

# O myceliálních formách jedné kvasinky *Torulopsis utilis* (*Candida utilis*)<sup>+</sup>

LEOPOLD J., PALIVEC A.,\*) FENCL Z.,\*\*) VALTER Z., Biochemický výzkum závodu Julia Fučíka, Kaznějov,  
Spolana—Neratovice 582.282.23

Z kvasinkovitých mikroorganismů mají výslovný sklon k tvorbě myceliálních forem (pseudomycelií) především patogenní kvasinka *Candida albicans* a *Candida tropicalis*, používaná k výrobě biomasy v průmyslovém měřítku. Kvasinkám *Torulopsis utilis* nebyla však tato vlastnost připisována.

Při pěstování kvasinky *Torulopsis utilis* v předhydrolyzátech slámy, pozorovali Gailorová [1], dále Fink, Glauhitz a Gailorová [2] a Fink a Gailorová [3], silně prodloužené kvasinkovité buňky a dokonce myceliální formy, které byly z počátku pokládány za infekce křísovitnými kvasinkami nebo kvasinkami rodu *Monilia*. Důkladným studiem tohoto zjevu však bylo zjištěno, že nešlo o infekci, ale že se někdy tvořily za určitých podmínek buňky abnormálních tvarů přímo z buněk pěstované kvasinky *Torulopsis utilis*. Tato pozorování, učiněná v pokusném provozu, vzbudila nejen zájem teoretiků, ale i praktiků. Šlo o důležité zjištění, že kvasinka *Torulopsis utilis*, které do té doby nebyla přiznána schopnost tvorby silně prodloužených buněk a pseudomycelií, dovele za určitých podmínek tuto vlastnost získat a chovat se podobně jako např. kvasinky rodu *Candida*. Pro praxi je to důležité jednak z hlediska správného rozlišení infekčních kvasinek od abnormálních forem kvasinky *Torulopsis utilis*, jednak z hlediska provozních potíží, které se dostaví při výskytu myceliálních forem. Podle shora uvedených autorů se myceliální formy nahromadily v pěně zápar, způsobovaly potíže při separaci tím, že se trysky, separátory rychle zanesly a dále při lisování kvasinek, protože obsahovaly méně sušiny než obvykle.

Další výskyt myceliálních forem u kvasinky *Torulopsis utilis*, pěstované v sulfítových výluzích,

†) Z části předneseno na celostátním sjezdu čs. techn. mikrobiologů, Praha 1954. Leopold J., Palivec A., Fencl Z.: O myceliálních formách jedné kvasinky Torula.

\*) Nyní min. chem. průmyslu, Praha.

\*\*) Nyní ČSAV, Biologický ústav, Praha.

byl zaznamenán Klaushoferem [4] při kultivaci těchto kvasinek na sladince a zvlášt na sladince ztužené agarem; podle fyziologických zkoušek měly kvasinky všechny znaky použitého kmene *Torulopsis utilis* a nešlo tedy o infekci.

Při našich poloprovozních pokusech pěstování kvasinky *Torulopsis utilis* v odpadních louzích po citronovém kvašení [5] byla občas a pouze sporadicky pozorována krátká mycelia, původně považovaná za infekce. Výskyt většího množství prodloužených buněk a myceliálních forem byl však zjištěn na starších agarových kulturách, připravených z odpadního louhu po výrobě kyseliny citronové. I v tomto případě se však dalo prokázat, že nejde o nějaký druh infekčních kvasinek, ale že myceliální formy patří k čisté kultuře kvasinky *Torulopsis utilis*. V této práci je studován vliv složek řady substrátů, které povzbuzují tvorbu myceliálních forem kvasinky *Torulopsis utilis*, adaptované na odpadní louhy po citronovém kvašení.

## Materiál a metodika

### Mikroorganismy

Byla použita kvasinka *Torulopsis utilis*, adaptovaná na odpadní louhy po citronovém kvašení [5], dále neadaptovaná kvasinka *Torulopsis utilis*, za kterou děkujeme prof. Dr. Dyrovi, vedoucímu katedry kvasné chemie na Vys. škole chemicko-technologické v Praze a konečně běžné pekařské droždi.

### Živné půdy

a) Bramborová půda: 1,2 kg loupaných bramborů bylo nakrájeno na kostky, které byly vařeny  $\frac{1}{2}$  hod s 1 l vody. Roztok získaný po filtraci přes plachetku byl sterilován, vyloučená sraženina byla odstraněna a filtrát po přísladě 2 % glukózy byl znova vysterilován.

b) Bramborová půda a) ztužená 2 % agaru.

c) Bramborová půda podle Nickersona a van Rijové [6], avšak bez agaru.

d) Minerální půda: 0,1 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,05 %  $\text{MgSO}_4$ , 2 % glukózy, několik kapek kvasničného extraktu a 72,7 mg dusíku v 1 l půdy (dusík ve formě síranu amonného nebo jako organický dusík nebo oba druhy dusíku).

e) Agarová půda z odpadního louhu po citronovém kvašení: odpadní louh z citronového kvašení, upravený k pěstování kvasinky *Torulopsis utilis* [5] byl ztužen 2 % agaru.

f) Sladinková půda: výtažek ze sladu ( $8^0 \text{Bg}$ ) s přísadou organického dusíku (72,2 mg/100 ml).

g) Sladinkový agar: výtažek ze sladu ( $8^0 \text{Bg}$ ) s 2 % agaru.

h) Kvasničná voda 10% s přísadou 2 % glukózy.

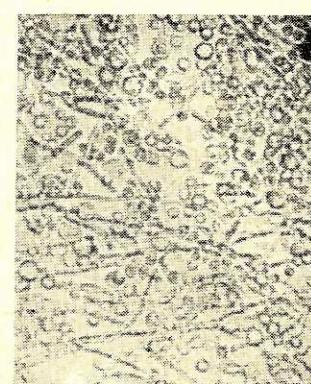
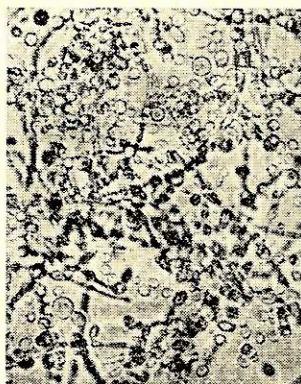
i) Peptonová půda: roztok 1 % peptonu s přísadou 2 % glukózy a anorganického dusíku (72,2 mg/100 ml).

j) Autolyzát kvasinek: propané a lisované pivovarské kvasinky byly autolyzovány týden při  $50^\circ$ , autolyzát byl ředěn vodou 1:10 a doplněn 2 % glukózy a event. 72,2 mg organického dusíku ve 100 ml roztoku.

k) Plísnová voda: mycelium plísně *A. niger* bylo důkladně propráno vodou, vylisováno, rozemleto na masovém strojku, 12 hod vařeno s vodou (200 g mycelia, 800 ml vody). Po vychladnutí byl mycel odfiltrován a promýván vodou, až filtrát obsahoval 650 ml a byl ředěn vodou v poměru 1:1.

l) Výtažek z *Lupinus luteus* (vlčí bob, lupina žlutá): po týdenním klíčení bylo 10 g lupiny rozemleto a extrahováno v 100 ml vody, a to buď 24 hod za studena, nebo 3 hod varem či dodatečným povařením výluhu ( $1\frac{1}{2}$  hod), připraveného za studena.

