ČESKOSLOVENSKÁ SOCIALISTICKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRO VYNÁLEZY A OBJEVY

POPIS OBJAVU K DIPLOMU ČÍS. 20

Prihlásené 25. 09. 75 (PO 67-75)

Právo prednosti od 30. 06. 71

Zverejnené: Biologia (Bratislava) 26, 6, 477—485, 1971

Udelené 17. 12. 80

Vydané 15. 12. 81

DT 663.11

Autorky objavu: KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ ANNA, RNDr., DrSc., BRATISLAVA
a ONDRUŠOVÁ DAGMAR, RNDr., BRATISLAVA

Názov objavu: **Nový druh mikroorganizmu Torulopsis kruisii**

Predmet objavu: 1. Jav spočívajúci v existencii nového druhu mikroorganizmu rodu Torulopsis, nazvaného autormi Torulopsis kruisii.
2. Vlastnosť nového druhu mikroorganizmu, uvedeného v bode 1, spočívajúca v schopnosti využívať sacharidy: trehalózu, celobiózu, xylózu a galaktózu a v schopnosti rásť v prostredí, obsahujúcom až 60 % uvedených cukrov.

Objav sa týka nového druhu mikroorganizmu, Torulopsis kruisii.

V rokoch 1962 a 1963 sa izolovali kvasinkové mikroorganizmy, žijúce na povrchu plodníc vyšších húb v Dobročskom pralese na Slovensku a na Českomoravskej vysočine a Brnenskej vrchovine na Morave (Kocková-Kratochvílová A., Petrovová T., Šandula J., Hronská L., Česká mykologie 18: 91—98, 1964; Kocková-Kratochvílová A., Šmarda P., Pokorná M., Česká mykologie 19: 114—120, 1965). Na týchto lokalitách sa našlo mnoho kvasiniek z rodu Torulopsis Berlese. Podľa zaužívaného diagnostického kľúča (Lodder J. edit. „The yeasts, a taxonomic study", North Hol. Publ. Amsterdam 1954 a 1970) sa nedali všetky určiť. Určovali sa preto ešte raz a výsledky boli zhrnuté v publikácii (Kocková-Kratochvílová A., Ondrušová D., Biológia [Bratislava] 26: 477—485, 1971). Štrnásť kmeňov bolo popísaných ako nový druh Torulopsis kruisii n. sp.

Nový druh Torulopsis kruisii má elipsoidné bunky (2,0—4,0) × (3,0—5,0) μm s kvocientom povrch/objem buniek 1,5—2,6. V sladine tvoria zákal, usadeninu a prstenec. Pseudomycélium sa na povrchu kolónií nevytvára alebo len rudimentárne. Obrovské kolónie sú biele, mäkké, hladké až polodrsné. V tabuľke 1 sú podrobne uvedené morfologické vlastnosti izolovaných kmeňov. Askospóry nevytvára. Kvasí glukózu, galaktózu a maltózu. Rastie v prostredí, kde jediný zdroj uhlíka tvorí glukóza, galaktóza, maltóza, trehalóza, celobióza, xylóza a manitol, nie však laktóza, melibióza, melezitóza, L- a D-arabinóza, L-rhamnóza, inulín, dulcitol alebo sorbitol. Utilizuje lyzín, nie však KNO_3. Maximálne teplota, pri ktorej rastie je 37 °C. V tabuľke 2 sú uvedené asimilačné testy. Prostredie, v ktorom má Torulopsis kruisii rásť, musí obsahovať vitamíny ako pyridoxín, niacín, tiamín, pantotenát, inozitol. V tabuľke 3 sú uvedené rôzne fyziologické vlastnosti.

