

## Получение гибридов пивных дрожжей, обладающих глюкоамилазной активностью

К. Лахчев, Т. Гинова-Стойнова, К. Лахчев, Т. Гинова-Стойнова, К. Lahtchev & T. Ginova-Stoyanova

To cite this article: К. Лахчев, Т. Гинова-Стойнова, К. Лахчев, Т. Гинова-Стойнова, К. Lahtchev & T. Ginova-Stoyanova (1988) Получение гибридов пивных дрожжей, обладающих глюкоамилазной активностью, *Biotechnology & Bioindustry*, 3:5, 24-27, DOI: [10.1080/02052067.1988.10824342](https://doi.org/10.1080/02052067.1988.10824342)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/02052067.1988.10824342>



© 1988 Taylor and Francis Group, LLC



Published online: 15 May 2014.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 85

---

# Получение гибридов пивных дрожжей, обладающих глюкоамилазной активностью

## I. Конструирование гибридных штаммов дрожжей с глюкоамилазной активностью

К. Лахчев<sup>1</sup>, Т. Гинова-Стойнова<sup>2</sup>

Институт микробиологии БАН<sup>1</sup>

Институт пивоваренной промышленности и хмелепроизводства<sup>2</sup>

### Введение

Используемые в лабораторной практике дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, производственные пивные штаммы *Saccharomyces carlsbergensis* (uvatum) и так называемые „диастатичные“ дрожжи — *Saccharomyces diastaticus* имеют очень близкое родство и способны к скрещиванию друг с другом. Пивные дрожжи и лабораторные штаммы *S. cerevisiae* не могут сбраживать молекулы крахмала из-за отсутствия синтеза внеклеточных амилолитических ферментов. Дрожжи *S. diastaticus* сбраживают крахмал благодаря функционированию трех несцепленных между собой ядерных генов, обозначенных как STA1, STA2 и STA3 (14). Эти гены кодируют синтез внеклеточных изоферментов: глюкоамилазы I, II и III (глюкан 1,4- $\alpha$ -глюкозидаза, ЕС 3.2.1.3). Этот фермент обладает способностью расщеплять  $\alpha$ -1,4, а в некоторых случаях и  $\alpha$ -1,6 связей с невозстановленного конца крахмальной цепи, в результате чего освобождаются молекулы глюкозы.

Целью нашей работы было осуществить перенос STA генов из дрожжей *S. diastaticus* в генотип производственных пивных штаммов. Создание штаммов пивных дрожжей, обладающих глюкоамилазной активностью, является важной проблемой в пивоваренной науке. В настоящей работе описывается примененный нами подход для конструирования гибридов пивных дрожжей, сбраживающих крахмальные молекулы.

### Материалы и методы

1. **Обозначение генотипов и фенотипов.** Генотипы и фенотипы штаммов, используемых в работе, обозначали согласно основным правилам, принятым в генетике дрожжей. Фенотип Sta<sup>+</sup> использовали для обозначения штаммов, сбраживающих крахмал, т. е. обладающих глюкоамилазной активностью. Фенотип Pof<sup>-</sup> обозначает способность к декарбоксилированию феруловой кислоты и к образованию „фенольно-

го привкуса“. Фенотип Pof<sup>-</sup> обозначает неспособность к формированию этого свойства.

2. **Штаммы.** Штамм *S. diastaticus* ВР 02 входит в коллекцию Института пивоваренной промышленности и хмелепроизводства в Софии. Из коллекции того же института выбрали четыре производственных штамма пивных дрожжей: YTG, ZTG, S<sub>80</sub> и T<sub>1</sub>. Номера и генотипы использованных лабораторных штаммов *S. cerevisiae* представлены в табл. 1. Для изучения

ТАБЛИЦА 1

Номера и генотипы лабораторных штаммов дрожжей, использованных в работе.