m) Voda z myceliálních forem kvasinky *Torulopsis utilis*: po několikadenním růstu kvasinky *Torulopsis utilis*, adaptované na odpadní louh po citronovém kvašení, ve sladince o  $8^0 \text{Bg}$  s 0,33 % asparaginu při  $30^\circ$  ve Fernbachových baňkách se vytvořilo značné množství myceliálních forem. Kvasinky byly filtrovány přes plachetku, přičemž se zachytily největší část myceliálních forem, zatím co kulaté buňky procházely. Promývání kvasinek na plachetce vodou, které odstranilo hlavně kulaté buňky, bylo prováděno tak dlouho, pokud nezačalo ubývat ve větší míře též mycelium (mikroskopická kontrola). Z mycelia byla připravena



Obr. 3. Množství myceliálních forem odpovídající ++

Obr. 4. Množství myceliálních forem odpovídající +++

kvasničná voda (10%) běžným způsobem s přísadou 2 % glukózy.

n) Bramborová plodová voda ze škrobárny Hořáždovice,  $2,3^0 \text{Bg}$ , pH 5,5.

o) C-, resp. N-půda ke zkoušení asimilace uhlíku, resp. dusíku: Roztok s 0,1 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a 0,05 %  $\text{MgSO}_4$ , mimo to do C-půdy 1 % síranu amonného a zkoušený zdroj uhlíku (2 %), do N-půdy 2 % glukózy a zkoušený zdroj dusíku (1 %).

p) Tryptický hydrolyzát kaseínu (25 g ve 100 ml) byl použit ve zředění 1:8 s přísadou 2 % glukózy, 0,1 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a 0,05 %  $\text{MgSO}_4$ .

r) Melasová půda: 100 g melasy a 20 g sladových kličků v 1 l vody bylo vařeno  $\frac{1}{4}$  hod, neutralizováno s  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a po přidání 3 g superfosfátu znovu vařeno  $\frac{1}{4}$  hod, neutralizováno, filtrováno přes plachetku, přes filtr, ředěno na  $8^0 \text{Bg}$  a sterilováno.

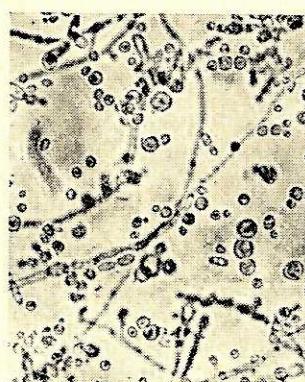
Zkvašování cukru bylo provedeno v Durhamových plynovkách. Byla použita 5% kvasničná voda s 2 % zkoušeného cukru.

Kultivace kvasinek se prováděla při  $32^\circ \text{C}$ , ve zkumavkách a kultura byla vždy po dvou dnech pasážována a morfologicky sledována.

Stanovení množství myceliálních forem. Oproti Nickersonovi a Mankowskému [7], kteří stanovili množství myceliálních forem u *Candida albicans* pozorováním okrajů nátěrů na agarových půdách, vyhodnocovali jsme tvorbu vláknitých forem naší kvasinky *Torulopsis utilis* v tekutých kulturách, ve kterých byly pěstovány. Vzorek byl odebrán z protřepané zkumavky a mikroskopován nezředěn, takže mikroskopické obrazy jednotlivých kultur byly přímo srovnatelné. Množství myceliálních forem bylo vyjádřeno křížky (+ až ++++); tomuto označení odpovídající přibližné obrazy kultur jsou zachyceny na obr. 1, 2, 3 a 4.

### Výsledky

Vliv způsobu kultivace na tvorbu myceliálních forem. Na kulturách adaptované kvasinky *Torulopsis utilis*, pěstované na agarové půdě a odpadním louhu po citronovém kvašení, byly po uplynutí několika týdnů pozorovány vláknité tvary. Nešlo o infekce, neboť celá řada myceliálních vláken vyrůstala z kvasničných buněk a vlákna bylo možno identifikovat jako pseudomycelia (obr. 5 a 6) [8]. Na obr. 6 je pozoruhodné vypučení dvou pseudomycelií z jedné kvasničné buňky, odpovídá-



Obr. 1. Množství myceliálních forem odpovídající +

Obr. 2. Množství myceliálních forem odpovídající ++

jící svým nasazením tzv. „Schultersprossung“, tedy způsobu pučení, které je charakteristické pro buňky kvasinky *Torulopsis utilis*; liší se tím od kulturních kvasinek a od kvasinek rodu *Candida* [9]. Po přeočkování zmíněné, několik týdnů staré kultury na sladinkový agar vyrostla směs normálních buněk a myceliálních vláken a další přenos do tekuté sladinky, melasové půdy a odpadního louhu po citronovém kvašení vedl ke kulturám se smíšenými formami buněk, přičemž ubývalo filamentů v uvedeném pořadí půd. Schopnost sladinkové půdy, podporovat tvorbu myceliálních tvarů u *Torulopsis utilis*, pozoroval též *Klaushofer* [4]. Ze sladinkové půdy byla kvasinka přeočkována na tekutou a na agarem ztuženou bramborovou půdu. Nejvíce myceliálních forem se vytvořilo na tekuté bramborové půdě, na agarové půdě pouze o něco více než na sladince, resp. sladinkovém agaru. Při dalším pasážování na tekuté bramborové půdě nedošlo k namnožení myceliálních forem.

U popsaných pokusů jsme vycházeli z kultur kvasinek, které již obsahovaly myceliální formy. Čerstvé kvasinky vypěstované ve Finkově aparatuře na odpadním louhu po citronovém kvašení, vytvořily po přeočkování na bramborovou půdu též myceliální formy, avšak v mnohem menším množství než kvasinky ze stacionárních kultur. I zde byla tekutá bramborová půda vhodnější než táz půda ztužená agarem. Byla-li kultura normálních a myceliálních buněk v tekuté bramborové půdě třepána 24 hod při 32° C, rozmnožily se myceliální buňky asi pětinásobně, a to pravděpodobně proto, že došlo k rychlejšímu množení buněk vůbec, zatím co ve stacionární kultuře zůstal obraz po stejně době nezměněn. Byl-li pokus se stejným inkolem proveden za větrání při 32° C ve Kluyverově válci, zůstalo množství myceliálních forem po 24 hod nezměněno, po dalších 24 hod jich značně ubylo. Intenzivnější aerace a silnější pohyb snižovaly tvorbu filamentů.

**Charakteristika kolonií.** Z kultury v tekuté bramborové půdě se směsí normálních a myceliálních buněk byly za použití agarové bramborové půdy vypěstovány kolonie, které byly podrobeny makro- i mikroskopické analýze. Výsledek studia více než 70 kolonií byl tento: asi polovina kolonií měla lesklý a hladký povrch, též okraj byl hladký a rovný. Tyto kolonie se skládaly z normálních kvasničných buněk. Druhá polovina kolonií měla povrch lesklý až matný, též zrnitý, krupičkovitý až svrásněný, okraj řasnatý až vroubkovaný; tyto kolonie se skládaly ze směsi kulatých a pseudomy-

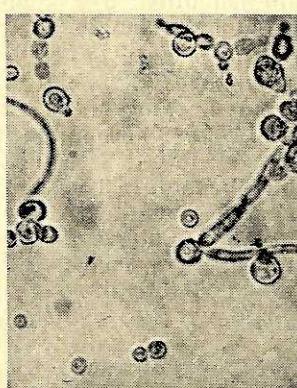
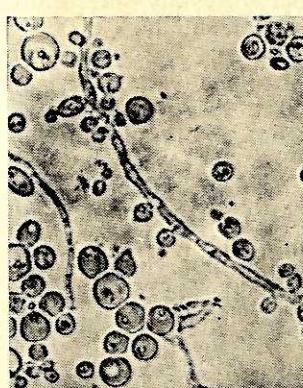
celiálních buněk. Nepodařilo se zjistit kolonii, která by se skládala pouze z pseudomycelií. Ze vzhledu kolonií nelze s jistotou soudit na přítomnost určitých morfologických tvarů; přibývání pseudomyceliálních forem udělí koloniím hrubší povrch a nestejnometerný okraj. Kvasničné buňky přenesené ze 4 kolonií, obsahujících pouze kulaté buňky, do tekuté bramborové půdy, byly již po 24 hod inkubaci zčásti přeměněny v pseudomycelia, tj. že i kvasničné buňky homogenních kolonií kvasinek mají veliký sklon k tvorbě pseudomycelií.

