



Saccharomyces cerevisiae és *Saccharomyces uvarum* interspecifikus
fertilis hibridjének és néhány utódnemzedékének molekuláris genetikai vizsgálata

Molecular genetic analysis of a fertile interspecific hybrid *Saccharomyces cerevisiae*
and *Saccharomyces uvarum* and its progenies

Antunovics Zsuzsa

Doktori (Ph.D) értekezés
tézisei

Debreceni Egyetem
Természettudományi Kar
Debrecen, 2005



Saccharomyces cerevisiae és *Saccharomyces uvarum* interspecifikus
fertilis hibridjének és néhány utódnemzedékének molekuláris genetikai vizsgálata

Molecular genetic analysis of a fertile interspecific hybrid *Saccharomyces cerevisiae*
and *Saccharomyces uvarum* and its progenies

Antunovics Zsuzsa

Doktori (Ph.D) értekezés
tézisei

Debreceni Egyetem
Természttudományi Kar
Debrecen, 2005

1. Bevezetés

■ Az élesztők nagy része a szőlőről és a szüreti,- valamint a pincészetben használatos munkaeszközökről kerül a mustokba (Pretorius, 2000; Mortimer és Polsinelli, 1999). Az erjesztés kezdeti fázisában a szőlőszemekről származó *Kloeckera*, *Hanseniaspora* és *Candida* fajok dominanciája a jellemző (Bisson és Kunkee, 1993; Cocolin és mtsi., 2000), az alkohol koncentrációjának 3-5%-ra való növekedésével azonban a *Cryptococcus*, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia* és *Pichia* fajok kerülnek előtérbe. A fermentáció második harmadára pedig szinte már csak az alkohol toleráns *Saccharomyces*-fajok maradnak meg (Fleet és Heard, 1993; Schutz és Gafner, 1994) nekik köszönhetően a must fokozatosan borrá válik

■ Napjainkban a mustok szárított élesztő-kultúrákkal („starter”) való beoltásával a fermentáció felgyorsítását, az erjedési folyamatok ellenőrizhetővé tételét és befolyásolását érte el a biotechnológia. A különböző starter-élesztőknek stabil genetikai állománnyal kell rendelkezniük, hogy alkalmazásuk során a bor minőségét befolyásoló jellegeik ne változzanak és ugyanazt a megbízható íz-, aroma,- és zamatminőséget produkálják. A borászatban leggyakrabban alkalmazott startereket a *Saccharomyces cerevisiae* és *S. uvarum* élesztőfajok változataiból (törzseiből) állítják elő.

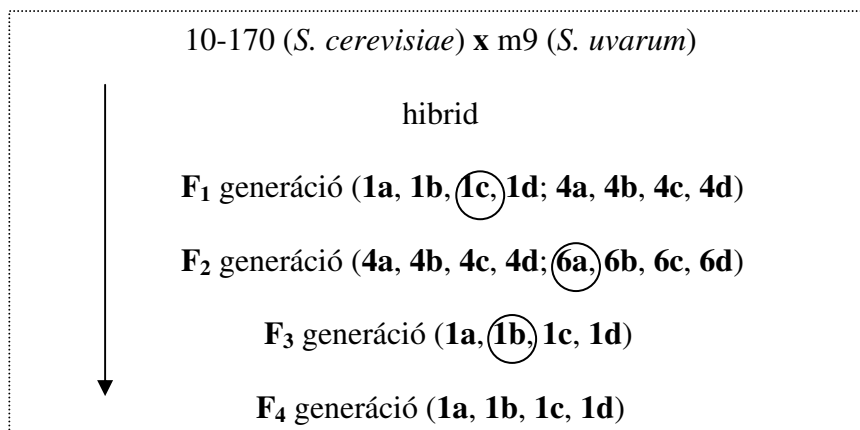
■ Tokaj-hegyalja pincészeteiből évek óta izolál tanszékünk különböző élesztőfajokat. A *Saccharomyces cerevisiae* mellett a késői erjedési fázisból, illetve a *botrytizált* szőlőkből származó mustokból nagy mennyiségű *Saccharomyces uvarum* törzset is sikerült izolálnunk. Igen valószínű, hogy a jellegzetes „tokaji íz” kialakulásához ez az élesztő is jelentősen hozzájárul. Sikerült a mintavételek során néhány – feltehetőleg - e két faj (*Saccharomyces cerevisiae* és *S. uvarum*) természetes hibridjét is fellelnünk, azonban ezeknek a hibrideknek a további genetikai vizsgálata akadályba ütközött, mivel nem képeztek spórát, vagy nagyon gyengén spóráztak.

■ Az interspecifikus hibridek előfordulása a természetben evolúciósan nagyon érdekes jelenségnek számít, hiszen néhány ritka kivételtől eltekintve sterilek: a keletkezett kombinált szülői génállomány csupán egyetlen nemzedékbe adódik tovább. De, amellet, hogy egyfajta „luxus”-t jelentenek a természet részéről, mégis kialakulásuk valószínűleg egy új faj keletkezésének egy lehetséges útja - néhány ezer év során. Az ilyen élesztőhibridek az érdeklődés középpontjába kerültek a modern borászatban is (Zambonelli és mtsi., 1997; Masneuf és mtsi., 2003). Biotechnológiai jelentőségük, hogy a kiválogatott, borászati szempontból nagyon jó tulajdonságokkal bíró élesztőfajok keresztezésével, azok előnyös tulajdonságainak kombinálódásával egy sikeresebb erjesztő „hibridfajt” lehet létrehozni, melynek a genetikai állománya is stabil (Caridi és mtsi., 2002).

