

Mikroflóra v tokajských pivniciach

Tokay winecellars microflora

doc. Ing. Tóth Dezider, DrSc.

**Katedra genetiky a šľachtenia rastlín, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov,
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre**

Abstract: Since January 2002 were repeatedly in monthly period taken microbial samples from the inner cellar walls in three localities of the Slovak Tokay area – Malá Tŕňa, Viničky and Veľká Bara. The samples containing a mixture of mycelia, cells and spores of different microscopic fungi were grown on selective agar media and after isolating the genera and/or species these were microscopically identified using the available diagnostic literature. The results documented the presence of the following genera: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Oidiodendron*, *Alternaria*, *Tritirachium*, *Rhizoctonia*, *Phoma*, *Epicoccum*, *Geotrichum*, *Cladosporium*, *Verticillium*, *Trichoderma* and *Petriellidium*. In the communities covering the inner walls of the studied Tokay winecellars dominated the *Penicillium* and *Aspergillus* genera but not *Cladosporium*, which is often declared as the most important microscopic fungus inhabiting such biotops. Using additional diagnostic tests in the winecellar of Malá Tŕňa was confirmed the presence of the following species of microscopic fungi: *Penicillium glabrum*, *P. spinulosum*, *P. artrosanguineum* and *Aspergillus niger*.

Key words: Tokay winecellars, microflora, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* genera

3. Riešiteľský kolektív

Ing. Matúš Lend'ák, KGŠR FAPZ SPU Nitra, Ing. Miroslava Kačániová, PhD., Kat. Mikrobiológie SPU Nitra, RNDr. Peter Ferienc, CSc., RNDr. Miloslava Prokšová, CSc., Ústav molekulárnej biológie SAV Bratislava, RNDr. Kamila Bacigálová, CSc., Botanický ústav SAV Bratislava, doc.MVDr. Vladimír Kmeť, DrSc., Ústav fyziológie hosp. zvierat SAV Košice

4. Ciele vecnej etapy

4.1 Určiť druhové zloženie spoločenstiev mikroorganizmov vegetujúcich na plochách vnútri tokajských pivníc

4.2 Analyzovať mikroenvironmentálne podmienky v pivnici a ich vplyv na viabilitu mikroorganizmov

5. Dosiahnuté výsledky

Výskum v rámci našej vecnej etapy bol orientovaný na pivnice tokajskej oblasti a diverzitu mikroorganizmov osídľujúcich tieto priestory. Typické tokajské pivnice vyhlbené v tufovom masíve sú v hĺbke aspoň 16 m pod zemou, vstupuje sa do nich relatívne dlhými, nízkymi a úzkymi chodbami. Uvedeným priestorovým usporiadaním sa zabezpečuje celoročné udržiavanie konštantných teplôt okolo 10 – 12 °C (s diferenciou medzi letnými a zimnými teplotami ca 1,5°C a relatívnej vlhkosti ovzdušia 85 – 95 %).

V dostupných literárnych zdrojoch sa tvrdí, že na stenách tokajských pivníc sa tvoria skupiny sivočiernych hýf mikromycét druhu *Cladosporium cellare*.

V pivničnom hospodárstve sa venuje týmto mikroorganizmom veľká pozornosť, pretože žijú v symbióze s prostredím a tokajským vínom a sú biologickým filtrom čistoty ovzdušia a vlhkostných pomerov v pivnici. Pre svoj rast vyžadujú minimálne 85 %-nú relatívnu vlhkosť, avšak pri tvorbe konídiospór sa vyžaduje zvýšenie vlhkosti na 95 %. V rámci metabolizmu huby asimilujú výpary z vína

– využívajú alkoholy, aldehydy, aromatické a iné organické látky ako substráty a za prispenia vodných pár v ovzduší pivnice kolonizujú všetky povrchy - steny, sudy, ba aj fľaše. Z toho vyplýva aj ich schopnosť regulovať obsah vlhkosti – pri vysokej relatívnej vlhkosti sa biomasa nasycuje vodnými parami, pri nízkej ich uvoľňuje do prostredia. Na tvorbu charakteristických vlastností tokajského vína vplýva celý komplex biochemických procesov, ktoré prebiehajú v pivniciach. Z nich treba spomenúť esterifikáciu (pôsobenie kyselín na alkoholy za uvoľňovania vody), oxidácia etanolu na acetaldehyd, účasť mikromycét na reakciách transformácie dusíkatých látok, najmä aminokyselín.