**Porovnání adaptované kvasinky s neadaptovanou kvasinkou *Torulopsis utilis*.** Obě kvasinky byly shodné v tom, že nezvášovaly maltózu, laktózu, d-arabinózu, d-galaktózu a xylózu, že zkvašovaly slabě rafinózu a silněji glukózu a sacharózu. Nezvášovaly želatinu (půda s 10 % sladu a 10 % želatiny) ani po 3 dnech a asimilovaly síran amonné, dusičnan draselný a močovinu jako jediné zdroje dusíku. Alkohol jako jediný zdroj uhlíku byl slabě asimilován až po 2 dnech. Tvorba spor nebyla pozorována ani po 40 dnech. Asimilací dusičnanu a močoviny se použitá kvasinka liší od *Candida tropicalis*. Charakteristika kvasinky je doplněna nezkvasitelností galaktózy a maltózy a slabou zkvasitelností rafinózy.

**Neadaptovaná kvasinka *Torulopsis utilis*** byla pěstována v tekuté bramborové půdě a v denních intervalech byla pasážována 7krát; nanejvýše se tvořily protáhlé buňky, avšak žádné pseudomycelium. Po poslední pasáži byla kvasinka 3krát pasážována na sladinkové půdě s kyselinou glutamovou a s heterauxinem, avšak i zde došlo pouze k tvorbě malého množství protáhlých buněk. Teprve během dalších tří přenosů do kvasničného autolyzátu vznikla vedle protáhlých buněk sporadicky mycelia, jejichž množství se zvětšilo někdy po delší pasáži v bramborové půdě podle *Nickerseona* [6].

**Vliv přísady různých látek do minerální půdy na adaptovanou kvasinku.** U těchto a u všech dalších pokusů bylo použito kvasinek, získaných pěstováním v odpadních louzích ve Finkově aparatuře. V každé půdě bylo provedeno několik pasáží při 32° C ve dvoudenních intervalech. Pro stručnost jsou uvedena pouze množství vytvořených mycelií z poslední pasáže. Výsledky pokusů jsou seřazeny v tab. 1.

Minerální půda s anorganickým zdrojem dusíku podporuje velmi slabě tvorbu myceliálních forem. Ze zkoušených aminokyselin stimuluje vznik filamentů serin, asparagin,  $\alpha$ -alanin a nejvíce  $\beta$ -alanin, slaběji močovina. V kombinaci s asparaginem byl  $\beta$ -alanin méně účinný. Heterauxin stimuluje silně tvorbu mycelií v přítomnosti anorganického dusíku, zatím co s  $\alpha$ -alaninem se chovají jako antagonisté. V přítomnosti asparaginu jako zdroje organického dusíku prokázala řada vysokomolekulárních látek dosti velký účinek: byl to glycogen, želatina a pektin, větší efekt měl škrob, agar a tylóza a nejintenzivněji působil dextran. S anorganickým dusíkem měl škrob menší stimulační efekt na tvorbu mycelií, který byl cysteinem úplně potlačen. Kombinace síranu amonného s aminokyselinami, někdy i v přítomnosti heterauxitu a škrobu, nepodnítila vznik filamentů, pouze v případě  $\beta$ -alaninu, serinu a asparaginu, které jsou sami o sobě dobrými stimulátory. Vitamin K a demekolcín v dostatečné koncentraci podporují tvorbu mycelií. Galaktóza a xylóza vyuvolají více



Obr. 5. Pseudomycelia kvasinky *Torulopsis utilis*

Obr. 6. Pseudomycelia kvasinky *Torulopsis utilis*

Tabulka 1

Vliv příslady různých látek do minerální půdy na tvorbu myceliálních forem

| Zdroj dusíku            | Příslady   | Pasáže | Množství myceliálních forem |
|-------------------------|--|--------|-----------------------------|
| síran amonný            | —  | 2      | <+                          |
| močovina                | —  | 2      | +                           |
| serin                   | —  | 2      | + až ++                     |
| α-alanin                | —  | 2      | ++                          |
| β-alanin                | —  | 2      | ++ až +++                   |
| kyselina glutamová      | —  | 2      | <<+                         |
| kyselina asparagová     | —  | 2      | <<+                         |
| asparagin               | —  | 2      | + až ++                     |
| síran amonný            | heterauxin<br>(0,1–0,6 mg/100 ml)                                | 2      | +++                         |
| α-alanin                | heterauxin<br>(0,1 mg/100 ml)                                    | 2      | <+                          |
| α-alanin                | škrob (1 %)  | 2      | +                           |
| asparagin               | arabská guma (1 %)   | 4      | 0                           |
| asparagin               | rozpuštěný škrob (1 %), větší konc.<br>(až 4 %) nezvýšení efekt  | 3      | ++ až +++                   |
|                         | nerozpustný škrob (2,5 %)  | 2      | ++ až +++                   |
| asparagin               | agar (0,1 %)   | 1      | ++ až +++                   |
| asparagin               | agar (0,1 %) + KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub><br>(0,1 a 0,3 %)  | 1      | ++ až +++                   |
| asparagin               | tylóza (1 %):<br>teprve po 4. pasáži                             | 4      | ++ až +++                   |
| asparagin               | alginát (1 %)  | 3      | 0                           |
| asparagin               | amylopektin (1 %)  | 3      | +                           |
| asparagin               | glykogen (1 %)   | 3      | ++                          |
| asparagin               | želatin (2 %)  | 3      | ++                          |
| asparagin               | dextran (1 %)  | 3      | +++ až +++++                |
| asparagin               | dextran (1 %) + KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub><br>(0,1 a 0,3 %) | 3      | +++ až +++++                |
| asparagin               | pektin (1 %)   | 3      | ++                          |
| síran amonný (s. a.)    | škrob (1 %) rozpustný  | 2      | + až ++                     |
| síran amonný (s. a.)    | škrob (1 %) nerozpustný  | 2      | + až ++                     |
| síran amonný (s. a.)    | škrob (1 %) rozp. + cystein.<br>HCl/0,157 g/100 ml               | 2      | 0                           |
| síran amonný (s. a.)    | škrob (1 %) nerozp. +<br>+ cystein. HCl                          | 2      | 0                           |
| s. a. + kys. glutamová  | —  | 2      | 0                           |
| s. a. + kys. asparagová | —  | 2      | 0                           |
| s. a. + asparagin       | —  | 2      | 0                           |
| s. a. + α-alanin        | heterauxin (0,1 mg/<br>100 ml) + škrob (1 %)                     | 2      | 0                           |
| s. a. + β-alanin        | heterauxin (0,1 mg/<br>100 ml) + škrob (1 %)                     | 2      | +                           |
| s. a. + močovina        | heterauxin (0,1 mg/<br>100 ml) + škrob (1 %)                     | 2      | 0                           |
| s. a. + serin           | heterauxin (0,1 mg/<br>100 ml) + škrob (1 %)                     | 2      | ++                          |
| s. a. + asparagin       | heterauxin (0,1 mg/<br>100 ml) + škrob (1 %)                     | 2      | ++                          |
| síran amonný            | vitamin K:<br>0,3–1,2 mg/100 ml                                  | 2      | <<+ až +                    |
| síran amonný            | 2,0–4,0 mg/100 ml  | 2      | + až ++                     |
| síran amonný            | demekolcin:<br>0,3–3,0 mg/100 ml                                 | 2      | 0                           |
| síran amonný            | 2,0–4,0 mg/100 ml  | 2      | ++ až +++                   |
| síran amonný            | (s glukózou)   | 2      | <+                          |
| síran amonný            | místo glukózy: laktóza   | 2      | +                           |
| síran amonný            | galaktóza  | 2      | <++                         |
| síran amonný            | xylóza   | 2      | <++                         |
| síran amonný            | glukóza + cystin<br>(0,24 g/100 ml)                              | 2      | + až ++                     |
| síran amonný            | laktóza + cystin<br>(0,24 g/100 ml)                              | 2      | + až ++                     |
| asparagin               | β-alanin: 0,25 g/100 ml  | 2      | + až ++                     |
| asparagin               | 0,5 g/100 ml   | 2      | + až ++                     |

