

# Wzrost i aktywność fermentacyjna drożdży *Saccharomyces cerevisiae* w obecności toksyny killerowej

Ewa Drewicz

Dorota Kręgiel

Helena Oberman

Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii

Politechnika Łódzka

Łódź

## 1. Wprowadzenie

Czynnik killerowy jest szeroko rozpowszechniony wśród różnych rodzajów drożdży. Jego obecność stwierdzono u przedstawicieli rodzajów *Saccharomyces*, *Candida*, *Debaromyces*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Kloeckera* i innych (1-3). Szczepy produkujące toksynę killerową są najczęściej odporne na toksynę wytwarzaną przez siebie (fenotyp K<sup>+</sup> R<sup>+</sup>). Natomiast toksyna wykazuje działanie bójcze w stosunku do wrażliwych na nią szczepów drożdży (fenotyp K<sup>-</sup> R<sup>-</sup>), co może być łatwo wykryte przez tworzenie stref zahamowania wzrostu drożdży wrażliwych wokół kolonii drożdży killerowych (4,5).

Występuje wiele typów toksyn szczepów killerowych, różniących się nie tylko spektrum aktywności bójczej w stosunku do szczepów wrażliwych, ale także wzajemną aktywnością bójczą, mechanizmem produkcji białka killerowego, genetycznym uwarunkowaniem czynnika killerowego oraz mechanizmem oporności na swoją własną toksynę. Białka killerowe produkowane przez szczepy należące do jednego rodzaju bywają aktywne bójczo przeciwko szczepom tego samego rodzaju, lecz mogą być także aktywne wobec przedstawicieli innych rodzajów (2,6,7).

Różne typy toksyn killerowych są białkami zewnątrzkomórkowymi, różnią się od siebie optymalnym pH ich aktywności toksycznej, oraz stabilnością temperaturową. Zjawisko killerowe najlepiej poznane zostało dla drożdży *Saccharomyces* sp., u których wykryto 3 rodzaje toksyn oznaczone jako K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub> i K<sub>3</sub>, z których dokładnie zbadano i opisano dwa pierwsze typy. Dojrzała toksyna K<sub>1</sub> jest stabilna w temperaturze od 18 do 25°C i w wąskim przedziale pH środowiska (4,6-4,9). Optymalne pH dla bójczej aktywności toksyny typu K<sub>2</sub> mieści się w przedziale od 2,9 do 4,9, a optymalna temperatura

działania wynosi około 30°C. Toksyna K1 jest białkiem o masie 20,6 kDa zawierającym dwa łańcuchy polipeptydowe ( $\alpha$  i  $\beta$ ) połączone trzema wiązaniami -S-S-. U *Saccharomyces cerevisiae* produkcja toksyny killerowej (fenotyp K<sup>+</sup>R<sup>+</sup>) i oporność na nią uwarunkowana jest występowaniem podwójnego łańcucha RNA (dsRNA) występującego w dwóch typach M-dsRNA i L-dsRNA, zorganizowanego w cząsteczkę wirusopodobną zlokalizowaną w cytozolu.

Działanie toksyny K<sub>1</sub> przebiega w dwóch etapach. W pierwszym następuje szybkie wiązanie toksyny do receptorów w ścianie komórkowej zawierających 1,6- $\beta$ -D-glukan jako główny składnik. Ten etap przebiega bez dostarczenia energii i jest odwracalny. W następnym etapie transmisja toksyny do membran cytoplazmatycznych wymaga energii oraz odpowiednich receptorów w błonach cytoplazmatycznych, które są zinaktywowane u szczepów killerowych opornych na swoją własną toksynę. Białko killerowe działa destrukcyjnie na membrany cytoplazmatyczne powodując niszczenie ich normalnego stanu elektrolitycznego poprzez zachwianie transportu protonów i aminokwasów. W konsekwencji następują zmiany przepuszczalności membran komórkowych, tworzą się pory, przez które wypływają jony potasu i sodu, zachodzi wyciek metabolitów, molekuł zawierających ATP, zmienia się stan energetyczny membran komórki, co prowadzi do śmierci komórki bez jej lizy (2,7-10). Toksyna K1 jest szczególnie skuteczna. Stężenie 2,3 ng/ml zabija  $2 \times 10^7$  komórek/ml. Śmierć komórek nie zachodzi szybko. Objawy letalne nie ujawniają się bowiem w czasie od 1 do 3 godzin. Po tym okresie zachodzi zatrzymanie syntezy makromolekuł, z równoczesną utratą jonów potasu i ATP, a także inhibicją pobierania aminokwasów i transportu protonów (7).

Drożdże killerowe są szeroko rozpowszechnione w środowiskach naturalnych. Częstotliwość występowania zjawiska killerowego u drożdży jest wysoka, a szczepy killerowe zostały wyizolowane jako naturalna mikroflora owoców, grzybów, gleby, szczątków roślinnych, a także różnorodnych środowisk fermentacyjnych. Populacje drożdży killerowych były bowiem izolowane z prób nastawów winiarskich i w aktywnej fazie fermentacji moszczów (4,11,12).