ШТАММ		ГЕНОТИП		
л167—а'1	MAT $\alpha$	leu 2—2	lys 2—22	
2В — П3882	MAT $\alpha$	ade 2—192	lys 2—22	
25 — K1	MAT $\alpha$	ade 2	his 3	
	MAT $\alpha$	ade 2—80	pof1	Sta <sup>+</sup>
1 — П3115	MAT $\alpha$	ade 2—80	pof1	Sta <sup>+</sup>

распространения признака Pof<sup>+</sup> тестировали следующие лабораторные штаммы *S. cerevisiae*: A269, A270, AN22, ДС5, GRF18 и А—364А из коллекции университета в Беркли (США), NA87 — 11А, IS448 — 4G, IS447 — 19В, IS448 — 21А, IS507—7С из коллекции Осацкого университета (Япония), а также 15В — П4, р278 — 15В — П4, р2089 — 15В — П4, 1—П3115, П3288, ПГ168, 3 — П219, 19А — ПVI и 42Б — П3998, принадлежащие к Петергофским генетическим линиям дрожжей (Ленинград, СССР).

3. **Среды и условия культивирования.** Все штаммы культивировали при температуре 30° С (исключая указанные в тексте). Использованы общепринятые в генетике дрожжей среды: полная (УРД), минимальная, минимальная с 3% крахмала, минимальная с глицеролом, предспоруляционная и споруляционная, составы и способы приготовления которых приведены в имеющихся руководствах по генетике дрожжей (1, 13). Минимальная среда с DL- $\alpha$ -аминоадипиновой кислотой и лизином (среда AA + lys) приготавливали

согласно Chattoo и кол. (6).

4. **Генетические методы.** Применяли общепринятое в генетике дрожжей методы для определения полового типа, ауксотрофных потребностей, нормальной гибридизации, тетрадного анализа, случайной выборки аскоспор, получения мутантов с дыхательной недостаточностью и т. д. (1, 13). Тестирование для определения признака  $Pof^+$  проводили по методу Goodey и Tubb (8). Экспресс-тест для разграничения гаплоидных от диплоидных (полиплоидных) штаммов (экспресс-тест на плоидность) описан в работах Карповой и кол. (5, 11). Скрещивания между штаммами с одинаковыми типами спаривания осуществляли по методу „незаконной копуляции“ (4), а скрещивания между копулирующими штаммами и диплоидами или полиплоидами, гетерозиготных по MAT — локусу — согласно технике, описанной Gunge и Nakatomy (9).

## Результаты и обсуждение

1. **Генетический анализ штамма ВР 02.** Штамм ВР 02 классифицирован как *S. diastaticus*. Он обладал способностью к образованию „фенольного привкуса“, т. е. имел фенотип  $Pof^+$  и отличался хорошей крахмалосбраживающей активностью — фенотип  $Sta^+$ . Мы установили, что ВР 02 имеет половой тип *a* и является метионин-зависимым ауксотрофом. Поскольку мутация метионин-зависимости не являлась аллельной мутациям  $metA1$ ,  $met1$ ,  $met2$ ,  $met3$ ,  $met4$ ,  $met8$  и  $met14$ , то она была обозначена как  $metX-02$ . Штамм ВР 02 скрестили с гаплоидом 25—K1 и полученный гибрид был обозначен как K3. В случайной выборке аскоспор этого гибрида было установлено, что расщепление для аллельной пары  $METX:metX-02$  достоверно отличалось от ожидаемого в случае моногенного:  $14Met^+:66Met^-$ . 58 из всех 80 анализированных сегрегантов были некопулирующими, 12 имели половой тип *a*, а 10 — *α*. Эти результаты показывают, что штамм ВР 02 представляет автодиплоид, гомозиготным по MAT-локусу.