myceliálních forem než glukóza a laktóza; cystin málo ovlivňuje působení glukózy a laktózy.

Vliv příslady různých látek do kvasničné půdy a do autolyzátu na tvorbu myceliálních forem. Pokusy byly provedeny analogicky jako pokusy s minerální půdou. Výsledky jsou sestaveny v tab. 2.

Kvasničná voda je velmi špatné médium pro tvorbu myceliálních forem. Z dikarboxylových aminokyselin působila stimulačně pouze kyselina asparagin.

ragová, z vysokomolekulárních látek, vedle agaru, hlavně rozpustný škrob, amylopektin a arabská guma, dále vitamin K a demekolcin.

Ve kvasničné vodě, vyrobené z myceliálních forem *Torulopsis utilis* s glukózou a bez glukózy, byly pasážovány adaptovaná kvasinka *Torulopsis utilis* a pekařské droždí. V první pasáži kvasinky *Torulopsis utilis* v médiu bez cukru odpovídalo množství myceliálních forem + až ++, po třetí pasáži ++, zatím co mycelia, vytvořená v množství + až ++ během první pasáže v kvasničné vodě s glukózou, zmizela již po druhé pasáži. Při pasážování pekařského droždí stejným způsobem se netvořily myceliální formy ani po třech pasážích.

Tabulka 2

Vliv příslady různých látek do kvasničné vody s 0,75 % kyseliny glutamové a 2 % glukózy na tvorbu myceliálních forem

| Příslady                      | Pasáže | Množství myceliálních forem |
|-------------------------------|--------|-----------------------------|
| kyselina asparagová (1 %)     | —      | <<+                         |
| kyselina glutamová (1 %)      | 2      | + až ++                     |
| asparagin (1 %)               | 2      | 0                           |
| glykogen (1 %)                | 3      | <+                          |
| želatin (2 %)                 | 3      | 0                           |
| škrob nerozpustný (2,5 %)     | 4      | <+                          |
| škrob rozpustný (1 %)         | 2      | + až ++                     |
| alginát (1 %)                 | 3      | 0                           |
| amylopektin (2 %)             | 3      | + až ++                     |
| dextrán (1 %)                 | 3      | <+                          |
| pektin (1 %)                  | 3      | <+                          |
| agar (0,1 %)                  | 3      | +                           |
| tylóza (1 %)                  | 4      | 0                           |
| arabská guma (2 %)            | 4      | asi ++                      |
| vitamin K: 0,3–1,2 mg/100 ml  | 2      | + až ++                     |
| 2,0–4,0 mg/100 ml             | 2      | + až ++                     |
| demekolcin: 0,3–1,2 mg/100 ml | 2      | +                           |
| 2,0–4,0 mg/100 ml             | 2      | + až ++                     |

Při pasážování adaptované kvasinky *Torulopsis utilis* a pekařského droždí v plísňové vodě bez cukru se ukázalo, že kvasinka *Torulopsis utilis* vytvořila po třech pasážích myceliální formy v množství + až ++, zatím co se u pekařského droždí za stejnou dobu začínala tvořit pouze krátká mycelia v malém množství.

Výsledky, získané při pasážích v autolyzátu kvasinek, jsou shrnutý v tab. 3. Zatím co kvasničná voda téměř nestimulovala tvorbu mycelií, ukázal se autolyzát kvasinek výborným stimulátem. Příslady škrobu, dikarboxylových aminokyselin jednotlivě a v kombinaci nezvýšily již stimulační efekt autolyzátu, spíše jej snížily.

Vliv příslady látek do hydrolyzátu kaseinu a do peptonové půdy na tvorbu myceliálních forem. S adaptovanou kvasinkou *Torulopsis utilis* a s hydrolyzátem kaseinu provedené pokusy jsou sestaveny v tab. 4. Hydrolyzát kaseinu stimuluje tvorbu filamentů asi ve stejně míře jako tekutá bramborová voda (viz dale). Zatím co v přítomnosti kyseliny glutamové a kyseliny asparagové je tvorba filamentů menší, je asparagin bez vlivu. V protikladu k bramborové vodě podporuje škrob silně vznik mycelia, stejně jako heterauxin; v obou případech však snížuje vznik filamentů přítomnost kyseliny glutamové, kyseliny asparagové a asparaginu.

Při použití peptonové půdy se i po přísladě asparaginu netvořil po dvou pasážích žádný mycel; po

Tabulka 3

Vliv příslady škrobu a několika aminokyselin k auto-lyzátu kvasinek na tvorbu myceliálních forem

| Příslady                          | Pasáže | Množství myceliálních forem |
|-----------------------------------|--------|-----------------------------|
| —                                 | 2      | +++                         |
| škrob (1 %)                       | 2      | +++                         |
| kyselina glutamová                | 2      | + až ++                     |
| škrob (1 %) + kyselina glutamová  | 2      | ++ až +++                   |
| kyselina asparagová               | 2      | ++                          |
| škrob (1 %) + kyselina asparagová | 2      | ++                          |
| asparagin                         | 2      | ++                          |
| škrob (1 %) + asparagin           | 2      | ++ až +++                   |

přísladě kyseliny asparagové vzniklo malé množství (< +), v přítomnosti kyseliny glutamové větší množství mycelia (+ až ++).

*Vliv příslady různých látek do bramborových půd, bramborové hlízové vody a sladinky na tvorbu myceliálních forem.* Výsledky působení aminokyselin, glukózy a škrobu, přidaných do bramborové tekuté půdy, do bramborové hlízové vody a do sladinky, jsou shrnutý v tab. 5. Již dříve bylo uvedeno, že tekutá bramborová půda podporuje silněji tvorbu mycelií, než tatož půda ztužená agarem. Přítomnost glukózy brzdí vznik myceliálních forem. Kyselina glutamová a kyselina asparagová jsou bez účinku, kdežto asparagin stimuluje vznik filamentů.