■ Keresztezési kísérleteinkkel megpróbáltuk feltárni a két, evolúciósan már külön fajként említett *Saccharomyces* élesztőfaj közötti hibrid létrejöttének lehetséges molekuláris hátterét. Kísérleteink érdekessége, hogy a vizsgált *S. cerevisiae* x *S. uvarum* hibridünk fertilis utódnemzedéket hozott létre, sőt egészen a negyedik utódnemzedékig nyomon követhettük a generációkat.

2. Új tudományos eredmények

■ A dolgozatban egy laboratóriumi leu⁻ *S. cerevisiae* (10-170) és egy ura⁻ tokaji *S. uvarum* (m9) auxotróf markerekkel ellátott szülők keresztezéséből származó egyetlen hibrid vizsgálatát mutatjuk be részletesen. A hibridet 21db SMA-n kinőtt telep közül választottuk ki. A prototrófia a két auxotróf szülő sikeres kereszteződésére utal. Emellett a hibridre jellemző volt a 37°C-on való növekedés is, ami eredetileg csak a *S. cerevisiae* szülő tulajdonsága illetve a melibióz fermentáció képessége, ami pedig eredetileg csak a *S. uvarum* szülő sajátja (Vaughan-Martini és Martini, 1987; Zambonelli és mtsi., 1997) volt.

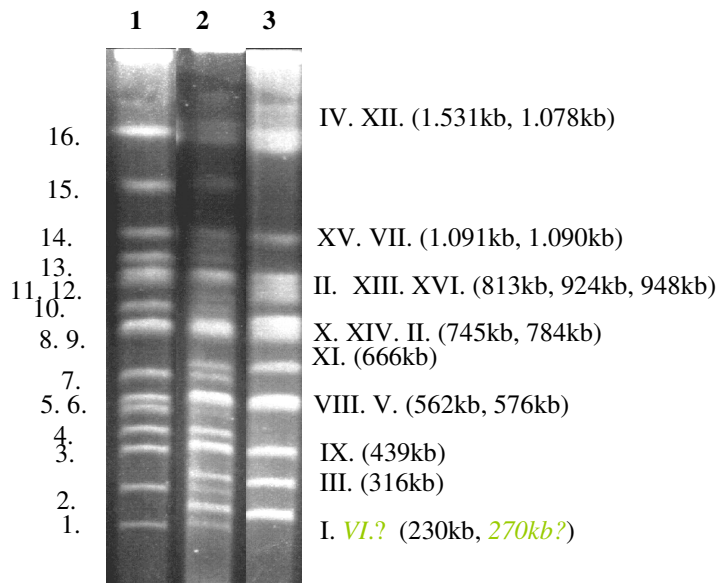


1. ábra A hibridből származtatott utódnemzedékek a dolgozatban bemutatott tetrádokkal.

■ A természetből izolált és a Naumov-féle spóra-spóra keresztezési módszerrel előállított interspecifikus hibridekkel ellentétben az általunk izolált hibrid nagyon jól spórázott (50%), és – ami még kivételesebb jelenség – a kapott spórákra magas spóra-életképesség (70%!) volt jellemző. Ezekből a spórákból képződött klónok (F₁) pedig ugyancsak jól spóráztak így előállíthattuk a következő utódnemzedéket (F₂), majd az azt követőt (F₃) is az előző nemzedék spóráztatásával, és így tovább, egészen a negyedik (F₄) generációig. Ahhoz azonban, hogy ilyen magas arányban kapjunk életképes spórákat a keresztezésbe vitt 10-170 *S. cerevisiae*-nek és az m9 *S. uvarum*-nak a zigótaképzése előtt, vagy alatt egy teljes genom-duplikációt kellett „csinálnia”, ugyanis csak így magyarázható, a meiózis első profázisában bekövetkezett kromoszóma-párosodás, ami nélkül a meiózis nem tud végbe menni. Ha elmarad a meiózis, vagy abnormálisan játszódik le, akkor vagy nem képződnek spórák, vagy életképtelen genommal jönnek létre (de Barros Lopez és mtsi., 2002; Delneri és mtsi., 2003; Fisher és mtsi., 2000; Marioni és mtsi., 1999; Masneuf és mtsi., 1998; Naumov, 1987; Zambonelli és mtsi., 1997;). Esetünkben a spórák életképesek voltak, azaz a zigóta és a belőle kifejlődött hibrid ploiditásának szintje 2n-nél magasabb lehetett. Nagy valószínűséggel allotetraploid. Feltételezésünket megerősítette az időközben megjelent közlemény, amelyben Sebastiani és mtsi.

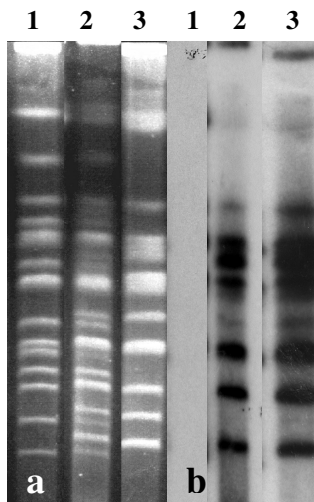
(2002) életképes fertilis spórákat képző interspecifikus hibridről számol be. Feltételezésük szerint a hibrid allotetraploid volt.