Aktywność killerowa to jeden z mechanizmów antagonizmu w warunkach naturalnych, odgrywający ważną rolę w ekologii drożdży. Produkcja składników toksyny killerowej uniemożliwia wrażliwym konkurentom zdominowanie danego środowiska, tym bardziej że wytwarzanie toksyn zachodzi w fazie wzrostu logarytmicznego, gdy zapasy substancji pokarmowych są obfite, a wartość pH podłoża jest odpowiednia (9).

Drożdże killerowe oraz wydzielane przez nie toksyny mogą znaleźć szereg praktycznych zastosowań. Mogą być przydatne w naukach podstawowych, w systemach modelowych do badania mechanizmów regulacyjnych procesów polipeptydowych u organizmów eukariotycznych lub sekrecji i mechanizmów receptorowych w procesie pączkowania. System killerowy drożdży wykazuje podobieństwo do mechanizmu syntezy i działania zwierzęcych hormonów i neuropeptydów. Istnieje duże podobieństwo pomiędzy toksynami killerowymi i bakteriocynami. Oba składniki są białkami, tworzą je komórki odporne na wytworzone białka, a toksyczność dotyczy komórek gatunków pochodnych. Two-

rzenie toksyn jest też w obu przypadkach funkcją warunków środowiska. Podobny jest też sposób działania obu białek (7).

Drożdże killerowe znalazły zastosowanie także w naukach medycznych, szczególnie w tzw. biotypowaniu patogennych szczepów drożdży *Candida albicans* oraz *Cryptococcus* ssp. W najnowszych badaniach autorzy sugerują także, że toksyny drożdży killerowych można stosować jako nowe antygrzybowe czynniki w infekcjach grzybiczych u ludzi lub zwierząt.

W przemyśle żywnościowym i fermentacyjnym szczepy przemysłowe mogą być wzbogacane o killerowy charakter, aby tym samym zapewnić skuteczną ochronę środowisk fermentacyjnych przed drożdżami dzikimi stanowiącymi zakażenia, np. w produkcji piwa, wina i chleba (3).

Drożdże killerowe lub odporne na toksyny killerowe mogą też być wykorzystywane jako kultury starterowe w przemyśle fermentacyjnym. Za pomocą różnych technik, np. fuzji protoplastów, elektroiniekcji i innych, pozwalających na transfer czynnika killerowego do niekillerowych szczepów przemysłowych, skonstruowano wiele interesujących szczepów przemysłowych. W danych literaturowych donosi się także o próbach prowadzenia procesów fermentacyjnych z zastosowaniem populacji mieszanych zawierających drożdże killerowe i niewrażliwe na ich toksynę drożdże przemysłowe (13-17).

Istnieje także ujemny aspekt działalności drożdży killerowych w procesach biotechnologicznych. Drożdże killerowe jako zakażenia różnych środowisk przemysłowych stanowią większe niebezpieczeństwo niż drożdże dzikie zanieczyszczające środowiska fermentacyjne, ponieważ poza konkurencją o substrat zabijają również wrażliwe szczepy produkcyjne oraz wydzielają niepożądane metabolity wpływające na jakość końcowego produktu. Mogą przez to zakłócać przebieg procesów fermentacyjnych i w rezultacie obniżać ich wydajność (12,15).

W ostatnich latach zainteresowanie drożdżami killerowymi i możliwościami ich zastosowań w przemyśle fermentacyjnym systematycznie wzrasta. Brakuje jednak opracowań dotyczących wzajemnych relacji przemysłowych drożdży winiarskich w układach z drożdżami killerowymi w warunkach kontrolowanych i spontanicznej fermentacji moszczów.

Celem pracy było zbadanie w warunkach tlenowych i beztlenowych efektu killerowego drożdży w układach mieszanych utworzonych przez drożdże *Saccharomyces cerevisiae* T158C, tworzących toksynę killerową typu K1 i przez przemysłowe odmiany drożdży winiarskich *Saccharomyces cerevisiae*: W11-rasę Burgund, tworzącą toksynę killerową typu K2 oraz szczep W6 rasy Tokay, będący odmianą wrażliwą na toksyny typu K1 i K2. Tego typu układy mogą wystąpić w procesach fermentacyjnych, co uzasadnia podjęcie tych badań.

## 2. Materiały i metody

### 2.1. Materiał biologiczny

Do badań użyto 3 szczepów pochodzących z Kolekcji Drożdży Drodnoustrojów LOCK 105:

— *Saccharomyces cerevisiae* T158C, superkiller, producent toksyny killerowej typu K1,

— *Saccharomyces cerevisiae* W11, szczep winiarski rasy Burgund do produkcji win czerwonych, producent toksyny killerowej typu K2,

— *Saccharomyces cerevisiae* W6, szczep winiarski rasy Tokay do produkcji win białych, wrażliwy na toksyny typu K1 i K2.