Tabulka 4

*Vliv příslady různých látek do hydrolyzátu kaseinu na tvorbu myceliálních forem*

| Příslady                          | Pasáže | Množství myceliálních forem |
|-----------------------------------|--------|-----------------------------|
| —                                 | 2      | ++                          |
| kyselina glutamová                | 2      | +                           |
| kyselina asparagová               | 2      | <+                          |
| asparagin                         | 2      | ++                          |
| škrob rozpustný (1 %) (šk. r.)    | 2      | +++                         |
| šk. r. + kyselina glutamová       | 2      | +                           |
| šk. r. + kyselina asparagová      | 2      | <+                          |
| šk. r. + asparagin                | 2      | ++                          |
| heteroauxin: 0,1 mg/100 ml        | 2      | ++ až +++                   |
| heteroauxin + kyselina glutamová  | 2      | +                           |
| heteroauxin + kyselina asparagová | 2      | ++                          |
| heteroauxin + asparagin           | 2      | ++                          |
| škrob (šk.) + heteroauxin (h.)    | 2      | ++                          |
| šk. + h. + kyselina glutamová     | 2      | <+                          |
| šk. + h. + kyselina asparagová    | 2      | ++                          |
| šk. + h. + asparagin              | 2      | ++                          |

Bramborová hlízová voda není tak účinná jako bramborová půda. I zde brzdí glukóza tvorbu filamentů, příslada škrobu, zvláště spolu s heteroauxinem, tuto inhibici odstraní.

Sladinka je asi tak účinná jako bramborová hlízová voda. Příslada kyseliny glutamové a kyseliny asparagové, zvláště pak asparaginu, zvýší tvorbu filamentů na přibližně stejnou intenzitu jako u bramborové půdy.

Zatím co bramborová půda dává jodem pozitivní reakci na škrob, je v hlízové bramborové vodě slabší, ve sladince reakce negativní.

Od uvedené tekuté bramborové půdy se liší bramborová půda podle Nickersona [6], která se získá studenou extrakcí brambor. Byl zkoušen vliv různých přípravy Nickersonovy půdy a příslada některých iontů a aminokyselin na tvorbu myceliálních forem adaptované kvasinky; výsledky pokusů jsou

zachyceny v tab. 6. Ve srovnání s naší tekutou bramborovou půdou stimuluje tekutá bramborová půda podle Nickersona značně méně tvorbu filamentů adaptované kvasinky *Torulopsis utilis*. Jednotlivé příslady asparaginu a heteroauxinu k Nickersonově půdě zvýšily značně tvorbu filamentů, škrob byl však bez účinku. Působením pankreatinu na hotovou půdu se pravděpodobně uvolní látka, podporující tvorbu filamentů; efekt pankreatinu byl však ještě intenzivnější, působil-li během extrakce. Vliv působení papainu s KCN na půdu lze přičíst samotnému KCN. Ionty Co silně stimulovaly tvorbu mycelií, stoupající koncentrace iontů Mg působila antagonisticky.

Tabulka 5

*Vliv příslady různých látek do tekuté bramborové půdy, do bramborové hlízové vody a do sladinky na tvorbu myceliálních forem*

| Příslady                                      | Pasáže | Množství myceliálních forem |
|---|--------|-----------------------------|
| Bramborová půda tekutá:                       | 2      | ++                          |
| glukóza (2 %)                                 | 2      | <+                          |
| kyselina glutamová                            | 2      | ++                          |
| kyselina asparagová                           | 2      | + až ++                     |
| asparagin                                     | 2      | +++                         |
| Bramborová hlízová voda:                      | 2      | +                           |
| glukóza (2 %)                                 | 2      | <+                          |
| glukóza + škrob rozpustný (1 %)               | 2      | +                           |
| glukóza + škrob + heteroauxin (0,1 mg/100 ml) | 2      | >+                          |
| Sladinka:                                     | 2      | <+                          |
| kyselina glutamová                            | 2      | ++                          |
| kyselina asparagová                           | 2      | ++                          |
| asparagin                                     | 2      | +++                         |
| výtažek z vlčího bobu                         | 3      | ++                          |

### Diskuse

Podezření, že by u zpočátku pozorovaných a uměle vyvolaných myceliálních forem adaptované kvasinky *Torulopsis utilis* mohlo jít o infekci, bylo neopodstatněné. Způsob růstu pseudomycelií, srovnávací pokusy zkvasitelnosti různých cukrů a asimilace různých zdrojů dusíku adaptované a neadaptované kvasinky ukazují jednoznačně na kvasinku *Torulopsis utilis*. Identifikační testy vylučují vedle mikroorganismů, tvořících pravý mycel, též kvasinku *Candida tropicalis*, mající veliký sklon k tvorbě pseudomycelií.

Tabulka 6

*Vliv způsobu přípravy bramborové půdy podle Nickersona s 2 % glukózy a příslady různých látek na tvorbu myceliálních forem*

| Příslady   | Pasáže | Množství myceliálních forem |
|--|--------|-----------------------------|
| půda připravena při 20°                                  | 3      | +                           |
| půda připravena při 37°                                  | 3      | 0                           |
| působení pankreatinu na hotovou půdu při 20°             | 3      | + až ++                     |
| působení pankreatinu na hotovou půdu při 37°             | 3      | ++                          |
| působení pankreatinu při 20° během extrakce,             | 3      | +++                         |
| působení pankreatinu při 37° během extrakce              | 3      | +++                         |
| příprava půdy v přítomnosti papainu + KCN                | 3      | ++                          |
| příprava půdy v přítomnosti KCN                          | 3      | ++                          |
| COSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O (6,25 mg CO/100 ml) | 1      | ++ až +++                   |
| škrob rozpustný (1 %)                                    | 3      | <+                          |
| Co (6,25 mg) + MgSO <sub>4</sub> (0,05 %)                | 2      | ++                          |
| Co (6,25 mg) + MgSO <sub>4</sub> (0,1 %)                 | 2      | + až ++                     |
| Co (6,25 mg) + MgSO <sub>4</sub> (0,15 %)                | 2      | 0                           |
| asparagin  | 2      | ++ až +++                   |
| asparagin + škrob  | 2      | ++                          |
| heteroauxin: 0,1 mg/100 ml                               | 2      | ++                          |
| heteroauxin + asparagin                                  | 2      | ++                          |

Zatím co u adaptované kvasinky *Torulopsis utilis* vznikne na některých půdách nejčastěji již po dvou pasážích značné množství myceliálních forem, dojde u neadaptované kvasinky *Torulopsis utilis*, i po více pasážích a při použití aktivačních půd k vzniku nanejvýše protáhlých buněk a pouze v řídkých případech k vytvoření malého množství pseudomycelia. Z toho lze soudit, že adaptovaná kvasinka *Torulopsis utilis* nabyla déletrvajícím pěstováním sklon k tvorbě pseudomycelia. Podle našich pozorování je vznik myceliálních forem podporován spíše mírnou než silnou areací, kdy mimo to asi silný pohyb média se podílí na potlačení vzniku filamentů. Na druhé straně však stálé množení kvasinek za silně aerobních podmínek pravděpodobně indukuje syntézu oxydativního enzymatického systému [10], čímž se může vytvořit dispozice k produkci myceliálních forem za vhodných podmínek (přeměna SH- na SS-skupiny).