Дополнительное доказательство для диплоидности ВР 02 было получено в экспериментах по применению экспресс-теста на плоидность (5, 11). Для этого ВР 02 скрестили с гаплоидным тестерным штаммом  $l168-α'1$ , который несет аллель  $lys2-22$ , и полученный гибрид был обозначен как K26. Клетки гибрида K26 высеяли на чашку Петри со средой  $AA + lys$  и облучили рекомбинантной дозой УВ-света. Если дрожжевые клетки являются диплоидными, гетерозиготными по мутации  $lys2-22$ , то в них УВ-свет легче индуцирует митотическую гомозиготизацию, в результате чего с высокой частотой образуются колонии с фенотипом  $Lys^-$ , способные к росту на среде  $AA + lys$ . Такую ситуацию на рис. имеем в случае с гибридами K14 и K15, полученными от скрещивания гаплоидных штаммов. Однако если тестируемый гибрид является триплоидом, имеющим одну мутантную аллель и две копии аллели дикого типа, то УВ-индуцированная митотическая гомозиготизация будет подавленной, что и наблюдается в случае с гибридом K26. Этот результат еще раз доказывает диплоидность ВР 02. Диплоидное состояние помешало определить точное число STA-генов, присутствующих в его генотипе, вследствие чего мы будем

обозначать это его свойство только как фенотип —  $Sta^+$ .

Генетический анализ штамма ВР 02 показал, что он имеет следующий генотип:

<u>MATa</u>	<u>metX—02</u>	<u>POF1</u>	<u>Sta<sup>+</sup></u>
MATa	metX—02	POF1	Sta <sup>+</sup>

2. **Разделение признаков „сбраживание крахмала“ ( $Sta^+$ ) и „фенольный привкус“ ( $Pof^+$ ) методом генетической рекомбинации.** Штаммы *S. diastaticus* имеют в своем генотипе функционирующий ген POF1 (сокращенное с англ. phenolic off flavour). Этот ген кодирует биосинтез фермента, декарбоксилирующего феруловую кислоту пивного сусла в 4-винил гваякол (8). Те соединения, к группе которых относится 4-винил гваякол, имеют очень низкий порог ароматического и вкусового восприятия и их присутствие в пиве вызывает отталкивающий „фенольный привкус“. По этой причине все работы, в которых осуществлялась гибридизация штаммов „диастатических дрожжей“ с пивными штаммами, приводили в итоге к получению гибридов, которые обладали глюкоамилазной активностью, однако никак не годились для производства пива по причине наличия „фенольного привкуса“ (7, 10). Ген POF1 не является сцепленным с геном STA2 (8) и по-видимому с генами STA1 и STA3. Поэтому мы решили сначала устранить его из генотипа штаммов, предназначенных для гибридизации с производственными пивными штаммами. Для этого начали поиск штаммов дрожжей, которые имеют фенотип  $Pof^-$  и тестировали большое число лабораторных штаммов дрожжей, принадлежащих к различным генетическим коллекциям. Было установлено, что наиболее используемые лабораторные штаммы из коллекции университета в Беркли (США), а также штаммы из Осакинского университета (Япония) имеют фенотип  $Pof^+$ . Неожиданно обнаружили, что те штаммы, которые принадлежат к Петергофским генетическим линиям дрожжей (Ленинград, СССР), обладали фенотипом  $Pof^-$ . (Номера и происхождение исследованных штаммов представлены в разделе „Материалы и методы“).

Петергофские генетические линии дрожжей происходят из XII расы пекарных дрожжей и созданы Инге-Вечтомовым после продолжительного инбридинга (2). Почему они имеют фенотип  $Pof^-$ , пока не установлено. Для дальнейшей работы был выбран штамм 1—П3115, поскольку он является копулирующим автодиплоидом и, наряду с фенотипом  $Pof^-$ , имел стабильную аденинзависимую мутацию  $ade2-80$ , вызывающую образование красного пигмента. Последнее позволяет вести визуальный отбор красных мейотических сегрегантов, что весьма упрощает некоторые этапы будущих опытов.