■ A sikeres hibridizolálást a hibrid és utódnemzedékének molekuláris genetikai elemzése követte. Elsőként pulzáló erőterű gélelektroforézissel elkészítettük a hibrid elektrokariogramját, melyen jól láthatók a szülői eredetű kromoszómák.

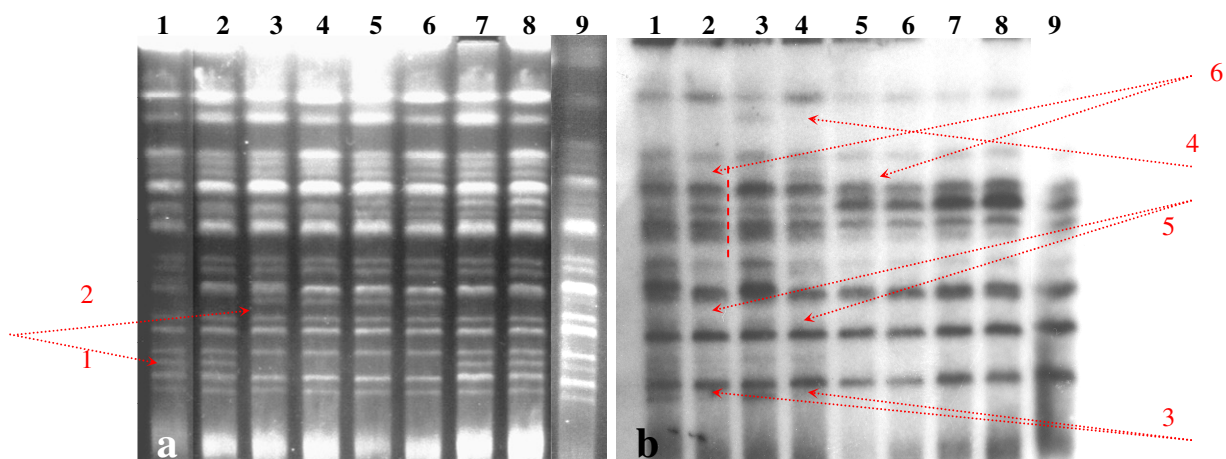


2. ábra A keresztezéshez használt szülők és a hibrid elektrokariogramja. 1.: m9, 2.: hibrid, 3.: 10-170.

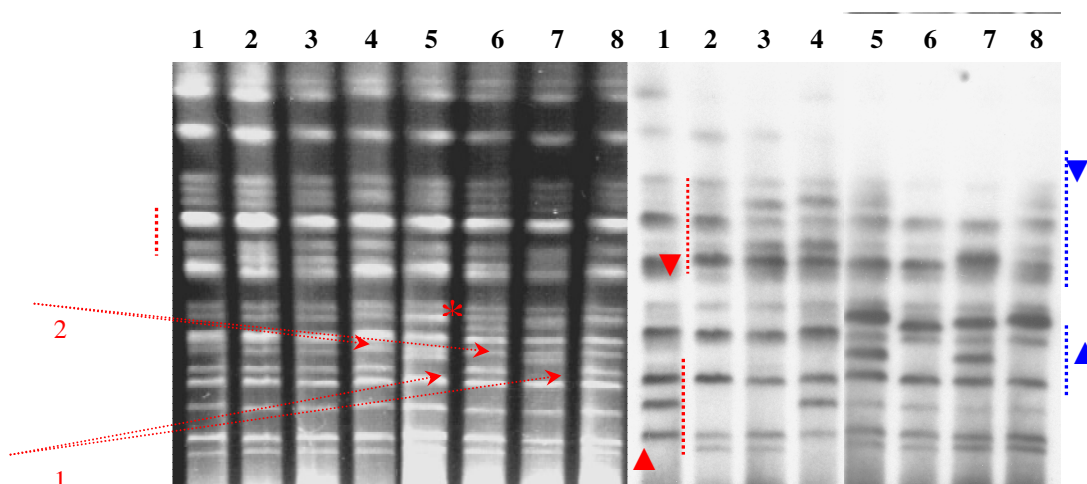
■ Az elektrokariogramok *S. cerevisiae* eredetű Y' telomer szekvenciával való Southern hibridizálása is szépen mutatja a hibrid *S. cerevisiae* szülőtől örökölt kromoszómáit. A *S. uvarum* eredetileg nem rendelkezik ilyen szekvenciákkal. A vizsgált utódnemzedékek esetén a vizsgált tetradok tagjain belül gyakran észleltünk 2:2 szegregációkat a kromoszómahossz mintázatokra. Az Y' Southern analízis a harmadik és negyedik generáció esetében már nem mutat jelentős mintázatbeli különbséget.