U baktérií známé rozlišování R- a S-forem bylo též aplikováno na kvasinky. Přechod S- na R-formu v koloniích kvasinek znamená přibývání svazků kvasničných buněk, resp. myceliálních forem. Množství a různost myceliálních tvarů jsou příčinou výskytu různých typů R-kolonií. Na vhodné půdě námi pozorovaný snadný přechod kvasničných buněk v pseudomycelia vysvětluje morfologickou různorodost kolonií.

Zatím co naše kvasinka nebyla amoniakálním dusíkem v minerální půdě stimulována k produkci myceliálních forem, pozoroval Erikson [11] u *Nocardia-N. turbata* tvorbu myceliálních forem za stejných podmínek. V souhlase s nálezy u uvedeného mikroorganismu zvýšila přítomnost některých aminokyselin tvorbu filamentů též u naší kvasinky. Silný efekt  $\beta$ -alaninu se zdá napovídат tomu, že při tvorbě myceliálních forem zasahuje kyseleina pantothénová, kterou *Torulopsis utilis* sice doveďe syntetizovat pro svoji běžnou potřebu [12], avšak její větší produkce po případě  $\beta$ -alaninu podporuje pravděpodobně filamentaci. Asparagin, který je antagonistem  $\beta$ -alaninu [13], v našich pokusech snižuje poněkud jeho efekt. Jelikož může  $\beta$ -alanin vzniknout dekarboxylací kyseliny asparagové, která však nepodporuje vznik mycelií, její přeměna v  $\beta$ -alanin za zkušebních podmínek asi neprobíhá. U *Candida albicans* konstatovaný stimulující vliv heterauxinu na tvorbu myceliálních forem [14] se též projevil velmi intenzívne u naší kvasinky; heterauxin jako kdyby zde uplatňoval svojí u rostlinných klíčků známou funkci. Projevil se antagonismus mezi heterauxinem a  $\alpha$ -alaninem, močovinou a částečně  $\beta$ -alaninem.

Podle Nickersona mají být u kvasinky *Candida* zajištěny normální kvasinkovité tvary tehdy, funguje-li dělící proces jako následek vnitrobuněčných SH-skupin, resp. je-li udržována jejich dostatečně vysoká hladina. Dokazuje to příslada cysteinu nebo redukovánoho glutathionu, v jejichž přítomnosti se netvoří vláknité tvary. Podobně působí glukóza, jejíž metabolismus je spojen s redukcí SS-skupin; tak je SS-glutathion, resp. cystin redukován přenosem vodíku z TPNH [15], resp. z DPNH [16]. Mnoho kvasinek rodu *Candida* ztrácejí ve starších kulturách schopnost, udržet si v buňce SH-skupiny, neboť secerňují do média cystein a mechanismy redukující SS-skupiny [17].

U *Candida albicans* pozorovali Nickerson a Mankowski [7], že výměna glukózy za vysokomolekulární, těžko asimilovatelné látky způsobí pomalý

růst a hojnou tvorbu myceliálních forem, která byla zamezena přísladou cysteinu nebo glukózy do média. U našich pokusů je dlužno vyzdvihnout, že zkoušené vysokomolekulární látky, s výjimkou arabské gumy a alginátu, způsobily vznik někdy až překvapivě velkého množství myceliálních forem, a to v přítomnosti glukózy; pouze cystein, zkoušený v přítomnosti rozpustného a nerozpustného škrobu, zastavil v souhlase s názory Nickersona tvorbu filamentů. Zdá se, že funkce vysokomolekulárních látek při tvorbě myceliálních forem je složitější než ji vidí Nickerson. Jako možnost byla uvažována zvýšená viskozita média vlivem vysokomolekulárních látek; porovnání efektu rozpustného a nerozpustného škrobu (velmi viskozní roztok) a dextranu s ostatními látkami, mluví proti tomuto výkladu. Do tohoto komplexu otázek se řadí např. pozorování Seeligera [18], že *Candida albicans* roste v polopevném médiu s glukózou a Tweenem 80 za bohaté tvorby pseudomycelia, jež je počala cisteinem. Na agarové půdě s glukózou, glykokolem a kvasničným extraktem, zabránila přítomnost fosfátu tvorbu myceliálních forem u *Candida albicans* [7], zatímco u naší kvasinky neměl fosfát na vznik myceliálních forem, vyvolaných agarem nebo dextranem, žádný vliv. Nelze vyčistit souvislost mezi konstitucí vysokomolekulárních látek a jejich vlivem na vznik mycelií: nápadná je vysoká aktivita dextranu, který patří mezi serologicky aktivní polysacharidy [19]. Nesmíme však opomenout okolnost, že vliv vysokomolekulárních látek na tvorbu pseudomycelia je ještě závislý na složení basálního média.

O vitaminu K je známo, že blokuje SH-skupiny, takže po aplikaci v dostatečném množství mohlo vytvořit podle koncepce Nickersonovy podmínky k výskytu filamentů, k čemuž u našich pokusů skutečně došlo. Podle Nickersona a van Rijové [6] se tvorí pseudomycelium tím způsobem, že se dělení buněk, resp. jejich pučení zastaví, růst buněk však pokračuje. Zkoušeli jsme proto demekolcin z ocínu, který má silný tlumivý účin na buněčné dělení; podle očekávání způsobil poměrně silnou tvorbu myceliálních forem.

U *Candida albicans* postuluje McClary jako předpoklad filamentace přítomnost dobré asimilovatelného, avšak těžko zkvasitelného uhlohydrátu [20]. Z tohoto hlediska námi zkoušené cukry laktóza, galaktóza a xylóza, které jsou nezkvasitelné, avšak (mimo galaktózu), asimilovatelné naší adaptovanou kvasinkou, způsobily značnější tvorbu mycelií než glukóza. Příslada cystinu ke glukóze a laktóze podpořila jen slabě filamentaci.

Vliv různých sloučenin na produkci mycelií záleží na basálním médiu, se kterým se pokusy provádí. Minerální půda a kvasničná voda jako takové byly pro adaptovanou kvasinku špatnými stimulátory filamentace. Po případě některých látek se však mezi nimi vyskytly frapantní rozdíly. Tak např. měla v kvasničné vodě kyselina asparagová efekt a asparagin žádný, želatinu a tylózu byly bez účinku a dextran působil daleko slaběji než rozpustný škrob a amylopektin, zatímco arabská gumu byla dosud aktivní. Vitamin K a demekolcin působily u obou basálních médií asi stejně. Celkem je kvasničná voda horším médiem než minerální půda.

Zajímavé je porovnání kvasničné vody z pivovarských kvasnic s vodou z myceliálních forem *Torulopsis utilis* a s plísnovou vodou z plísně *Asper-*

*gillus niger*. Zatímco kvasničná voda téměř ne-stimulovala vznik myceliálních forem u adaptované kvasinky *Torulopsis utilis*, projevily se obě posledně jmenované půdy jako poměrně dobré stimulátory vzniku myceliálních forem u adaptované kvasinky, ne však u pekařského droždí. Znamená to, že lze z pseudomyceliálních buněk a z mycelia plísně extrahovat vočou látky, podporující tvorbu myceliálních forem, avšak pouze u kvasinky, která je k tomu disponovaná. Přítomnost glukózy tento efekt anuluje.

