentuje. Vyskytuje se na ovoci (třešně, rybíz) a v ovocných šťávách.

Dekkera - vyskytuje se při dodatečném kvašení některých alkoholických nápojů (vysokostupňová tmavá i světlá piva). Působí zhoršení chuti vín a ovocných šťáv.

Vegetativní pučení na široké základně

Saccharomycodes

Tento rod se vyznačuje silnými fermentačními schopnostmi. Buňky jsou dlouze citronkovité. Některé askospory kopulují přímo v asku.

Saccharomycodes ludwigii - vyskytuje se na ovoci, účastní se spontánního kvašení vína i po zasíření, dobře snáší nízký redoxpotenciál. V kvasném průmyslu působí nežádoucí kontaminace.

Nadsonia

Wickerhamia

Wickerhamia fluorescens - množí se v přítomnosti 50% glukosy, na tuhých živných půdách může do prostředí uvolňovat riboflavin.

Hanseniospora (imperfektní stádium rodu *Kloeckera*)

Vyznačuje se bipolárním pučením. Účastní se rozkvášení moštu. Vytváří málo alkoholu a způsobuje nedobrou chuť vína.

Hanseniospora uvarum - vyskytuje se v ovocných šťávách a hroznovém moštu.

Vegetativní rozmnožování dělením

Schizosaccharomyces

Rozmnožuje se dělením (septy), netvoří přitom mycelium. Buňky jsou obdélníkové. Má silnou fermentovací schopnost. Vyskytují se v melase, marmeládách, moštu, prosné kaši.

Schizosaccharomyces octosporus

Schizosaccharomyces pombe

V Africe se používá na přípravu alkoholického nápoje z prosa - POMBE. V Africe a na Jávě se používá v pivovarech. Ve vinařství slouží k odkyselování vín, využívá přítomnou kys. jablečnou. Má zvláštní detoxikační mechanismus proti těžkým kovům (Cd, Cu). V prostředí s těmito kovy indukuje tvorbu dvou peptidů, které vážou ionty uvedených kovů. Slouží jako modelový organismus v genetice.

Tvorbou přepážek se množí také rody produkující velké množství mycelia (jsou vlastně přechodem mezi kvasinkami a plísněmi). Mají převážně aerobní metabolismus a slabé nebo žádné kvasné schopnosti.

Vyskytují se u nich většinou blastospory (rod *Endomycopsis*)

Rody *Eremothecium* a *Ashbya* jsou rostlinní parazité. Některé kmeny těchto rodů lze použít pro kvasnou výrobu vitamínu B₂ ježž exkretují z buněk.

Bazidiomycetní kvasinky

Bývají sem řazeny kvasinky tvořící bazidiospory na protáhlých bazidiích (č. *Filobasidiaceae*), dále kvasinky tvořící teliospory z nichž pučí promycelium (metabazidium) nesoucí sporidie. Bývají sem přiřazována i stádia některých vyšších bazidiomycet. Vegetativní rozmnožování probíhá u všech zástupců pučením. Pro sexuální cyklus je charakteristické heterokaryotní mycelium s přezkami.

a) č. *Filobasidiaceae*

Filobasidium (perfektní stádium rodu *Cryptococcus*)

Na polokulovitém konci bazidie se tvoří 8 přisedlých elipsoidních nebo zašpičatělých spor.

Filobasidiella

Patogenní rod

F. neoformans s kulovitými bazidiosporami a **F. bacillispora** s tyčinkovitými sporami dříve označované jako **Cryptococcus neoformans** mohou napadat tkáň lidí a zvířat (mozková tkáň, poraněné kosti) a působit onemocnění často končící smrtí. Často se vyskytují v suchém ptačím trusu (holubí) odtud se dostávají do vzduchu. Infekční cesta je vdechováním.

b) Rody tvořící sporidie

Jsou zde oxidační typy kvasinek bez kvasných schopností

Rhodosporidium (perfektní stádium rodu **Rhodotorula**)

Tvoří oranžové až růžové kolonie - způsobeno karotenoidními barvivy.

c) Rody tvořící balistospory

Sporidiobolus (perfektní stádium rodu **Sporobolomyces**) Tvoří růžově zbarvené kolonie, Tvoří vegetativní spory - balistospory.

Balistospory tvoří také rody **Sporobolomyces** vytvářející velké množství pseudomycelia i pravého mycelia a produkující karotenoidní barviva a **Bullera** (tento rod netvoří barviva).

Rody u nichž není známa tvorba pohlavních spor

Tyto rody se někdy nazývají **nepřavými kvasinkami** nebo **kvasinkovitými mikroorganismy**.