V roku 2002 sme skúmali zloženie mikrobiálnych spoločenstiev tvoriacich mikrobiálny povlak prichytený na stenách. Vzorky sme odobrali do sterilných skúmaviek v troch pivniciach:

- i. Malá Trňa, Galafruit&Co.,Ltd. – po 2 profily v hlavnej a vedľajšej chodbe
- ii. Viničky, Stredné odborné učilište poľnohospodárske – po 3 profily v chodbách č. 1 a 2
- iii. Veľká Bara, majiteľ p. Hrenyo st. – 1 odberové miesto v strednej časti pivnice

Vzorky boli v laboratóriách v Nitre, Bratislave a Košiciach analyzované a diagnostikované klasickými metódami. Z výsledkov vyplýva, že vo vzorkách odobratých v Malej Trni prevládajú mikroskopické huby rodu *Penicillium* (Tab.1), ktoré sa vyskytli opakovane vo všetkých skúmaných profiloch. Druhy tohto rodu tvorili spravidla tmavosivé spóry so zeleným odtieňom. Mycélium rástlo rýchlo a rovnomerne bez prerastania susedných kolónií. Takáto tolerancia naznačuje vysokú medzidruhovú adaptáciu druhov žijúcich v danom spoločenstve.

Tabuľka 1: Mikromycéty izolované zo vzoriek R1 – 4 odobratých v tokajskej pivnici v Malej Trni

Rody húb	R1	R2	R3	R4
<i>Aspergillus</i>	-	+	-	-
<i>Penicillium</i>	++	++	++	+
<i>Oidiodendron</i>	-	-	+	-
<i>Fusarium</i>	-	+	+	+
<i>Alternaria</i>	-	-	+	-
<i>Tritirachium</i>	-	-	+	-
<i>Rhizoctonia</i>	-	-	+	-
<i>Phoma</i>	-	-	-	+
<i>Epicoccum</i>	-	-	+	-
<i>Mucor</i>	-	-	+	-

Druhy rodu *Penicillium* predstavujú jednu z najrozšírejších skupín mikromycét v životnom prostredí. Aj v druhej sledovanej pivnici boli peniciliá detekované vo všetkých vzorkách s výnimkou AB4 (Tab. 2).

Tabuľka 2: Rody mikromycét izolované zo vzoriek AB – línie odobratých v tokajskej pivnici v Viničkách

Rody húb	AB2	AB4	AB6	AB8	AB10	AB14
<i>Penicillium</i>	+	-	+	+	+	+
<i>Aspergillus</i>	+	-	+	-	+	+
<i>Geotrichum</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Fusarium</i>	+	-	-	+	-	-
<i>Cladosporium</i>	-	-	-	+	-	-
<i>Rhizoctonia</i>	+	-	-	+	-	-
<i>Verticillium</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Trichoderma</i>	-	-	+	-	-	-
<i>Epicoccum</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Petriellidium</i>	-	-	-	-	+	-

V oboch pivniciach bol diagnostikovaný výskyt zástupcov rodov *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizoctonium* a *Epicoccum*. Rozdielne nálezy sa týkali rodov *Oidiodendron*, *Alternaria*, *tritirachium*,

Phoma a *Mucor*, ktoré sa nachádzajú len v pivnici M. Trňa, kým vo Viničkách sa našli rody *Geotrichum*, *Verticillium*, *Trichoderma*, *Petrillidium* a dokonca aj *Cladosporium*.

Pre porovnanie boli realizované analýzy aj v niekoľko rokov nevyužívanej súkromnej pivnici vo Veľkej Bare, kde sme diagnostikovali rody *Penicillium*, *Rhizopus* a *Mucor*. Je pozoruhodné, že v dostupnej domácej aj zahraničnej literatúre sa uniformne tvrdí, že hlavným obyvateľom stien tokajských pivníc z ríše mikrosveta je huba *Cladosporium cellare*. Naše výskumné snahy túto skutočnosť zatiaľ nepotvrdzujú a skôr naznačujú, že v tokajských pivniciach sa vyskytujú mnohočlenné spoločenstvá mikromycét, medzi ktorými sa ojedinele nájde aj rod *Cladosporium*.

Na základe doplnkových diagnostických testov sme dospeli k potvrdeniu prítomnosti nasledovných druhov mikromycét v pivnici M. Trňa: *Penicillium glabrum*, *P. spinulosum*, *P. artrosanguineum* a *Aspergillus niger* (Tab. 3).