Oproti kvasničné vodě a peptonové půdě se ukázaly hydrolyzát kaseinu a zvláště autolyzát kvasinek dobrými až výbornými médií k produkci myceliálních forem. Zvláštní efekt autolyzátu lze, při srovnání s hydrolyzátem kaseinu, přičíst z velké části přítomnosti směsi aminokyselin, avšak musí zde působit ještě jiná(e) látka(y), zvyšující aktivitu této půdy nad aktivitu hydrolyzátu kaseinu. Dalo by se event. uvažovat o schopnosti kvasničného autolyzátu, podporovat oxydační efekty [21], a tím i oxydaci SH-skupin, vedoucí k tvorbě myceliálních forem. Kvalita autolyzátu se nedala použitými přísadami zlepšit, spíše se zhoršila. Hydrolyzát kaseinu byl aktivován přísadou škrobu nebo heteroauxinu.

Hydrolyzátu kaseinu se jako basální médium přiblížně vyrovnala tekutá bramborová půda, která je aktivnější než agarem ztužená, zatím co bramborová hlízová voda a sladinka se dají zhruba přirovnat k minerální půdě. U médií z brambor zhoršila přítomnost glukózy, v souhlase s názorem *Nickersona*, schopnost k tvorbě filamentů. Skutečnost, že lze inhibici tvorby filamentů glukózou v případě bramborové hlízové vody odstranit přísadou škrobu, zvláště spolu s heteroauxinem, ukazuje vedle jiných již uvedených příkladů, že vliv glukózy na tvorbu pseudomycelií asi nelze vysvětlit pouze jediným mechanismem. Pozoruhodný je efekt přísady asparaginu do tekuté bramborové půdy a do sladinky, ve kterých zvýší značně tvorbu myceliálních forem.

Již dříve věnovala řada autorů [cit. podle 8] pozornost výskytu pseudomycelií u různých kvasinek a jeho event. použití k diagnostickým účelům: zavedli též bramborovou půdu ke zkoušení schopnosti kvasinek a kvasinkovitých mikroorganismů k tvorbě myceliálních forem. Ve srovnání s námi vypracovanou, shora již diskutovanou bramborovou půdou jeví bramborová půda popsaná *Nickersonem* [6] daleko menší schopnost vyvolat u adaptované kvasinky *Torulopsis utilis* tvorbu pseudomycelií. Přísada asparaginu a heteroauxinu, přítomných v bramborové šťávě, do půdy podle *Nickersona* zvýšila její aktivitu, což by mohlo poukázat na nedostatek této látky ve studeném extraktu brambor; avšak i odvar z brambor (naše půda) byl asparaginem stimulován. *Moewus* [22] ukázal, že se v bramborové šťávě přítomný heteroauxin dá uvolnit pankreatinem ze své vazby s proteiny. Po působení pankreatinu na hotovou půdu podle *Nickersona*, zvlášt při 37° C, byl efekt stejný jako po přísadě heteroauxinu, zatím co po působení během extrakce byl značně silnější a není vyloučeno, že byl uvolněny ještě jiné látky, stimulující tvorbu pseudomycelií. U analogického pokusu s papainem a KCN se ukázalo, že zvýšený stimulační efekt byl způsoben KCN, z čehož by se dalo soudit na odstranění kyanid-sensitivního enzymu, který inaktivuje heteroauxin [23] nebo jinou látku, podporující růst pseudomycelií.

V půdě podle *Nickersona* s glukózou se jasně projevil efekt iontů kobaltu, které blokováním SH-skupin mají stimulovat vznik myceliálních forem a uplatnila se reverse tohoto efektu přísadou stoupajících koncentrací iontu hořčíku [24]. Na minerální půdě s glukózou však Co-ioničky netvořily filamenty a efekt Co-ioniček je tedy vázán na určité podmínky.

Již dříve byla hodnocena možnost vzniku pseudomycelií u *Torulopsis utilis* jako nový znak této kvasinky, která byla proto zařazena jako *Candida utilis* do rodu *Candid* [25]. *Windisch S.* měl k tomuto zařazení určité výhrady [9].

### Souhrn

Kvasinka *Torulopsis utilis* získala adaptací na odpadní louhy po citronovém kvašení dispozici tvořit ve vhodných médiích pseudomycelia, zatímco u neadaptované kvasinky *Torulopsis utilis* vznikne tato dispozice velmi těžko. Růstovými a fyziologickými zkouškami bylo možno dokázat, že u myceliálních forem nejde o infekce. Kolonie kvasinek nabývají vzhledem k množství myceliálních forem charakter *R*-kolonii. Byla zkoušena řada basálních médií s různými přísadami na jejich schopnost podnítit u adaptované kvasinky růst pseudomycelií. Na minerální půdě byl mezi zkoušenými aminokyselinami neaktivnější  $\beta$ -alanin, dále heteroauxin, jehož antagonistou je  $\alpha$ -alanin a řada vysokomolekulárních láttek, především dextran, v kombinaci s asparaginem jako zdrojem dusíku; vliv škrobu byl cysteinem potlačen. Vitamin K, blokující SH-skupiny a demekolcín, který brzdí bunečné dělení, podporovaly tvorbu filamentů. Hůrka zkvasitelná galaktóza a xylóza vyvolaly více pseudomycelií než glukóza a laktóza. Voda z pivovarských kvasinek je špatné médium pro tvorbu myceliálních forem, dá se však vylepšit přísadou kyseliny asparagové, agaru, škrobu, amylopektinu a arabské gumy, dále vitaminu K a demekolcín. Voda z myceliálních forem *Torulopsis utilis* a z mycelia plísně *A. niger* obsahuje látky, dřívající vznik pseudomycelií u adaptované kvasinky *Torulopsis utilis*, ne však u pekařského droždí. Jedno z nejlepších médií je autolyzát kvasinek, jehož působivost se nedala zvýšit zkoušenými přísadami. Přičinou tohoto účinku je především obsah aminokyselin, jak tomu napovídá srovnání s hydrolyzátem kaseinu a nějaké další látky, pravděpodobně katalyzující oxydační procesy. Účinnost hydrolyzovaného kaseinu zvýšil škrob a heteroauxin. Naproti tomu je peptonová voda, i s přísadami, málo aktivní. Poměrně účinná tekutá bramborová půda je paralyzována glukózou a aktivována asparaginem; totéž platí pro slabější působení bramborovou hlízovou vodu, které se zhruba vyrovná sladinka. Bramborová půda podle *Nickersona*, která produkuje méně pseudomycelií než naše bramborová půda, se dá aktivovat přísadou asparaginu nebo heteroauxinu nebo ještě lépe působením pankreatinu během extrakce. Zde podporovaly ionty kobaltu tvorbu filamentů, přítomnost iontu hořčíku působila antagonicky. V diskusi jsou konfrontovány výsledky práce s výsledky v literatuře a je učiněn pokus, vysvětlit řadu pozorování na základě známých teoretických poznatků.

### Literatura

- [1] Gailer J.: Über morphologische Änderungen der *Torula utilis*. Diss. Friedr. Wilh. Univers. Berlin 1943.
- [2] Fink H., Gailer J., Glaubitz M.: Über morphologische Variationen von *Torula utilis* (*Torulopsis utilis*). Wochenschr. f. Brauerei 60, 85 (1943).