Штамм ВР 02 скрестили с штаммом 1—П3115 и полученный гибрид обозначили как K12. Нами было проанализировано 23 полных тетрад гибрида K12 и результаты сегрегирования аллелей  $metX-02$  и  $ade2-80$  представлены в табл. 2. Наличие большого числа необычных тетрад является характерным для сегрегирования тетраплоидов (3, 12). Этот результат убедительно доказывает диплоидность родительских штаммов ВР 02 и 1—П3115.

В случайной выборке аскоспор гибрида K12 были отобраны 120 красных ( $Ade^-$ ) сегрегантов. Все они были протестированы для способности к сбраживанию крахмала, и только те, которые имели хорошо

ТАБЛИЦА 2

Результаты тетрадного анализа гибрида K12 (BP 02 x 1 — ПЗ115)

Алельная пара	Тип анализируемых тетрад:				
	3 <sup>+</sup> :1 <sup>-</sup>	2 <sup>+</sup> :2 <sup>-</sup>	1 <sup>+</sup> :3 <sup>-</sup>	4 <sup>+</sup> :0 <sup>-</sup>	4 <sup>-</sup> :0 <sup>+</sup>
ADE2 : ade2—80	7	2	1	13	0
METX : metX—02	7	3	0	13	0
Sta <sup>+</sup> : Sta <sup>-</sup>	6	9	4	0	4

выраженный фенотип STA<sup>+</sup> (60 штук), были тестированы для наличия копуляционной активности. В результате этих экспериментов были отобраны 18 копулирующих Ade<sup>-</sup>Sta<sup>+</sup> сегрегантов, которые тестировали для определения фенотипа Pof. Фенотип Pof<sup>-</sup> имели только четыре сегреганта 3—K12, 5—K12, 7—K12 и 8—K12, плоидность которых определили с помощью экспресс-теста. Все они были гибридизированы с гаплоидом л467 — α1. Штаммы 5—K12, 7—K12 и 8—K12 скрестили методом „незаконной копуляции“ (4). Полученные гибриды были обозначены как K22, K23, K24 и K25. Результаты их тестирования после высева на среде AA + lys и облучения УВ-светом представлены на рис. Все исследуемые Sta<sup>+</sup>Pof<sup>-</sup> сег-

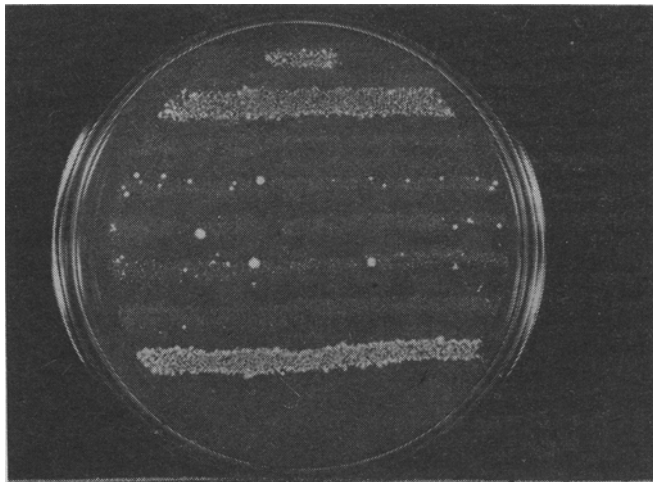


Рис. Экспресс—тест для разграничения гаплоидных от диплоидных (полиплоидных) штаммов дрожжей. Верхний мелкий штрих принадлежит гибриду K14 и служит для ориентации. Номера тестируемых гибридов и их родителей сверху вниз:

1. K14 (25 — K1 × 2B — ПЗ882)
2. K26 (BP 02 × л167 — α1)
3. K22 (3 — K12 × л167 — α1)
4. K23 (5 — K12 × л167 — α1)
5. K24 (7 — K12 × л167 — α1)
6. K25 (8 — K12 × л167 — α1)
7. K15 (13 — K1 × л167 — α1)

реганы оказались диплоидами и их генотипы представлены в табл. 3. Сегрегант 3—K12 обладал менее выраженной крахмалосбраживающей активностью по сравнению с остальными штаммами. Изолированные сегреганты отличались между собой также и по некоторым другим свойствам: например, 7—K12 и 8—K12 были более флокулирующими, чем 3—K12 и 5—K12.