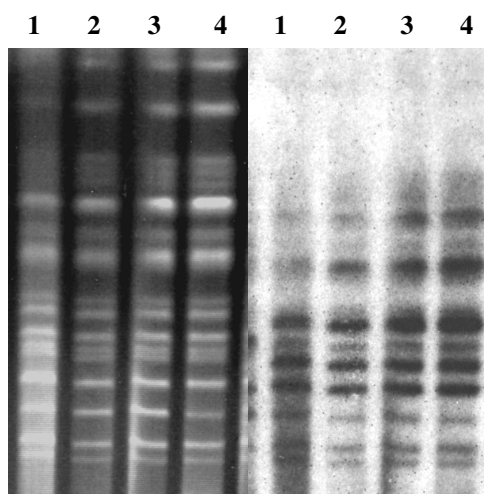
3. ábra Pulzáló erőterű gélelektroforézissel készített elektrokariogram (a) és Y' hibridizáció (b). 1.: m9 *S. uvarum*, 2.: 10-170 x m9 hibrid, 3.: 10-170 *S. cerevisiae*.



4. ábra Az első utódnemzedék két teljes tetrádjának elektrokariogramja (a) és Y' Southern hibridizációja (b). 1.: F₁ 1a; 2.: 1b; 3.: 1c; 4.: 1d; 5.: 4a; 6.: 4b; 7.: 4c; 8.: 4d; 9.: hibrid. Az 1. és 2. számú nyíl az elektrokariogramon látható kromoszóma-átrendeződéseket jelöli. A 3. 4. 5. és 6. számú nyilak a kariogramról készült membránon az újonnan megjelenő hibridizációs sávokat jelölik. A szaggatott függőleges vonal a nagyobb kromoszómák mérettartományában látható jelölődés-intenzitás beli különbségekre hívja fel a figyelmet.



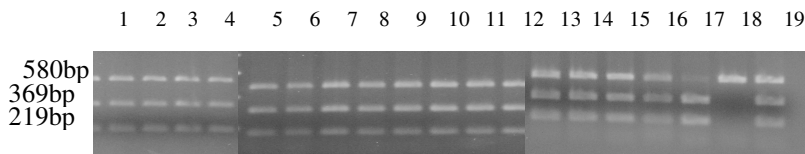
5. ábra. A második utódnemzedék két teljes tetrádjának pulzáló erőterű gélelektroforéise (a) és Y' Southern hibridizációja (b). 1.: F₂ 4a; 2.: 4b; 3.: 4c; 4.: 4d; 5.: 6a; 6.: 6b; 7.: 6c; 8.: 6d. Az elektrokariogramon az 1. és 2. számú nyíl kromoszóma-átrendeződésre mutat. Egy plusz kromoszómára mutat az ábrán a csillag, a szaggatott függőleges vonallal pedig a nagyobb kromoszómák mérettartományában látható átrendeződésekre utalunk. Az elektrokariogramról készült membránon a piros és kék háromszögekkel, illetve a szaggatott vonalakkal újonnan megjelenő hibridizációs sávokra mutatunk.



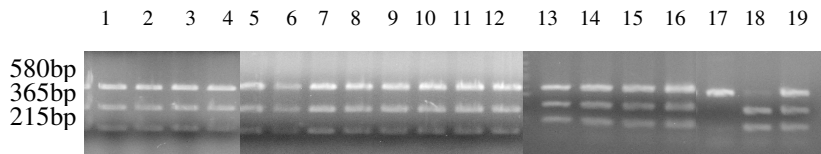
6. ábra A harmadik utódnemzedék egy tetrádjának pulzáló erőterű gélelektroforézissel készített elektrokariogramja (a) és Y' Southern hibridizációja (b) 1.: F₃ 1a; 2.: 1b; 3.: 1c; 4.: 1d.

■ További molekuláris markereket elemezve a hibridben minden esetben megtaláltuk mindkét szülői eredetű gént, vagy génszakaszt, azonban az utódnemzedékekben gyakran találtunk 2:2 szegregációkat, *S. cerevisiae*: hibrid tulajdonságokra.

- A IV. kromoszómán található MET2 gén PCR-RFLP elemzése minden vizsgált nemzedék esetében hibridhez hasonló sávzottságot adott.

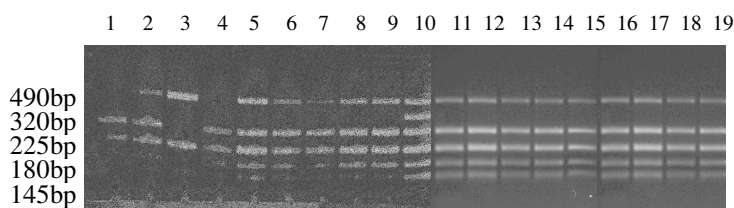


7. ábra A szülői törzsek, a hibrid és négy utódnemzedék egy-egy teljes tetrádjának *MET2* PCR-RFLP analízise. *EcoRI* enzimes emésztés. 1.: 1a; 2.: 1b; 3.: 1c; 4.: 1d F₁; 5.: 6a; 6.: 6b; 7.: 6c; 8.: 6d F₂; 9.: 1a; 10.: 1b; 11.: 1c; 12.: 1d F₃; 13.: 1a; 14.: 1b; 15.: 1c; 16.: 1d F₄; 17.: 10-170; 18.: m9; 19.: 10-170 x m9 hibrid.