Tabuľka 3: Druhy húb identifikované v tokajskej pivnici v Malej Trni

Vzorky	Identifikované druhy húb
R1,R2,R3	<i>Penicillium glabrum</i>
R3	<i>Penicillium spinulosum</i>
R4	<i>Penicillium artrosanguineum</i>
R2	<i>Aspergillus niger</i>

Aj keď dostupné domáce aj zahraničné informačné zdroje tvrdia, že hlavným obyvateľom stien tokajských pivníc z ríše mikrosveta je huba *Cladosporium cellare* (starší názov *Rhacodium cellare*, novší *Rhinocladia cellaris*), naše výskumné snahy túto skutočnosť zatiaľ nepotvrdzujú a skôr naznačujú, že v tokajských pivniciach sa vyskytujú mnohočlenné spoločenstvá mikromycét, medzi ktorými sa nachádzajú aj druhy rodu *Cladosporium*.

6. Realizačné výstupy

Materiál predstavujúci základ databázy o druhoch a rodoch mikroorganizmov (biodiverzita tokajských pivníc) je v štádiu tvorby.

7. Prezentácia výsledkov na vedeckých podujatiach, vo vedeckej a odbornej tlači

7.1 vedecká publikácia

Bacigálová,K., Kačániová,M., Tóth,D.: Microscopic fungi found in Slovak Tokay winecellars. *Biologia Suppl.* 2002 (v tlači)

7.2 odborná publikácia

Žadanský,J., Pospíšilová,D., Kaša,A., Kakaš,M., Žadanská,A., Brindza,J., Tóth,D., Eftimov,P.: Tokay wine and its secrets. Tokay vine and viticulture in a Slovak part of Zemplín. Edition Genotyp, Slovak Agricultural University Nitra 2002, 70pp.

7.3 prednáška na 27. Svetovom kongrese viniča a vína v Bratislave (24.-28.6.2002) – Brindza et al.: Genetic variability revival of the Tokay vine varieties in Slovakia

7.4 prednášky na III. Odbornom seminári Tokajské vinohradníctvo a vinárstvo na Slovensku, Viničky (12.-13.11.2002)

7.5 Tóth,D., Kačániová,M., Bacigálová,K.: Diverzita mikroflóry tokajských pivníc

7.6 Brindza,J., Tóth,D.: Rozvojový program tokajského vinohradníctva a vinárstva na Slovensku v aktivitách Strediska ochrany dedičstva predkov

8. Zapojenie doktorandov na riešení problematiky

8.1 Ing. Matúš Lend'ák, KGŠR FAPZ SPU Nitra, školiteľ doc. D. Tóth, DrSc., konzultant doc. V. Kmeť, DrSc.

9. Zapojenie študentov na riešení problematiky formou diplomových prác: nie je

10. Zahraničná a domáca spolupráca

10.1 kooperácia pracovísk SPU a SAV

11. Návrh na využitie

Obnova poškodeného biofilmu mikroorganizmov na stenách tokajských pivníc.

12. Súhrn

Od januára 2002 boli v mesačných intervaloch odoberané vzorky mikroorganizmov z vnútorných pivničných stien v troch lokalitách slovenskej tokajskej oblasti – v Malej Tŕni, Viničkách a Veľkej Bare. Vzorky obsahujúce zmes mycélií, buniek a spór rôznych mikroskopických húb sme kultivovali na selektívnych agarových médiách a po izolácii rodov resp. druhov sme ich mikroskopicky identifikovali v zmysle dostupnej literatúry o diagnostických metódach. Výsledky dokumentujú prítomnosť nasledovných rodov: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Oidiodendron*, *Alternaria*, *Tritirachium*, *Rhizoctonia*, *Phoma*, *Epicoccum*, *Geotrichum*, *Cladosporium*, *Verticillium*, *Trichoderma* a *Petriellidum*. V spoločenstvách prítomných na stenách testovaných tokajských vínnych pivníc dominovali rody *Penicillium* a *Aspergillus*, avšak nie *Cladosporium*, ktorý sa často deklaruje ako najdôležitejšia mikroskopická huba obývajúca takéto biotopy. Teda aj keď dostupné domáce aj zahraničné informačné zdroje tvrdia, že hlavným obyvateľom stien tokajských pivníc z ríše mikrosвета je huba *Cladosporium cellare* (starší názov *Rhacodium cellare*, novší *Rhinocladiella cellaris*), naše výskumné snahy túto skutočnosť zatiaľ nepotvrdzujú a skôr naznačujú, že v tokajských pivniciach sa vyskytujú mnohočlenné spoločenstvá mikromycét, medzi ktorými sa nachádzajú aj druhy rodu *Cladosporium*. Na základe doplnkových diagnostických testov sme dospeli k potvrdeniu prítomnosti nasledovných druhov mikromycét v pivnici Malá Tŕňa: *Penicillium glabrum*, *P. spinulosum*, *P. artrosanguineum* a *Aspergillus niger*.

13. Kľúčové slová: tokajské vínne pivnice, mikroflóra, rody *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*