Drożdży do badań użyto w postaci monokultur lub w postaci następujących układów mieszanych:

— W6: T158C (szczep winiarski rasy Tokay, wrażliwy na toksyny typu K1 i K2: superkiller producent toksyny killerowej typu K1);

— W11: T158C (szczep winiarski rasy Burgund, producent toksyny killerowej typu K2: superkiller producent toksyny killerowej typu K1).

### 2.2. Podłoża hodowlane

Podłoża hodowlane stosowane w pracy oraz ich przeznaczenie przedstawiono w tabeli 1.

### 2.3. Metody badań

**1. Aktywność killerową** oznaczano metodą testów krzyżowych w zbuforowanej pożywce agarowej YPG-MB (tab. 1) wg Woodsa i Bevana (18). Aktywność killerową szczepu obserwowano po 72 godzinach inkubacji w temperaturze 20 – 25°C jako strefę przejaśnienia wskutek zahamowania wzrostu szczepu wrażliwego wokół kolonii szczepu killerowego (fot. 1).

**2. Tlenowe hodowle mieszane** drożdży prowadzono w zbuforowanej, ciepłej pożywce YPG. Pożywkę szczepiono monokulturami lub mieszaniną monokultur przemysłowych drożdży winiarskich w układach: W6 — szczep wrażliwy na toksyny killerowe lub W11 — szczep tworzący toksynę K2 ze szczepem superkillerowym T158C tworzącego toksynę typu K1 (1:1). Hodowle prowadzono na wstrząsarce laboratoryjnej przy 130 obr/min i amplitudzie 4,5 w kolbach Erlenmayera o pojemności 250 ml w 50 ml pożywki YPG w temperaturze 20 – 25°C w czasie 5 dni.

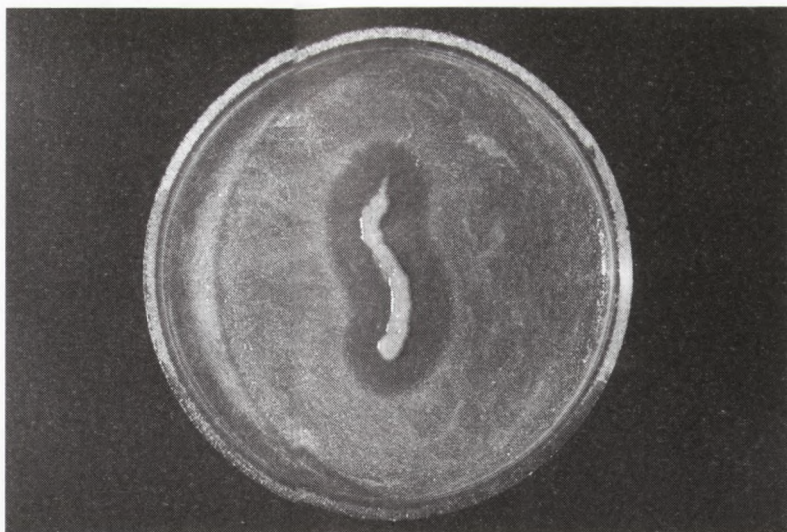
**3. Próby fermentacyjne** prowadzono z zastosowaniem zbuforowanej, ciepłej pożywki FYPG (tab. 1). Pożywkę szczepiono monokulturami lub mieszaniną odpowiednich monokultur przemysłowych drożdży winiarskich w układach: szczep W6 lub W11 ze szczepem killerowym T158C (1:1). Fermentację prowadzono w kolbach Erlenmayera o pojemności 250 ml w 100 ml pożywki w temperaturze 20 – 25°C w czasie 9 dni.

TABELA 1  
STOSOWANE POŻYWKI ORAZ ICH PRZEZNACZENIE

Podłoże	Skład	(g/l)	Przeznaczenie
YPG	glukoza pepton „Difco” ekstrakt drożdżowy „Difco” 0,1 M bufor cytrynianowo-fosforanowy pH 4,6 agar	10 5 2,5  20	tlenowe hodowle wstrząsane badanie przeżywalności szczepów
YPG-MB	glukoza pepton „Difco” ekstrakt drożdżowy „Difco” błękit metylenowy 0,1 M bufor cytrynianowo-fosforanowy pH 4,6 agar	10 5 2,5 0,03  20	oznaczenie aktywności killerowej
Mo	ekstrakt drożdżowy „Difco” (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub> agar	0,5 3 1 0,5 20	oznaczanie przeżywalności szczepów
FYPG	glukoza pepton „Difco” ekstrakt drożdżowy „Difco” 0,1 M bufor cytrynianowo-fosforanowy pH 4,6	180 5 2,5  	fermentacje

**4. Aktywność fermentacyjną** badanych szczepów oznaczano standardowo poprzez pomiar wydzielonego CO<sub>2</sub> podczas fermentacji. Aktywność tę uzyskiwaną w kulturach mieszanych porównywano ze średnią aktywnością fermentacyjną odpowiednich monokultur.