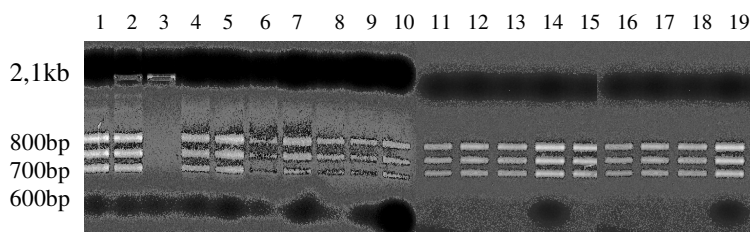
8. ábra A szülői törzsek, a hibrid és négy utódnemzedék egy-egy teljes tetrádjának *MET2* PCR-RFLP analízise. *PstI* enzimes emésztés. 1.: 1a; 2.: 1b; 3.: 1c; 4.: 1d F₁; 5.: 6a; 6.: 6b; 7.: 6c; 8.: 6d F₂; 9.: 1a; 10.: 1b; 11.: 1c; 12.: 1d F₃; 13.: 1a; 14.: 1b; 15.: 1c; 16.: 1d F₄; 17.: 10-170; 18.: m9; 19.: 10-170 x m9 hibrid.

- A XII. kromoszómán található *ITS1-rDNS-ITS2* spacer régióra tervezett PCR-RFLP eredményei túlnyomóan hibridszerű sávozottságot adtak, kivéve a *S. cerevisiae* mintázatot mutató F1 1a spóraklont illetve a rekombináns mintázatot mutató F2 6c spóraklont.



9. ábra *ITS1-5,8S rDNS-ITS2* PCR-RFLP analízis. 1.: 10-170; 2.: hibrid; 3.: m9; 4.: 1a; 5.: 1b; 6.: 1c; 7.: 1d F₁; 8.: 6a; 9.: 6b; 10.: 6c; 11.: 6d F₂; 12.: 1a; 13.: 1b; 14.: 1c; 15.: 1d F₃ 16.: 1a; 17.: 1b; 18.: 1c; 19.: 1d The PCR products were digested by *HaeIII* enzyme. The star marks a newly appeared band.

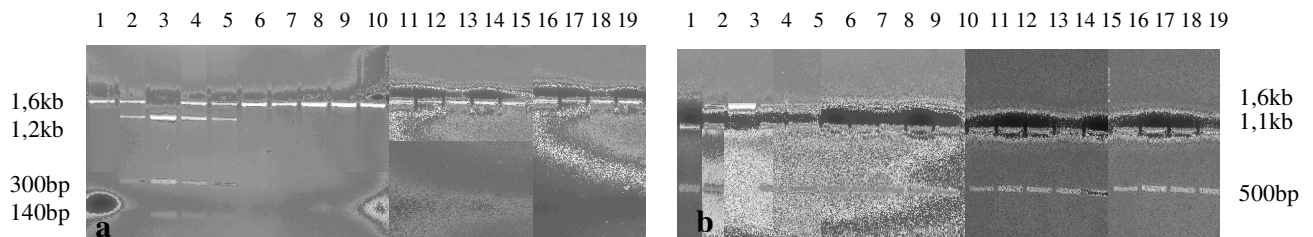
- A III. kromoszómán elhelyezkedő *HIS4* gén PCR-RFLP elemzése során az első utódnemzedéktől fogva csakis *S. cerevisiae*-jellegű mintázatot kaptunk, holott a hibrid még mindkét szülő *HIS4* génjével rendelkezett.



10. ábra A szülői törzsek, a hibrid és négy utódnemzedék egy-egy teljes tetrádjának *HIS4* PCR-RFLP analízise.

HindIII enzimes emésztés. 1.: 10-170; 2.: m9; 3.: 10-170 x m9 hibrid; 4.: 1a; 5.: 1b; 6.: 1c; 7.: 1d F₁; 8.: 6a; 9.: 6b; 10.: 6c; 11.: 6d F₂; 12.: 1a; 13.: 1b; 14.: 1c; 15.: 1d F₃; 16.: 1a; 17.: 1b; 18.: 1c; 19.: 1d F₄.

- A szintén III. kromoszómán található YCL008c marker PCR-RFLP eredményeként érdekes 2:2 szegregációt figyelhettünk meg az első utódnemzedékben: 1a, 1b hibridszerű mintázattal, az 1c, 1d tagok *S. cerevisiae* szerű mintázattal voltak jellemezhetőek.

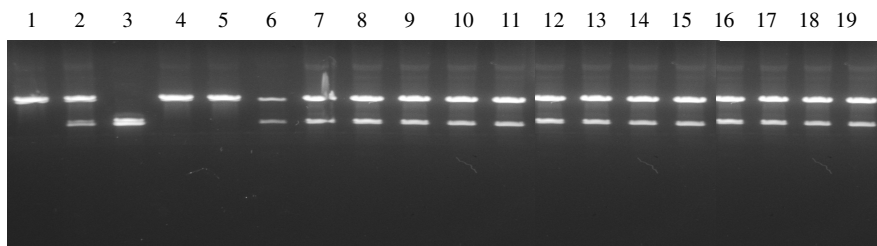


11. ábra A szülői törzsek, a hibrid és négy utódnemzedék egy-egy teljes tetrádjának *YCL008c* PCR-RFLP analízise.

. 1.: 1a; 2.: 1b; 3.: 1c; 4.: 1d F₁; 5.: 6a; 6.: 6b; 7.: 6c; 8.: 6d F₂; 9.: 1a; 10.: 1b;

11.: 1c; 12.: 1d F₃; 13.: 1a; 14.: 1b; 15.: 1c; 16.: 1d F₄; 17.: 10-170; 18.: m9; 19.: 10-170 x m9 hibrid.
a *Pst*I enzimes emésztés; b *Pst*I enzimes emésztés.