### 3. Гибридизация Sta<sup>+</sup>Pof<sup>-</sup> сегрегантов с производственными штаммами пивных дрожжей.

Следующий этап нашей работы состоял в гибридизации изолированных Sta<sup>+</sup>Pof<sup>-</sup> сегрегантов с производственными штаммами пивных дрожжей. Такие скрещивания не могут быть осуществлены непосредственно из-за отсутствия у пивных штаммов се-

ТАБЛИЦА 3

Генотипы изолированных Sta<sup>+</sup>Pof<sup>-</sup> сегрегантов гибрида K12.

СЕГРЕГАНТ	ГЕНОТИП				
3 — K12	MAT <sub>a</sub>	metX—02	ade2—80	pof1	Sta <sup>+</sup>
	MAT <sub>a</sub>	metX—02	ade2—80	pof1	Sta <sup>-</sup>
5 — K12	MAT <sub>a</sub>	ade2—80	pof1	Sta <sup>+</sup>	
	MAT <sub>a</sub>	ade2—80	pof1	Sta <sup>+</sup>	
7 — K12	MAT <sub>a</sub>	ade2—80	pof1	Sta <sup>+</sup>	
	MAT <sub>a</sub>	ade2—80	pof1	Sta <sup>+</sup>	
8 — K12	MAT <sub>a</sub>	ade2—80	pof1	Sta <sup>+</sup>	
	MAT <sub>a</sub>	ade2—80	pof1	Sta <sup>+</sup>	

лективных маркеров и их неспособности к спариванию. Поэтому мы сначала маркировали производственные штаммы с мутациями дыхательной недостаточности и полученные мутанты скрестили с Sta<sup>+</sup>Pof<sup>-</sup> сегрегантами, используя технику, описанную Gunge и Nakatomy (9). Полученные гибриды отбирали на минимальной среде с глицеролом. В ходе этих экспериментов было отмечено, что штаммы S<sub>80</sub> и T<sub>1</sub> легче скрещиваются, чем штаммы YTG и ZTG. Всего получено десять гибридов пивных дрожжей, способных к сбраживанию крахмала и не образующих неприятного „фенольного привкуса“. Номера и происхождение полученных гибридов представлены в табл. 4.

ТАБЛИЦА 4

Номера и происхождение гибридов пивных дрожжей, обладающих глюкоамилазной активностью.

ГИБРИД	РОДИТЕЛЬСКИЕ ШТАММЫ			
K18	5 — K12	x	ZTG[ρ <sup>-</sup> ]	
K19	5 — K12	x	YTG[ρ <sup>-</sup> ]	
K32	3 — K12	x	S <sub>80</sub> [ρ <sup>-</sup> ]	
K33	5 — K12	x	S <sub>80</sub> [ρ <sup>-</sup> ]	
K34	7 — K12	x	S <sub>80</sub> [ρ <sup>-</sup> ]	
K35	8 — K12	x	S <sub>80</sub> [ρ <sup>-</sup> ]	
K36	3 — K12	x	T <sub>1</sub> [ρ <sup>-</sup> ]	
K37	5 — K12	x	T <sub>1</sub> [ρ <sup>-</sup> ]	
K38	7 — K12	x	T <sub>1</sub> [ρ <sup>-</sup> ]	
K39	8 — K12	x	T <sub>1</sub> [ρ <sup>-</sup> ]	