**5. Przeżywalność szczepów** oznaczano metodą płytkową na podłożach YPG, Mo i YPG-MB (tab. 1). Wyniki przedstawiono jako liczbę jednostek tworzących kolonii (jtk/ml).



Fot. 1. Badanie aktywności killerowej w teście płytkowym metodą testów krzyżowych. W podłożu YPG-MB obecny szczep wrażliwy wysiany wgłębnie, szczep killerowy wysiany rysą na powierzchni podłoża.

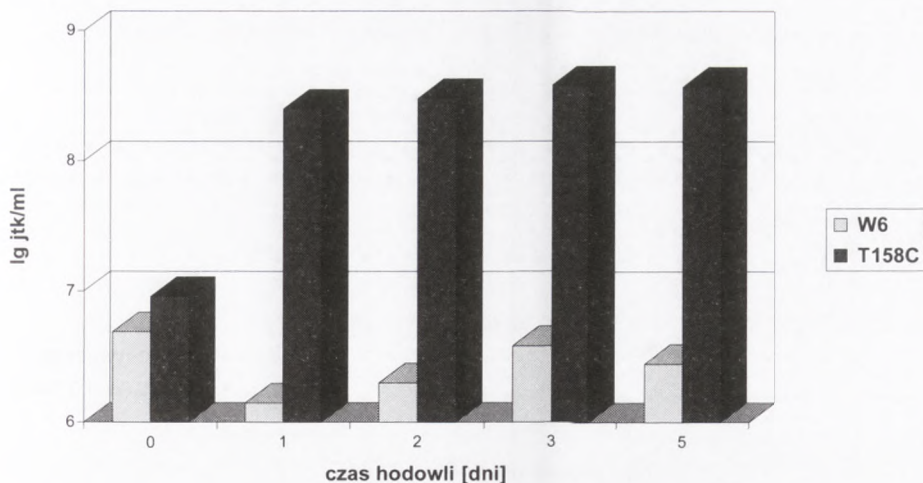
### 3. Omówienie wyników

#### 3.1. Badanie wrażliwości drożdży winiarskich W6 i W11 na toksynę killerową typu K1

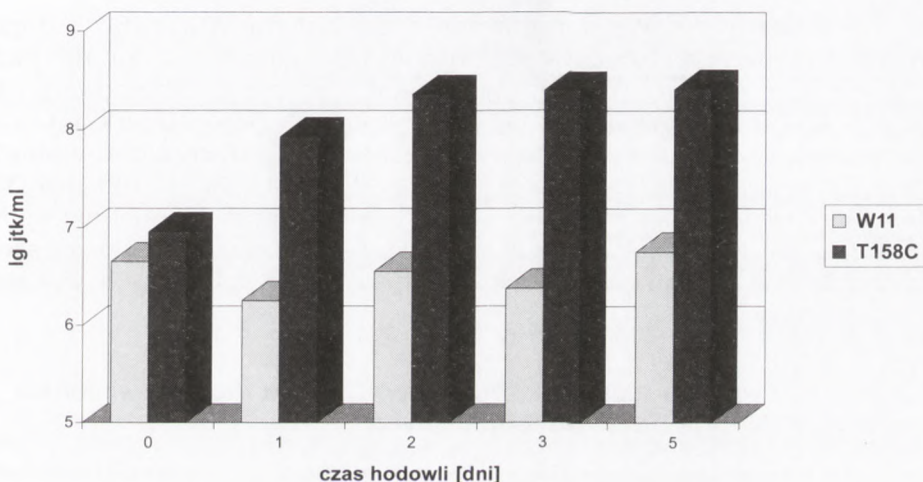
W badaniach wpływu toksyny killerowej wytwarzanej przez szczep superkillerowy na winiarskie drożdże killerowe W11 i drożdże wrażliwe W6 przeprowadzonych metodą testów krzyżowych stwierdzono, że zarówno szczep W6 jak i W11 wykazują dużą wrażliwość na działanie toksyny killerowej typu K1. Zjawisko to obserwowano jako szeroką strefę zahamowania wzrostu wokół kolonii szczepu superkillerowego (fot. 1). Jednocześnie stwierdzono u szczepu W11 zdolności bójcze spowodowane wydzielaniem toksyny innego typu niż K1, najprawdopodobniej typu K2. Potwierdza się to w doniesieniach o wzajemnych antagonistycznych relacjach drożdży killerowych o typach K1 i K2 (2,4).