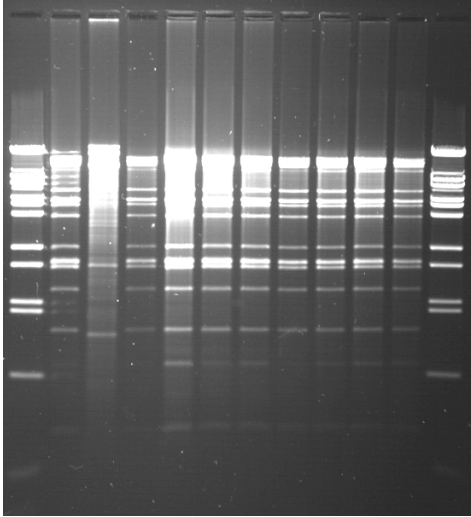
- A IV. kromoszóma *MET10* génjének PCR analízise ehhez képest épp ellekező eredményekkel szolgált: itt az 1a, 1b volt *S. cerevisiae* jellegű, míg az 1c, 1d hibrid mintázatú.



12. ábra A *S. cerevisiae* és *S. uvarum* *MET10* génekre specifikus kevert primerekkel nyert *MET10* PCR termékek. 1.: 10-170; 2.: hibrid; 3.: m9; 4.: **1a**; 5.: **1b**; 6.: **1c**; 7.: **1d** of the F₁; 8.: **6a**; 9.: **6b**; 10.: **6c**; 11.: **6d** of the F₂; 12.: **1a**; 13.: **1b**; 14.: **1c**; 15.: **1d** of the F₃.

■ A hibrid mitokondriális DNS-e a 10-170 *S. cerevisiae* szülőtől származott. Ennek alapján úgy tűnik, hogy a genom extrakromoszómális részére nézve nem következett be hibridizáció. Természetesen nem zárható ki az a lehetőség sem, hogy a zigóta még tartalmazta mindkét faj mitokondriális DNS-ét, de a vegetatív szaporodás során szegregáció következett be. Ha ezt feltételezzük, akkor azt is fel kell tételeznünk, hogy azok a szegregánsok lehettek sikeresebbek, amelyekben a *S. cerevisiae* mitokondriuma maradt fenn. A további generációk is természetesen a *S. cerevisiae* szülő mt DNS-ét örökölték.

* 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 *

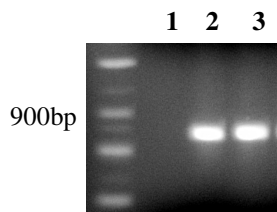


13. ábra A keresztezéshez használt 10-170 és m9 szülők, hibridjük, valamint néhány utód mtRFLP-je. A kivont mitokondriális DNS *EcoRV* enzimmal van emésztve. *: λ *BstEII* marker; 1.: 10-170; 2.: m9; 3.: hibrid; 4.: F₁ 1a; 5.: 1b; 6.: 1c; 7.: 1d; 8.: F₂ 6a; 9.: F₃ 1b; 10.: F₄ 1a.

■ A keresztezésbe vitt m9, uracil auxotróf mutáns szekvencia elemzése közben találtunk rá a mutációt okozó bázis cserére. Ezt a szekvencián aláhúzással és bekeretezéssel jelöljük. A 460. helyen lévő TCA (eredeti *S. uvarum* szekvencia) TTA (m9 *S. uvarum* szekvencia) triplet báziscseréje szerin helyett leucin aminosavat jelent. A másik, aláhúzással jelölt báziscsere nem jelent egyben aminosav cserét is: a 355. helyen lévő ACC és ACG kodon egyaránt treonint kódol.

		360	370	380	390	400
2	URAm9Urr1.gel	CATCACGAATGCGCACGGTGTGGTGGGTCCCGGTATCGTCAGCGGGCTAA				
4	URAhYUrr1.gel	CATCACGAATGCGCACGGTGTGGTGGGTCCCGGTATCGTCAGCGGGCTAA				
1	URAUVARU.sdn	CATC <u>ACCA</u> ATGCGCACGGTGTGGTGGGTCCCGGTATCGTCAGCGGGCTAA				
-3	URAm9Urr.gel	CATCACGAATGCGCACGGTGTGGTGGGTCCCGGTATCGTCAGCGGGCTAA				
	CONSENSUS	CATCACGAATGCGCACGGTGTGGTGGGTCCCGGTATCGTCAGCGGGCTAA				
		410	420	430	440	450
2	URAm9Urr1.gel	AAGCAGCCGCAGAGGAGGTACCAAGGAACCTAGAGGCCTTCTGATGCTA				
4	URAhYUrr1.gel	AAGCAGCCGCAGAGGAGGTACCAAGGAACCTAGAGGCCTTCTGATGCTA				
1	URAUVARU.sdn	AAGCAGCCGCAGAGGAGGTACCAAGGAACCTAGAGGCCTTCTGATGCTA				
-3	URAm9Urr.gel	AAGCAGCCGCAGAGGAGGTACCAAGGAACCTAGAGGCCTTCTGATGCTA				
	CONSENSUS	AAGCAGCCGCAGAGGAGGTACCAAGGAACCTAGAGGCCTTCTGATGCTA				
		460	470	480	490	500
2	URAm9Urr1.gel	GCCGAATT <u>ATT</u> ATGCAAGGGATCTTTAGCCACTGGGGAGTACACCAAGGG				
4	URAhYUrr1.gel	GCCGAATT <u>ATT</u> ATGCAAGGGATCTTTAGCCACTGGGGAGTACACCAAGGG				
1	URAUVARU.sdn	GCCGAATT <u>ATC</u> ATGCAAGGGATCTTTAGCCACTGGGGAGTACACCAAGGG				
-3	URAm9Urr.gel	GCCGAATT <u>ATT</u> ATGCAAGGGATCTTTAGCCACTGGGGAGTACACCAAGGG				
	CONSENSUS	GCCGAATT <u>ATT</u> ATGCAAGGGATCTTTAGCCACTGGGGAGTACACCAAGGG				