Tabuľka 1

Morfologické vlastnosti skúmaných kmeňov Torulopsis kruisii

	Obrovské kolónie			Priemerná veľkosť buniek		
Kmeň CCY	Konzistencia	Rýchlosť rastu za 24 hod. v mm	Typ pseudomycélia	Dĺžka v μm	Dĺžka/šírka	P/O
CCY 26-19-3	b/SR	1,83	B—C	4,78	1,24	1,46
CCY 26-19-4	c/SR	1,88	B	4,25	1,21	1,62
CCY 26-19-5	b/SR	1,72	A	4,38	1,29	1,64
CCY 26-19-6	c/SR	1,23	B	4,46	1,13	1,47
CCY 26-19-7	c/SR	1,23	A—B	4,07	1,26	1,75
CCY 26-19-8	c/S	1,40	A—B	4,86	1,59	1,74
CCY 26-19-9	c/SR	1,60	A	4,11	1,22	1,69
CCY 26-19-10	c/SR	1,55	A	3,07	1,29	2,25
CCY 26-19-11	b/SR	1,40	A	3,90	1,20	1,75
CCY 26-19-12	c/SR	1,07	A	3,34	1,65	2,60
CCY 26-19-13	c/SR	1,25	A	3,35	1,27	2,07
CCY 26-19-14	a/SR	1,20	A	3,54	1,42	2,19
CCY 26-19-15	b/SR	0,93	A	4,46	1,37	1,62
CCY 26-9-10	a/SR	1,83	A	4,07	1,17	1,66

Vysvetlenie k tabuľke:

Hodnotenie obrovských kolónií: S — hladké, R — drsné, SR — polodrsné; a — bez štruktúry až sliznaté, b — zonátne, c — zonátne aý radiálne pruhované.

Hodnotenie typov pseudomycélia na okraji kolónií: A — netvorí sa pseudomycéliu, B — tvorí sa len rudimentárne, C — pseudomycélium stromčekovité, D — pseudomycélium s diferencovanými blastospórami.

P/O — kvocient povrch/objem buniek, vypočítaný z priemerných rozmerov.

Tabuľka 2

Asimilácia, kvasenie a teplotné rozmedzie rastu skúmaných kmeňov Torulopsis kruisii

Kmeň CCY	Kvasný typ	Galaktóza	Maltóza	Sacharóza	Laktóza	Melibióza	Trehalóza	Celobióza	Manitol	Xylóza	Ribitol	Arabinitol	KNO_3	Lyzín	Rast pri 40 °C
CCY 26-19-3	I	+	+	+	−	−	−	+	+	−	−	−	−	+	+
CCY 26-19-4	I	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+	−	+	+
CCY 26-19-5	I	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−	−	+	−
CCY 26-19-6	I	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	−	−	+	+
CCY 26-19-7	I	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	−	−	+	−
CCY 26-19-8	I	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	−	−	+	−
CCY 26-19-9	I	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+	−	+	−
CCY 26-19-10	I	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	−	−	+	−
CCY 26-19-11	I	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−	−	+	−
CCY 26-19-12	I	+	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−	−	+	−
CCY 26-19-13	I	+	+	+	−	−	+	+	+	−	−	−	−	+	−
CCY 26-19-14	I	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−	−	+	−
CCY 26-19-15	I	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−	−	+	−
CCY 26-9-10	I	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−	−	+	−

Vysvetlenie k tabuľke:

Kvasný typ: I — kvasí maltózu, nekvasí sacharózu, II — kvasí maltózu i sacharózu, III — kvasí sacharózu, nekvasí maltózu, IV — nekvasí ani maltózu, ani sacharózu.
\+ asimiluje
− neasimiluje

Tabuľka 3

Fyziologické vlastnosti skúmaných kmeňov Torulopsis kruisii

Kmeň č. CCY	Tolerancia k etanolu	Osmofilia	Potreba vitamínov	Rýchlosť sedimentácie	Rýchlosť autolýzy	Štepenie arbutínu	tuku	Citlivosť k aktidiónu 0,1 μg/disk	Citlivosť kyselinevínnej 2%-nej
CCY 26-19-3	4	100	38	10	1,51	+	−	−	−
CCY 26-19-4	4	100	38	6	1,26	+	−	−	−
CCY 26-19-5	1	94	26	22	1,69	+	+	−	−
CCY 26-19-6	4	100	28	18	1,37	+	−	(+)	+
CCY 26-19-7	4	94	33	0	0,78	+	+	(+)	−
CCY 26-19-8	4	94	55	40	3,32	+	+	−	+
CCY 26-19-9	1	94	55	0	1,61	+	−	−	−
CCY 26-19-10	1	100	55	15	1,20	+	+	(+)	+
CCY 26-19-11	1	100	44	7	1,96	+	+	(+)	−
CCY 26-19-12	4	94	28	9	1,22	+	+	−	+
CCY 26-19-13	4	100	44	6	2,00	+	−	−	−
CCY 26-19-14	4	89	39	0	1,75	+	−	−	+
CCY 26-19-15	4	94	55	0	3,65	+	−	−	−
CCY 26-9-10	4	72	26	0	1,61	+	−	−	+