#### 3.2. Badanie wpływu toksyny killerowej typu K1 na drożdże winiarskie W6 i W11 w tlenowych hodowlach mieszanych

W hodowlach mieszanych prowadzonych w warunkach tlenowych badano wzajemną relację szczepów w dwóch układach: odpowiedni szczep winiarski i superkiller T158C. W układzie drożdży W6 (drożdże wrażliwe): T158C (drożdże superkillerowe) już po 24 godzinach hodowli zaobserwowano obniżenie



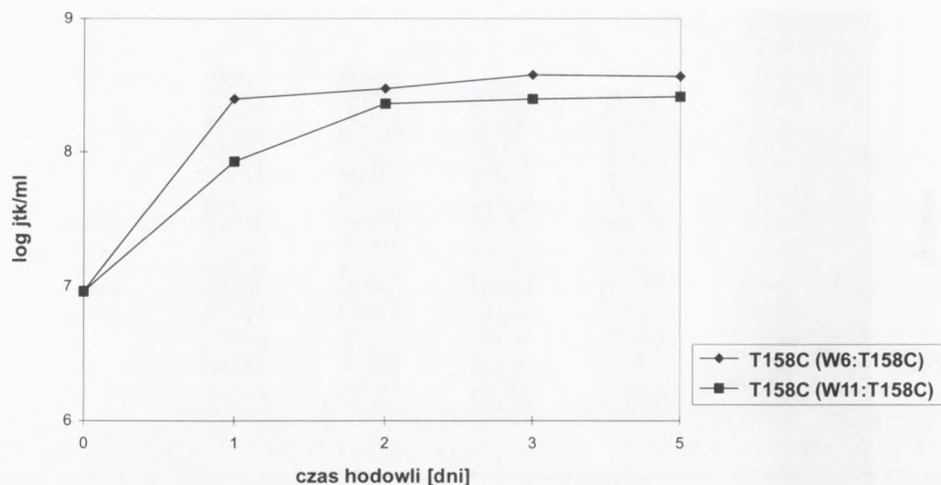
Rys. 1. Przeżywalność komórek W6 i T158C w tlenowych hodowlach mieszanych.



Rys. 2. Przeżywalność komórek W11 i T158C w tlenowych hodowlach mieszanych.

o 29% liczby komórek drożdży wrażliwych W6 poniżej dawki inokulum wynoszącej  $4,9 \times 10^6$ . W następnych dobach hodowli liczba komórek drożdży wrażliwych nieznacznie wzrosła, ale nie przekroczyła poziomu drożdży w inokulum. Namnożenie komórek superkillera po pierwszej dobie hodowli wzrosło do poziomu  $2,5 \times 10^8$  jtk/ml i w ciągu 5 dni jej trwania nie ulegało istotnym zmianom (rys. 1).

W układzie mieszanym W11:T158C, gdzie oba szczepy wykazywały aktywność killerową, wzrost liczby komórek superkillera po pierwszej dobie ho-



Rys. 3. Przeżywalność komórek T158C w tlenowych hodowlach mieszanych.

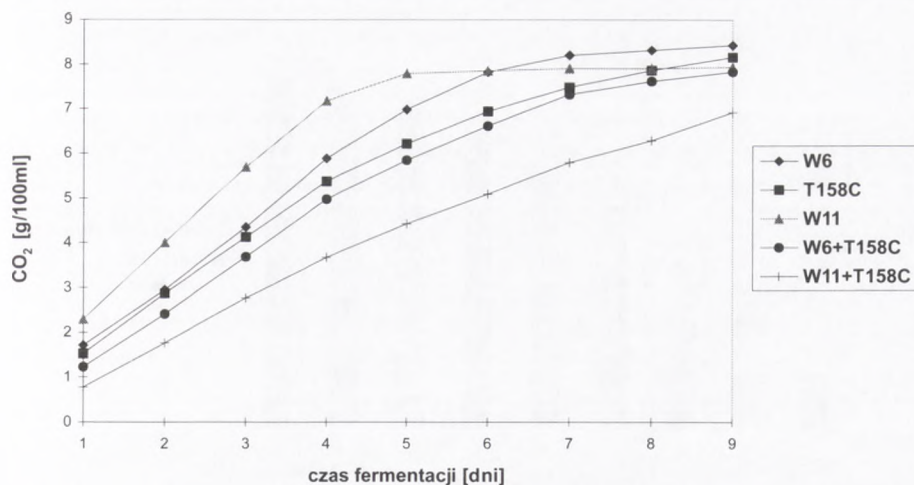
dowli był mniejszy o 34% w porównaniu do układu W6:T158C i dopiero w drugiej dobie hodowli komórek nieznacznie przekroczyła poziom  $10^8$  jtk/ml (rys. 2). Wzrost szczepu W11 był początkowo wyraźnie zahamowany, lecz stopniowo ulegał zwiększaniu aż do liczby komórek  $5,7 \times 10^6$  jtk/ml.