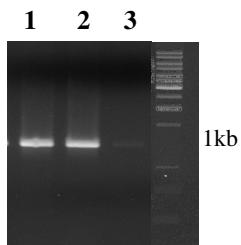
14. ábra Az m9 uracil auxotróf mutáns és az adatbázisbeli *S. uvarum* *URA3* génjeinek összehasonlítása. URAm9Urr1: az m9 *URA3* PCR-termékének forward szekvenálásának eredménye, URAhYUrr1: a 10-170 x m9 hibrid *URA3* PCR-termékének forward szekvenálásának eredménye, URAm9Urr: az m9 *URA3* génjének reverse szekvenálásának eredménye, URA3UVARU: az adatbázisbeli *S. uvarum* *URA3* szekvenciája. Az adatok a www.genevures.fr adatbázisból származnak. Aláhúzással és bekeretezéssel a mutációs helyeket jelöltük.



15. ábra *S. uvarum*-specifikus primerekkel készült *URA3* PCR-reakció termékek. 1.: 10-170; 2.: hibrid; 3.: m9.

PCR terméket kaptunk az m9 szülőnél, a hibridnél, majd valamennyi utódnemzedék vizsgált tagjainál is.

■ Elvégeztük a *S. cerevisiae* szülő *LEU2* génjének szekvencia elemzését is, illetve szintén készítettünk PCR reakciót is a szülőkön és a hibriden egyaránt. A *S. cerevisiae*re specifikus primerekkel készített reakció eredményeként termékeket detektálhattunk a 10-170 szülő mellett a hibrid esetében is, míg a m9 szülőnél nem kaptunk jelet. Továbbá valamennyi vizsgált utódnemzedék esetében is kaptunk PCR terméket.



16. ábra *S. cerevisiae*-specifikus primerekkel készült *LEU2* PCR-reakció termékek. 1.: 10-170; 2.: hibrid; 3.: m9.

		283.
10-170-U	AGTGTTAGACCTGAACAAGGTTTACTA	TAAATCCGTAAAGAACTTCAATTGTACGCCAAC
Hyb-U	AGTGTTAGACCTGAACAAGGTTTACTA	TAAATCCGTAAAGAACTTCAATTGTACGCCAAC
M9-U	AGTGTTAGACCTGAACAAGGTTTACTA	AAAATCCGTAAAGAACTTCAATTGTACGCCAAC

17. ábra A 10-170 leucin auxotróf és az adatbázisban talált *S. cerevisiae* *LEU2* szekvenciák összehasonlítása. A mutáció helyét vastag betűvel és keretezéssel jelöltük.

A szekvencia elemzések szerint egy báziscsere AAA helyett TAA tripletet jelent, ami lizin kodon (AAA) helyett egy stop kodon (TAA) létrejöttéhez vezet. Ez okozhatja a 10-170 leucin auxotróf mutációját.