Изолированные гибриды пивных дрожжей хорошо сохраняли свои свойства в ходе многократных митотических делений. Данные, доказывающие их гибридную природу, были получены различными способами. Установлено, что гибридные клетки крупнее, чем клетки их родителей. Отношение длина-широта у гибридных клеток превышало на 0,1—0,2 μ то же самое отношение для родительских клеток. Производственные штаммы пивных дрожжей сбраживали мелибиозу и не были способны к росту при температуре 37° С. По этим показателям они четко отличались от Sta<sup>+</sup>Pof<sup>-</sup> сегрегантов, которые не сбраживали мелибиозу и развивались при 37° С. Все полученные нами гибриды пивных дрожжей сбраживали мелибиозу и размножались нормально при 37° С. Эти результаты служат хорошим доказательством гибридной природы конструированных штаммов.

Полученные гибриды имели различную способность к споруляции и она, как правило, была выше,

чем споруляция пивных штаммов. Следует отметить, что  $Sta^+ Pof^-$ -сегреганты не спорулируют из-за гомозиготности по МАТ-локусу. У ни одного из родительских пивных штаммов не наблюдалось образования четырехспоровых асков. Асцы с четырьмя спорами обнаруживались у гибридов, имеющих родителями пивные штаммы  $S_{80}$  и  $T_1$ . В случайной выборке аскоспор гибридов пивных дрожжей были изолированы красные, аденинзависимые сегреганты, среди которых наблюдалось расщепление по их способности к сбраживанию крахмала. Много из сегрегантов были некопулирующими, однако, хотя и в малой степени, встречались и копулирующие. Данные, полученные при изучении споруляций, еще раз доказывают гибридную природу изолированных штаммов.

Результаты этой работы показывают перспективность нашего подхода для создания штаммов дрожжей с глюкоамилазной активностью. Биохимические и пивоваренные свойства полученных гибридов пивных дрожжей будут рассмотрены в следующей статье.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Захаров И. А., Кожин С. А., Кожина Т. Н., Федорова И. В. (1984) Сборник методик по генетике дрожжей сахаромикетов, изд. 2-е, Наука, Ленинград.
2. Инге-Вечтомов С. Г. (1963) Новые генетические линии дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, Вестник ЛГУ, сер. биол., № 21, вып. 4, 117—121.
3. Инге-Вечтомов С. Г., Ницай О. В., Тер-Аванесян М. Д. (1971) Анализ расщепления у полиплоидов Петергофских генетических линий дрожжей, Генетика, 7, 65—73.
4. Инге-Вечтомов С. Г., Репневская М. В., Карпова Т. С. (1986) Изучение скрещивания клеток одинакового типа спаривания у дрожжей сахаромикетов, Генетика, 22, 2625—2636.
5. Карпова Т. С., Горденин Д. А., Андрианова В. М., Инге-Вечтомов С. Г. (1983) Генетический экспресс-тест для различения гаплоидов и автоплоидов у дрожжей сахаромикетов, Генетика, 19, 1934—1940.
6. Chattoo B. B., F. Sherman D. A., Azubalis T. A., Fjellstedt D., Mehner M. Ogur (1979) Selection of *lys2* mutants of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* by the utilization of  $\alpha$ -amino adipate, Genetics, 93, 51—65.
7. De Figueroa L. I. C., de van Brook M. R. G. (1985) Spheroplast fusion of a brewing yeast strain with *Saccharomyces diastaticus*, Appl. Microbiol. Biotechnol., 21, 206—209.
8. Goodey A. R., Tubb R. S. (1982) Genetic and biochemical analysis of the ability of *Saccharomyces cerevisiae* to decarboxylate cinamic acids, J. Gen. Microbiol., 128, 2615—2620.
9. Gunge N., Nakatomy Y. (1972) Genetic mechanism of rare mating of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* heterozygous for mating type, Genetics, 70, 41—58.
10. Hockney R. C., Freeman R. F. (1980) In: Advances in protoplast research, (L. Ferenczy, G. L. Farcas, Eds.), Academiai Kiado (Pergamon, Oxford), Budapest, 139—144.
11. Karpova T. S., Gordenin D. A., Kozina T. N., Andrianova V. M., Larionov V. L., Inge-Vechtomov S. G. (1984) Rapid genetic test for discrimination between haploid and polyploid transformants in *Saccharomyces*, Curr. Genet., 8, 341—344.
12. Roman H., Hawthorne D. C., Douglas H. C. (1951) Polyploidy in yeast and its bearing of the occurrence of irregular genetic ratios, Proc. Natl. Acad. Sci (USA), 37, 79—81.
13. Sherman F., Fink G. R., Hicks J. B. (1981) Methods in yeast genetics. Laboratory manual. Cold Spring Harbor Lab., Cold Spring Harbor.