Na rysunku 3 zilustrowano namnożenie komórek superkillera w obu hodowlach. Mniejsza dynamika wzrostu superkillera T158C w układzie W11 (szczep killerowy) : T158C (szczep superkillerowy) prawdopodobnie spowodowana była obecnością toksyny killerowej typu K2 produkowanej przez szczep W11. Podobny antagonistyczny efekt obydwu toksyn killerowych wykazano w pracach Bussey'a i wsp. (4).

### 3.3. Badanie wpływu toksyny killerowej typu K1 na drożdże winiarskie W6 i W11 w próbach fermentacyjnych

Badanie aktywności fermentacyjnej prowadzono w monokulturach oraz w układach mieszanych odpowiednich szczepów winiarskich W6 lub W11 i szczepu superkillerowego T158C. W próbach fermentacyjnych zastosowano standardowe warunki do badania zdolności fermentacyjnych szczepów drożdży winiarskich. Dynamikę tworzenia  $\text{CO}_2$  w odpowiednich hodowlach przedstawiono na rysunku 6. Największą dynamikę tworzenia  $\text{CO}_2$  wykazywały typowe szczepy winiarskie W11 i W6 jako monokultury. W przypadku układów mieszanych w obecności szczepu superkillerowego T158C następował wyraźny spadek produktywności  $\text{CO}_2$  w porównaniu z aktywnością fermentacyjną monokultur (rys. 4). Aktywność fermentacyjną szczepów W6 i W11 w układach ze szczepem T158C odniesiono do średniej aktywności fermentacyjnej uzyskanej dla odpowiednich monokultur (rys. 5 i 6). W próbach fermentacyjnych największą wrażliwość na toksynę superkillera wykazał

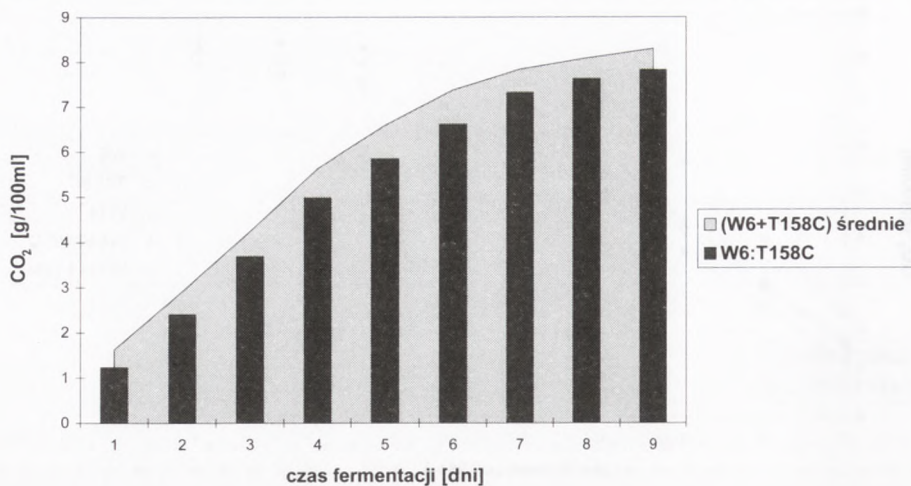


Rys. 4. Dynamika tworzenia CO<sub>2</sub>.

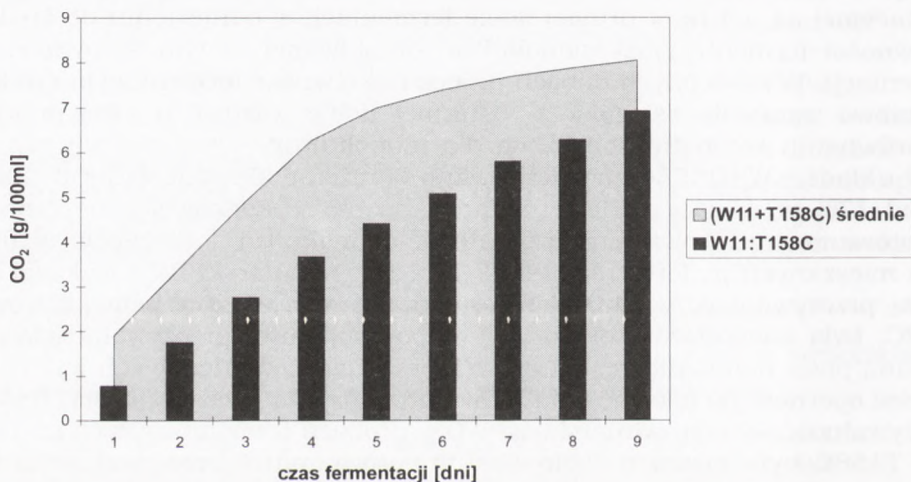
szczep W11. W układzie W11:T158C odnotowano obniżenie aktywności fermentacyjnej aż o 49% w drugiej dobie fermentacji w odniesieniu do średniej aktywności fermentacyjnej monokultur uzyskiwanej w tym samym czasie fermentacji. W następnych dobach procesu aktywność fermentacyjna układu stopniowo wzrastała osiągając w ostatniej dobie wartość o 14% mniejszą w porównaniu ze średnią obliczoną dla monokultur.