3. Irodalomjegyzék

- de Barros Lopes, M., Bellon, J.R., Shirley, N.J., Ganter, P.F. (2002) Evidence for a multiple interspecific hybridization in *Saccharomyces sensu stricto* species. FEMS Yeast Res. 1: 323-331
- Bisson, L.F., Kunkee, (1993) Microbial interactions during wine production. In: Mixed cultures in Biotechnology, eds. J.G. Zeikus és E.A. Johnson. New York, McGraw-Hill pp: 37-68.
- Caridi, A., Cufari, D. Ramondino, D. (2002) Winemaking from Gaglioppo grapes with hybrid strains of *Saccharomyces*. Folia Microbiol. 47 (4), 407-408.
- Cocolin, L., Bisson, L.F., Mills, D.A. (2000) Direct profiling of the yeast dynamics in the wine fermentation. FEMS Microbiol. Lett. 189: 81-87.
- Delneri, D., Colson, I., Grammenoudi, S., Roberts, I.N., Louis, E.J., Oliver, S.G. (2003) Engineering evolution to study speciation in yeasts. Nature 422: 68-72.
- Fisher, G., James, S.A., Roberts, I.N., Oliver, S.G., Louis E.J. (2000) Chromosomal evolution in *Saccharomyces*. Nature 405: 451-454
- Fleet, G.H., Heard, G.M. (1993) Growth during fermentation. In: Wine Microbiology and Biotechnology. Ed. by: G.H. Fleet. Chur. Harwood pp: 27-54.
- Marioni, G., Manuel, M., Petersen, R.F., Hvidtfeldt, J., Sulo, P., Piskur, J. (1999) Horizontal transfer of genetic material among *Saccharomyces* yeasts. J. Bact. 181: 6488-6496.
- Masneuf, I., Hansen, J., Groth, C., Piskur, J., Dubourdieu, D. (1998) New hybrids between *Saccharomyces sensu stricto* yeast species found among wine and cider production strains. Appl. Env. Microbiol. 64: 3887-3892.
- Masneuf, I., Murat, M.L., Naumov, G.I., Tominaga, T., Dubourdieu, D. (2003) Hybrids *S. cerevisiae* x *S. bayanus* var. *uvarum* having a high liberating ability of some sulfur varietal aromas of Vitis vinifera Sauvignon Blanc vines. J. Int. Sci. Vigne Vin. 36: 1-8.
- Mortimer, R., Polsinelli, M. (1999) On the origins of wine yeast. Res. Microbiol. 150: 199-204.
- Naumov, G.I. (1987) Genetic basis for classification and identification of the ascomycetous yeasts. Stud. Mycol, 30: 469-475.
- Pretorius, I.S. (2000) Tailoring wine yeast for the new millennium; novel approaches to the ancient art of winemaking. Yeasts 16: 675-729.
- Schutz, M., Gafner, J. (1994) Analysis of yeast diversity during spontaneous and induced alcoholic fermentations. J. Appl. Bacteriol. 75: 551-558.
- Sebastiani, F., Barberio, C., Casalone, E., Cavalieri, D., Polsinelli, M. (2002) Crosses between *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus* generate fertile hybrids. Res. Microbiol. 153: 53-58.
- Zambonelli, C., Passarelli, P., Rainieri, S., Bertolini, L. (1997) Technological properties and temperature response of interspecific *Saccharomyces* hybrids. J. Sci. Agric. 74: 4-12.

4. A doktori munka során megjelent publikációk jegyzéke

■ Cikkek:

- Z. **Antunovics**, H. V. Nguyen, C. Gaillardin, M. Sipiczki (2005) Gradual genome stabilisation by progressive reduction of the *S. uvarum* genome in an interspecific hybrid with *S. cerevisiae*.
- Z. **Antunovics**, L. Irinyi, M. Sipiczki (2005) Combined application of methods to taxonomic identification of *Saccharomyces* strains in fermenting botrytized grape must. J. of Appl. Microbiol. 98: 971-979. IF.: 1,74
- Z. **Antunovics**, H. Csoma, M. Sipiczki (2003) Molecular and genetic analysis of the yeast flora of botrytized Tokaj wines. Bulletin de l'O.I.V. Vol. 76: 380-397. IF.: 0
- Naumov, G.I., Naumova, E.S., **Antunovics**, Z., Sipiczki, M. (2002) *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* in Tokaj wine-making of Slovakia and Hungary. Appl. Microbiol. Biotechnol. 59: 727-730. IF.: 2,043
- Sipiczki, M., Romano, P., Lipani, G., Miklos, I., **Antunovics**, Z. (2001) Analysis of yeasts derived from natural fermentation in a Tokaj winery. Antonie van Leeuwenhoek 79: 97-105. IF.: 1,458

■ Előadások:

- Antunovics** Zs., Sipiczki M. *Saccharomyces cerevisiae* és *Saccharomyces uvarum* fajok közötti keresztezésből származó stabil hibridek és utódaik genetikai vizsgálata. Magyar Genetikusok Egyesülete, Szeged, 2003.
- Antunovics** Zs., Sipiczki M. Tokajból izolált *Saccharomyces cerevisiae* és *Saccharomyces uvarum* fajok közötti mesterséges hibridek és utódaik molekuláris genetikai vizsgálata. Tudomány Napja Konferencia, Debrecen, 2003.
- Z. **Antunovics**, M. Sipiczki Study of fertile hybrids of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces uvarum* XXVIIIth Congress of Vine and Wine. Vienna, 2004.
- Antunovics** Zs., Sipiczki M. Interspecifikus *Saccharomyces* élesztő hibridek molekuláris genetikai vizsgálata Tudomány Napja Konferencia, Debrecen, 2004.

■ Poszterek:

- Antunovics**, Z., Sipiczki, M. Analysis and hybridisation of *Saccharomyces bayanus* from Tokaj wine. Acta. Microbiol. Immunol. Hung. 49: 409, 2002
- Antunovics**, Z., Nguyen, H-V., Gaillardin, C. Sipiczki, M. Hybridisation between *S. uvarum* and *S. cerevisiae* gives stable, fertile hybrids. Young researchers Marie Curie meeting. Paris, 2003.
- Antunovics**, Z., Irinyi, L., Sipiczki, M. Molecular taxonomic analysis of *Saccharomyces bayanus*-like yeast strains from Tokaj. XXVIIIth Congress of Vine and Wine. Vienna, Congress Abstracts p. 105, 2004.

Antunovics, Z., Remenyik, Z., Radacsi, A., Sipiczki, M. Genetic segregation of hybrids of *Saccharomyces uvarum* wine strains with *Saccharomyces cerevisiae* laboratory strains. XIth International Congress on Yeasts, Rio de Janeiro, Book of Abstracts p. 132, 2004.