Vysvetlenie k tabuľke:

Tolerancia k etanolu je hodnotená % etanolu v prostredí, ktoré ešte daný kmeň znáša.
Osmofilia bola skúmaná v 10% glukóze a 5% NaCl a rast bol hodnotený v % z kontroly v 2% glukóze.

Sedimentačná rýchlosť bola meraná množstvom usadených buniek počas 30 min. v miliónoch buniek na 1 ml.
Rýchlosť autolýzy je vyjadrená v mg NH_2 — dusíka uvoľneného z 1 mg sušiny buniek počas 24 hod. pri 50 °C.
+ znamená pozitivitu testu, (+) slabú pozitivitu testu a — negatívnosť testu na štiepenie arbutínu a tuku.
Pri citlivosti k 0,1 μg aktidiónu na disk znamená — že kmeň je necitlivý, (+) že je slabo citlivý.
Pri skúšaní citlivosti k 2% kyseline vínnej znamená — že kmeň nie je inhibovaný a + že je inhibovaný.

Typová kultúra je zastúpená kmeňom, izolovaným z huby Boletus purpureus a je pod číslom CCY 26-19-7 uložená v Čsl. zbierke Chemického ústavu SAV v Bratislave a pod číslom RIVE 20-16-1 v Komplexnom výskumnom ústave vinohradníckom a vinárskom v Bratislave.

Nový druh Torulopsis kruisii skvasuje maltózu a preto sam u najviac blížia druhy, ktoré tiež skvasujú maltózu. Sú známe štyri maltózu skvasujúce torulopsis: Torulopsis colliculosa, Torulopsis etchellsii, Torulopsi versatilis a Torulopsis mogii.

Od druhu Torulopsic colliculosa sa nový druh líši tým, že T. colliculosa skvasuje sacharózu, ale T. kruisii nie. To je tak vážny rozdiel, že oba druhy nemožno zameniť.

Od druhu Torulopsis etchellsii sa nový druh odlišuje tým, že T. etchellsii je schopný rásť v prostredí s glukózou, galaktózou a maltózou ako jediným zdrojom uhlíka. Naproti tomu T. kruisii rastie ešte na rade ďalších cukrov, ako je trehalóza, celobióza, xylóza a manitol. Iným dôležitým rozlišovacím znakom týchto dvoch druhov je, že T. etchellsii rastie na KNO_3 ako jedinom zdroji dusíka, zatiaľ čo T. kruisii nie.

Tiež Torulopsis versatilis rastie na KNO_3 ako jedinom zdroji dusíka, čím sa odlišuje od T. kruisii. Okrem toho T. versatilis rastie aj na iných zdrojoch uhlíka ako T. kruisii napr. na rafinóze, melibióze, ribóze, glycerole a p. Nesastie však na xylóze, zatiaľ čo T. kruisii áno.

Torulopsis mogii je schopná kvasiť sacharózu aj trehalózu a je pokladaná za haploidnú formu heterotalického druhu Saccharomyces rouxii. Tým sa líši od nového druhu T. kruisii, ktorá tieto cykry nekvasí.

Vzhľadom k schopnosti Torulopsis kruisii rásť na celobióze, xylóze a galaktóze je tento druh mikroorganizmu vhodný pre pestovanie na rôznych drevných hydrolyzátoch alebo na hydrolyzátoch z odpadnej celulózy, zo živočíšnych exkrementov a p. Bielkovinné zloženie jeho biomasy je zvlášť nutrične výhodné pre vysoký obsah lyzínu, glutámovej kyseliny a iných potrebných aminokyselín.

Severografia, n. p., závod 7, Most