W układzie W6:T158C zaobserwowano obniżenie aktywności fermentacyjnej od 17% w drugiej dobie fermentacji do 6% w końcowej fazie procesu. Odnotowano zróżnicowaną przeżywalność monokultur i szczepów w układach mieszanych po fermentacji (rys. 7). Szczep winiarski W11 wykazał najniższą przeżywalność w układach fermentacyjnych ze szczepem killerowym T158C, była ona niższa o około 30% w porównaniu z przeżywalnością uzyskiwaną przez monokulturę. Szczep W11 w warunkach tlenowych wykazywał większą oporność na toksynę typu K1 wyrażoną lepszą przeżywalnością (rys. 2). Przeżywalność szczepu winiarskiego W6 w próbach fermentacyjnych ze szczepem T158C była niższa o około 10% w porównaniu z przeżywalnością monokultury. Natomiast szczep W6 wykazywał większą wrażliwość na toksynę killerową K1 w warunkach tlenowych (rys. 1).

Na podstawie uzyskanych wyników przypuszczamy, że w układach mieszanych z udziałem drożdży killerowych znaczącą rolę odgrywa typ toksyny killerowej działającej efektywnie w ściśle określonych warunkach procesu (wartość pH, temperatura). Zastosowanie drożdży przemysłowych o charakterze killerowym w procesie biotechnologicznym może mieć uzasadnienie tylko, wówczas gdy parametry technologiczne będą odpowiednie dla bójczego działania toksyny (16).



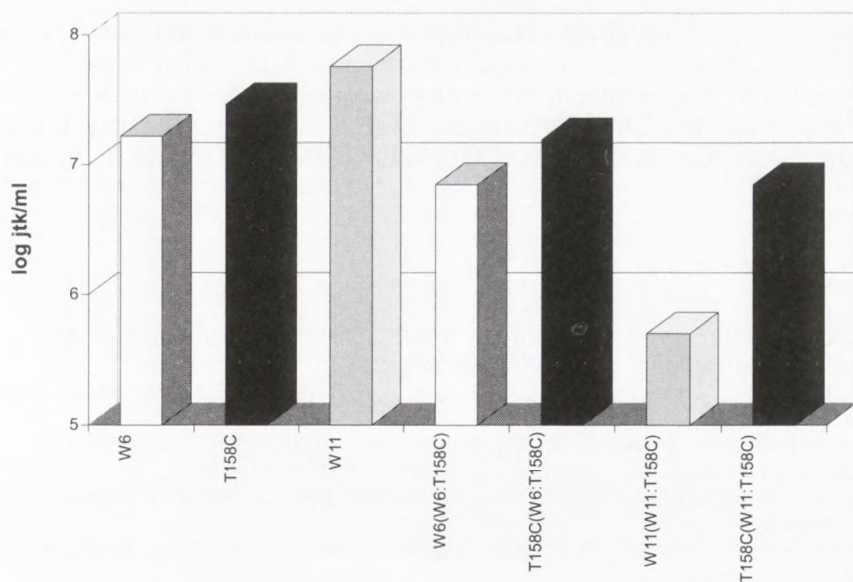
Rys. 5. Średnie wartości aktywności fermentacyjnych monokultur drożdży W6 i T158C oraz ich układów mieszanych.



Rys. 6. Średnie wartości aktywności fermentacyjnych monokultur drożdży W11 i T158C oraz ich układów mieszanych.

#### 4. Podsumowanie

1. Szczep winiarski W6 wykazywał dużą wrażliwość na toksynę killerową K1 teście krzyżowym w podłożu agarowym (fot. 1) i w hodowlach tlenowych w podłożach ciekłych (rys.1, 3). Jednakże w próbach fermentacyjnych, tj. w warunkach beztlenowych, w podłożu ciekłym, w układzie ze szczepem su-



Rys. 7. Przeżywalność komórek drożdży po 9 dniach fermentacji.

perkillerowym T158C (K1) stwierdzono jego wyraźną oporność na toksynę K1 (rys. 5, 7).

2. W teście krzyżowym w podłożu agarowym z zastosowaniem dwóch szczepów killerowych: superkillera T158C (K1) oraz killerowych drożdży winiarskich W11 (K2) wykazano ich wzajemny antagonizm. Zjawisko to zostało potwierdzone w mieszanych hodowlach tlenowych w podłożach ciekłych (rys. 2, 3).