Candida

Zahrnuje druhy nekvasící i s kvasnými schopnostmi. Rozmnožují se multilaterálním pučením, ve vhodných půdách tvoří pseudomycelium až pravé mycelium

Candida tropicalis - Kulovité nebo mírně elipsoidní buňky, mezi nimi se však nachází i cylindrické a protáhnuté buňky jako články pseudomycelia. Nejčastěji však **C. tropicalis** vytváří jen pseudomycelium s protáhlými články a jednotlivými blastokonidii nebo blastokonidii v krátkých řetězcích.

C. tropicalis se zařazuje mezi patogenní kvasinky. Nejčastěji se však vyskytuje jako všeobecný kmen v ústech, trávicím ústrojí, v plicích, ve vagíně, na pokožce lidí a zvířat. Velmi často se vyskytuje v kvasném průmyslu. Svojí houževnatostí a malou náročností na podmínky výživy vytlačuje často z fermentačního

procesu jiné kvasinky. Používá se na výrobu krmného droždí z netradičních substrátů, často pod jinými názvy (např. **C.kefyr**, **C.murmanica** atd.), čímž se zastírají její vlastnosti oportunního patogenu.

Je to druh velmi podobný **C.albicans**. Liší se tím, že **C.tropicalis** nevytváří chlamydospory (alespoň ne takového typu jako **C.albicans**) a že zkvašuje sacharosu.

Candida albicans - vyskytuje se na ovoci, rostlinných materiálech, v prachu, ve vzduchu a ve vodě. Významný patogen - kandidózy pokožky a nehtů, může napadat i vnitřní orgány a působit vážná i smrtelná onemocnění. Zvláště ohrožení jsou lidé pracující s půdou (zahradníci) a s ovocem a cukernými nálevy (v konzervárnách).

Candida utilis - výroba krmného droždí, je obávaným kontaminantem pekařského droždí.

Candida kefyr - (imperfektní stádium *Kluyveromyces marxianus*) zkvašuje i laktosu.

Kloeckera (nesporulující forma rodu **Hanseniospora**)

Snáší velmi kyselé prostředí - výskyt na nezralých hroznech a v půdě vinic.

Malassezia (dříve **Pityrosporum**) - za určitých podmínek patogen (na pokožce nohou, vlasatých částech hlavy, aj.). Běžný kontaminant kůže zdravých lidí. Škodí při výrobě olivového oleje.

Brettanomyces (nesporulující forma rodu **Dekkera**) - kontaminace kvašených nápojů (pivo, víno, cidr). Tvoří velké množství octové kyseliny. Kvašení u nich stimuluje plynný kyslík (Custersův efekt).

Rhodotorula - tvoří barevné růžové až oranžové kolonie (karotenoidní barviva). Netvoří křís v kapalinách ale usazeninu, někdy ve vodě tvoří sliz. Velmi rozšířená - půda, voda, vzduch, potraviny, nápoje.

Rh.glutinis je nejrozšířenější druh **Rhodotoruly** v přírodě. Jsou to ubikvitné kvasinky rozšířené po celém světě. Dají se izolovat ze vzduchu, půdy, sladké i slané vody, z vinařských provozů, z povrchu rostlin, ale i z různých orgánů živočišného těla. Všechny druhy rodu **Rhodotorula** jsou lipidotvorné, hromadí v buňkách tuk - za určitých podmínek až nadměrné množství. S tím souvisí schopnost produkovat lipasy, využívat n-alkany aj. **Rh.glutinis** byla modelem na zkoumání transportu látek - hlavně pentóz - přes cytoplazmatickou membránu.

Sporobolomyces

Nemá kvasné schopnosti, tvoří žluté až růžové kolonie. Vyskytuje se na listech rostlin a s nimi se dostává do vody.

Geotrichum (nesporulující forma perfektního stádia **Galactomyces geotrichum**)

Přechod mezi kvasinkami a plísněmi.

Geotrichum candidum (dříve **Oidium lactis**) - Enzymaticky velmi aktivní, rozkládá tuky, sacharidy i bílkoviny. Na mléce a ml. výrobkách tvoří chlupatý povlak měnící se později na slizovitý žlutavě zbarvený.

Je to houba rozšířená ubikvitně, provází člověka i zvířata v každé činnosti. Vyskytuje se v mléčných výrobcích, mléku, smetaně, tvarohu, sýru, na starším droždí, na zkysané kapustě a okurkách, ale i v půdě, ve vodě, v aktivovaných kalech z odpadních vod, z odpadu po zpracování mořských ryb apod.

Je to obyčejný saprofyt, ale může se vyvinout pro člověka až na sekundárního patogena. Často provází kandidy při vaginálních mykózách, bronchopneumoniích a dermatomykózách.

Je to lipolytická kvasinka, vhodná například na využití odpadních produktů ze zpracování tučných ryb a tučných mléčných produktů, na neutralizaci zápar z rafinace olejů.