Novákovi

- [3] Fink H., Gailer J.: Beiträge zur biologischen Zellsubstanzsynthese der Hefe. X. Mitt. Über morphologische Änderungen von *Torula utilis*. Brauwissenschaft, str. 61, 90, 124 a 150 (1954).
- [4] Klaushofer H.: Untersuchungen über eine in Österreich aus Sulfitablaue hergestellte Futterhefe. Mitt. d. österr. Inst. f. Gärungsgewerbe Wien 6, 124 (1952).
- [5] Leopold H., Fencl Z.: Die Züchtung von *Torula utilis* in Ablaugen der Citronensäuregärung. 2. Mitt. Erfahrungen über die Züchtung von *Torula utilis* in Ablaugen der Gärungscitronensäurefabrikation im halbtechnischen Maßstab. Chemische Technik 7, 608 (1955).
- [6] Nickerson W. J., van Rij N. J. W.: The effect of sulfhydryl compounds, penicillin, and cobalt on the cell division mechanism of yeasts. Biochim. Biophys. Acta 3, 461 (1949).
- [7] Nickerson W. J., Mankowski Z.: A polysaccharid medium of known composition favoring chlamydospore formation in *Candida albicans*. J. of Infect. Diseases 92, 20 (1953).
- [8] Windisch S.: Über das Pseudomyzel von Hefen. Monatsschr. f. Brauerei, Wiss. Beilage Nr. 12 (1954).
- [9] Windisch S.: Die Art und ihre Merkmale bei Hefen. Die Branntweinwirtschaft Nr. 5 (1953). Die Eigenschaften der drei für den gärungsgewerblichen Betrieb wichtigsten Hefearten. Die Brauerei/Wiss. Beilage Nr. 3 (1953).
- [10] Ephrussi B., Slominski P. P.: La synthèse adaptive des cytochromes chez la levure de boulangerie. Biochim. Biophys. Acta 6, 256 (1950).
- Herb C. R., Singer Th. P.: Adaptive formation of succinic dehydrogenase during aeration of an aerobically grown yeast. Proc. Intern. Congr. Genetics, 10th, Montreal 2, 117 (1958); Ch. A. 1958, 20407.
- Slominski P. P., Tysarowski W.: Sur l'existence de deux déhydrogénases lactiques chez la levure et sur la conversion au sein de la cellule, de l'un à l'autre. C. r. Acad. Sci. 246, 1111 (1958).
- [11] Erikson D.: Factors promoting cell division in a "soft" mycelial type of *Nocardia* — N. Turbata. J. Gen. Microbiol. 11, 198 (1954); Ch. A. 1955, 3309.
- [12] Nielsen N., Hartelius V.: Pantothenic acid formation by various microorganisms. Compt. rend. trav. lab. Carlsberg, Sér. physiol. 24, 117 (1944); Ch. A. 1946, 5797.
- [13] Hartelius V.: Glutamic acid, aspartic acid, asparagine, glutamine as antigurowth substances for  $\beta$ -alanine. Compt. rend. trav. lab. Carlsberg, Sér. physiol. 24, 185 (1946); Ch. A. 1947, 2773.
- [14] Morquer R., Nystérakis F.: C. R. Acad. Sci. Paris 228, 950 [1948]; cit. Bernhauer K., Fortschr. d. mikrobiol. Chemie in Wissenschaft u. Technik. Ergeb. d. Enzymforsch. XI. Bd. Leipzig 1950.
- [15] Conn E. E., Vennesland B.: Enzymatic reduction of glutathione by triphosphopyridine nucleotide. Nature 167, 976 (1951). — Glutathione reductase of wheat germ. J. Biol. Chem. 192, 17 (1951).
- Mapson L. W., Goddard D. R.: Reduction of glutathione by coenzyme II. Nature 167, 975 (1951). — The reduction of glutathione by plant tissues. J. Biochem. 49, 592 (1951).
- [16] Nickerson W. J., Romano A. H.: Enzymatic reduction of cystine by coenzyme I (DPNH). Science 115, 676 (1952).
- [17] Nickerson W. J.: Reduction of inorganic substances by yeasts. I. Extracellular reduction of sulfate by species of *Candida*. J. Infect. Diseases 93, 45 (1953).
- [18] Seeliger H.: Ein neues Medium zur Bildung von Pseudomyzellen durch *Candida albicans*. Z. Hyg. Infektionskrank. 141, 488 (1955).
- [19] Hehre E. J.: Advances in Enzymology. Vol. XI, New York—London 1951.
- [20] McCleary D. O.: Factors affecting the morphology of *Candida albicans*. Ann. Missouri Botan. Garden 39, 137 (1952); Ch. A. 1954, 7115.
- [21] Kreke C. W., Suter S. M. St. A.: Activity mechanism of yeast extracts in stimulating respiration. J. Bact. 50, 337 (1945).
- Windisch F., Nordheim W., Heumann W.: Ein in Hefezellsaft enthaltenes thermostabiles Agens von biologisch  $O_2$ -substituierender Funktion. Zeit. physiol. Chem. 306, 195 (1954).
- [22] Moewus F.: Naturwiss. 27, 97 (1939); Z. Naturforsch. 3b, 135 (1948), cit. Euler H.: Beziehungen der Enzyme zu den übrigen Wirkstoffen. Ergeb. d. Enzymforschung X. Bd. 1949.
- [23] Gordon S. A., Nieve F. S.: The biosynthesis of auxin in the vegetative pineapple. Arch. Biochem. 20, 356, 367 (1949).
- [24] Abelson — Aldous: Ion antagonism in microorganisms: interference of normal Mg metabolism by Na, Co, Cd, Zn, Mn, J. Bact. 80, 401 (1950).
- Shanker K., Bard R. C.: Effect of metallic ions on the growth, morphology, and metabolism of *Clostridium perfringens*. I. Magnesium. II. Cobalt. J. Bacteriol. 69, 444 (1955).
- Nickerson W. J.: Komplexbildung und die Gestaltbildung von Pilzen. Nat. Res. Council, Publ. Nr. 514, 15 (1956); C. 1959, 6846.
- [25] Lodder J., Kreger van Rij N. J. W.: The yeasts. Amsterdam 1952

Došlo do redakce 28. 4. 1961.

**МИЦЕЛЛИЙНЫЕ ФОРМЫ  
ДРОЖЖЕЙ TORULOPSIS UTILIS  
(CANDIDA UTILIS)**

В статье рассматриваются условия, при которых дрожжевые грибки семейства *Torulopsis utilis* приобретают новую способность, т. е. способность развивать псевдомицелий. Было установлено, что изучаемый штамм приобрел указанную способность при пребывании в среде состоящей из отходов лимонного брожения. Штаммы, у которых отсутствует указанная фаза приспособления, приобретают способность развивать псевдомицелий лишь с большими трудностями. Результаты исследований проведенных в широком масштабе показаны в форме таблиц.

**DIE MYZELFORMEN EINER HEFE  
TORULOPSIS UTILIS  
(CANDIDA UTILIS)**

Es wurden die Bedingungen studiert, unter welchen die Hefen *Torulopsis utilis* eine neue Eigenschaft gewinnen, und zwar die Fähigkeit der Pseudomyzeldbildung. Es wurde festgestellt, dass der studierte Stamm die neue Disposition durch die Adaptation auf die Ablaugen aus der Zitronensäuregärung erworben hatte; bei nicht adaptierten Stämmen ist die Erzielung der erwähnten Disposition sehr schwierig. In der Tab. 6 und der Abb. 6 ist eine Übersicht des umfangreichen Versuchsmaterials zusammenge stellt.

**TORULOPSIS UTILIS  
(CANDIDA UTILIS)**

The article specifies conditions, under which yeast fungi of *Torulopsis utilis* group acquire new property, i. e. power to develop pseudomycelium. It has been stated, that the stem in question acquired the mentioned capacity through adaptation to medium consisting of waste liquors after citric fermentation. Stems without such an adaptation can hardly acquire the mycelium developing power. The results of large-scale experiments are presented in the form of tables.