3. W próbach fermentacyjnych dla układu T158C:W11 zaobserwowano wyraźny efekt killerowy szczepu T158C w stosunku do szczepu winiarskiego W11. W tym układzie dominująca, jak się okazało, była toksyna typu K1 wytwarzana przez szczep T158C, natomiast szczep W11, producent toksyny K2, wykazywał słabą przeżywalność i małą aktywność fermentacyjną (rys. 6, 7).

4. Wrażliwość szczepów winiarskich W6 (szczep wrażliwy na toksyny K1 i K2) i W11 (producent toksyny K2) w obecności toksyny killerowej typu K1 produkowanej przez szczep superkillerowy T158C była zróżnicowana i zależała od warunków prowadzenia hodowli (rys. 1-3, 7).

5. Na podstawie uzyskanych rezultatów mogliśmy stwierdzić, że w badanych układach w stosowanych warunkach doświadczeń toksyna killerowa typu K2 wytwarzana przez szczep winiarski W11 nie zabezpieczała w wystarczającym stopniu środowiska fermentacyjnego przeciwko innym szczepom drożdży wykazującym aktywność killerową typu K1.

6. W układach mieszanych z udziałem drożdży killerowych znaczącą rolę odgrywa typ toksyny killerowej działającej efektywnie w ściśle określonych

warunkach procesu (wartość pH, temperatura), co może stanowić przeszkodę w szerokim zastosowaniu zjawiska killerowego w biotechnologii.

7. Prace nad doбором odpowiednich warunków środowiska naturalnego dla prowadzenia procesów fermentacyjnych z udziałem drożdży killerowych wytwarzających toksynę K2 będą stanowić przedmiot dalszych badań.

## Literatura

1. Drewicz E., Walczak P., Oberman H., (1995), 17<sup>th</sup> ISSY, Edinburgh, P 22.
2. Tipper D. J., Bostian K. A., (1984), *Microbiol. Rev.*, 48, 125-156.
3. Walker G. M., McLeod A. H., Hodgson V., J., (1995), *FEMS Microbiol. Lett.*, 127, 213-222.
4. Bussey H., Vernet T., Scidu A. M., (1988), *Can. J. Microbiol.*, 34, 38-44.
5. Rogers D., Bevan E. A., (1977), *J. Gen. Microb.*, 105, 199-202.
6. Bibek R., Daeschel M., (1992), *Food Biopreservatives of Microbial Origin*, CRC Press, Inc., Florida.
7. Hover D. G., Steenson L. R., (1993), *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*, Academic Press, Inc., California.
8. Gniewosz M., Raczyńska A., Bugajewska A., Duszkiewicz-Reinhard W., (1998), *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 7/48, (2), 259-265.
9. Gotowczyz M., Oberman H., Drewicz E., (1992), *Biotechnologia*, 2, 36-43.
10. Vondrejs V., Janderova B., Valasek L., (1996), *Folia Microbiol.*, 41, (5), 379-394.
11. Cansado J., Longo E., Calo P., Sieiro C., Velazquez J. B., Villa T., (1990), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 34, 643-647.
12. Casanova J.B., Gomez J., Gonzalez J.A., Lema C., Rodriguez L. A., (1998), 19<sup>th</sup> ISSY, Braga, P 3.2.
13. Janderova B., Davaasurengijn T., Bendova O., (1986a), *Folia Microbiol.*, 31, 339-343.
14. Janderova B., Davaasurengijn T., Vondrejs V., Bendova O., (1986b), *J. Basic Microbiol.*, 26, 727-773.
15. Stobińska H., Drewicz E., Kregiel D., Oberman H., (1997), *Biotechnologia*, 1, 158-166.
16. Vondrejs V., (1987), *Microbiol. Sci.*, 4, 313-316.
17. Vondrejs V., Psenicka I., Kupcova L., Dostalova R., Janderova B., Bendova O., (1983), *Folia Biol.*, 29, 372-384.
18. Woods D. R., Bevan E. A., (1968), *J. Gen. Microbiol.*, 51, 115-126.

## Growth and fermentative activities of yeasts *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of killer toxin

### Summary

Killer yeasts or killer resistant yeasts can be used as starter cultures in fermentative industries to prevent the environments from contamination by wild yeasts. The aim of the work was to investigate the effect of killer yeasts of *Saccharomyces cerevisiae* T158C, producer of K1 killer toxin, on the wine yeasts *Saccharomyces cerevisiae* W11, producer of K2 killer toxin, and W6 strain which was sensitive to both toxins.

Wine yeasts W6 and killer wine yeasts W11 showed different survival rates and fermentative activity in the presence of killer toxin K1 secreted by T158C strain. Obtained results showed that killer yeasts may be useful when the fermentative conditions (temperature, pH value) will be suitable the activity of killer toxins.

**Key words:**

killer factor, killer toxin, *Saccharomyces cerevisiae*, wine yeasts.

*Adres do korespondencji:*

Ewa Drewicz, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź,  
e-mail: e.drewicz@mikrob.p.lodz.pl