14. Tamaki H. (1978) Genetic studies of the ability to ferment starch in *Saccharomyces*: gene polymorphism, Mol. Gen. Genet., 164, 205—209.

## Получаване на хибриди пивни дрожди, притежаващи глюкоамилазна активност.

### I. Конструирание на хибридни щамове дрожди с глюкоамилазна активност

К. Лахчев<sup>1</sup>, Т. Гинова-Стойанова<sup>2</sup>  
Институт по микробиология — БАН<sup>1</sup>  
Институт по пивоварна промишленост и хмело-производство, София<sup>2</sup>

#### (РЕЗЮМЕ)

Получени са хибриди пивни дрожди, притежаващи способност да синтезират ензима глюкоамилаза (глюкан 1,4- $\alpha$ -глюкозидаза, E.C.3.2.1.3.). За тази цел първоначално е проведен генетичен анализ на щам *Saccharomyces diastaticus* с добра глюкоамилазна активност. Доказано е, че този щам не може да бъде използван за производство на пиво, защото носи гена POF1, кодиращ биосинтезата на ензима декарбоксилаза на феруловата киселина, чието функциониране предизвиква характерен „фенолен вкус“ на пивото. Щамът *S. diastaticus* е кръстосан с щам *S. cerevisiae* от Петерховските генетични линии дрожди с фенотип  $Pof^-$ . От получения хибрид са изолирани 4 мейотични сегреганта с фенотип  $Sta^+ Pof^-$ . Тези сегреганти са кръстосани с четири пивоварни щамове дрожди, като е използвана техниката за „незаконната копулация“. В резултат на опитите са конструирани няколко хибрида пивни дрожди, притежаващи глюкоамилазна активност, които са перспективни за производството на нискокалорично пиво.

## Obtaining of Brewing Hybrid Strains with Glucoamylase Activity.

### I. Construction of Hybrid Yeast Strains with Glucoamylase Activity

К. Lahtchev<sup>1</sup>, T. Ginova-Stoyanova<sup>2</sup>  
Institute of Microbiology, Bulgarian Academy of Sciences<sup>1</sup>  
Institute of Brewing Industry, Sofia<sup>2</sup>

#### (SUMMARY)

Several hybrids of brewing yeast with capacity to produce enzyme glucoamylase (glucan 1,4- $\alpha$ -glucosidase E.C.3.2.1.3.) are obtained. We started with the genetic analysis of one strain *Saccharomyces diastaticus* having good glucoamylase activity. This strain is undesirable for the production of beer because it has a gene POF1 coding for the ferulic acid decarboxilation enzyme causing characteristic phenolic of flavour. The strain *S. diastaticus* is crossed with the strain *S. cerevisiae* from the Peterhoff genetic-lines having phenotype  $Pof^-$ . After that from the obtained hybrid four meiotic segregants with the phenotype  $Pof^- Sta^+$  are isolated. These segregants are crossed with four brewing strains by means of the rare mating technique. As a result of these experiments several brewing hybrids with glucoamylase activity are constructed, perspective for the production of low carbohydrate beer.