

# Využitie mikroorganizmov pri riešení problému hladu

AGÁTA BOJŇANSKÁ

## Úvod

Zdá sa až neuveriteľné, že na svete, kde dnes žijú štyri miliardy ľudí, dve tretiny hladujú. Z biologického hľadiska sa však pod hladovaním nemyslí len maximálny nedostatok potravy. Medzi hladujúcich sa počítajú aj milióny ľudí, ktorí sa denne súčasťou najedia dosýta, ale ich organizmus má stály nedostatok bielkovín, tvoriačich až 85 % sušiny ľudského tela a zabezpečujúcich v tele človeka normálne životné funkcie. Mozog, ktorému podvyživené telo po celé roky neprisúva dostatok kvalitného stavebného materiálu, nemôže sa rozvíjať podľa kvality genetickej informácie, ktorú dostal od rodičov. Na základe psychologických testov zistili vedci na viacerých kontinentoch, že inteligentný kvocient (IQ) podvyživených detí v rozvojových krajinách zriedka prevyšuje index päťdesiat, čo je iba polovica priemerného indexu inteligencie detí zo strednej Európy.

Optimisti zo Svetovej organizácie pre výživu a poľnohospodárstvo (FAO) však tvrdia, že Zem je schopná užiť 14 miliárd ľudí. Hoci na Zem dopadá zo Slnka  $5 \cdot 10^{20}$  kcal, obrovská časť tejto energie sa stráca. Na rastliny z nej dopadá iba 1 %. Práve rastliny sa živia neorganickými látkami a pomocou slnečného žiarenia menia vodu, kysličník uhličitý a nerastné látky na živú hmotu rastlinných tiel, na ktorej potom priamo alebo nepriamo cudzopasia všetky ostatné živé tvory. Väčšiu časť slnečnej energie spotrebujú rastliny pri raste, dýchaní a ostatných životných procesoch, a tak sa iba niekoľko desaťnín energie, ktorú Slnko venovalo Zemi, mení na potravu.

Na Zemi sa každoročne vyprodukuje 450 miliárd ton živej hmoty. Z nej 300 miliárd ton pripadá na rastliny a zvyšok na organizmy, ktoré konzumujú už vytvorenú rastlinnú hmotu. Väčšiu časť výroby živej hmoty človek neovláda. Vedci vypočítali, že zo živej hmoty produkovej na súši spotrebuje človek sotva desatinu a zo živej hmoty vo svetových oceánoch nanajvýš milióntinu.

Na našej planéte žije vyše 350 000 druhov rastlín, z ktorých človek podnes skultivoval iba 600. Z týchto 600 kultúrnych rastlín iba 3 druhy, a to pšenica, ryža a kukurica, poskytujú miliónom ľudí denný chlieb. Na túto trojicu pripadajú  $3/4$  úrody všetkých obilnín. Práve tieto rastliny sa stali v súčasnosti objektom tzv. „zelenej revolúcie“, ktorá má osloboodiť ľudstvo od jarma hladu.

Hoci sa získali veľmi odolné a výnosné kultivary pšenice a ryže, nie je možné, aby sa pomocou nich odstránil hlad v krajinách „tretieho sveta“. V týchto oblastiach v dôsledku rozdrobenosti políčok sa nemôže uplatniť moderná technológia a nedostačujúcim rozdeľovacím systémom tu vychádza nazmar až 40 % každoročnej úrody.

Zo štatistik OSN vyplýva, že aj keby sa v najbližšom čase zastavil rast obyvateľstva Zeme, bolo by nevyhnutné na zabezpečenie jeho výživy v krátkom čase mnohonásobne zvýšiť výrobu bielkovín. Poľnohospodárstvo však nebude schopné klasickými i menej klasickými spôsobmi vyriešiť tento problém. Podobne jeho riešenie chémiou je prakticky nemožné aj vtedy, keby sa zabezpečila preprava potravy na miesta, kde jej je nedostatok. Riešenie však môže poskytnúť mikrobiológia. Kedže klasická výroba potravín narazí za súčasných podmienok už skoro na hranice svojich možností, vo výskumných ústavoch výživy na celom svete hľadajú vedci nové zdroje potravy, najmä bielkovín.

Už dvadsať rokov sa vážne počíta s riasami. V laboratóriach Mikrobiologickejho ústavu ČSAV v Třeboni sa už robili rozsiahle pokusy až po poloprevádzkovú výrobu biomasy niektorých rias a zistili sa mnohé údaje rozhodujúce pre ekonomiku tejto technológie. Za našich podmienok však ešte nie je táto výroba ekonomická, ale už teraz je výhodná pre oblasti s intenzívou slnečnou radiáciou a dostatkom plochy na ich kultiváciu.

Ďalším veľkým rezervoárom na výrobu bielkovín je nafta. Vedci dnes už poznajú vyše 150 mikroorganizmov, ktoré vedia „vyrobiť“ z nafty hodnotnú bielkovinovú masu. Nafta je surovina organického pôvodu a uhľovodíky, ktoré ju tvoria, najmä parafíny a alkány, sú výhodné pre špeciálne druhy kvasinek, ktoré ich konzumujú a výborne sa za takýchto podmienok množia. Po ich oddelení od zvyškov nafty sa získava biomasa veľmi bohatá na bielkoviny a vitamíny. Hodnota týchto bielkovín je medzi hodnotou rastlinných a živočíšnych bielkovín, bližšie k živočíšnym. Z aminokyselín v nich chýbajú jedine cystín a metionín. Obsahom vitamínov však prevýšia väčšinu iných produktov.

Z mikroorganizmov prichádzajú do úvahy na tieto účely predovšetkým kvasinkovité mikroorganizmy, najmä rod *Candida*. Tento rod je v súčasnosti ešte nezušľachtený, a preto poskytuje veľmi reálne rezervy, najmä pri získaní produkčne veľmi výhodných genetických mutantov. Výhľadove a za istých podmienok treba počítať aj s využitím niektorých druhov baktérií a rias.

Mikrobiologická výroba bielkovín môže súčasne riešiť aj otázky zlepšenia životného prostredia. Predovšetkým sa to týka likvidácie zvyškov petrochemických surovín a priemyselných odpadov, čím sa súčasne uvoľňujú potravnárske a krmivárske (melasa) suroviny na výživu alebo kŕmenie. Ďalšie výhody sú: možnosť vyrábať bielkoviny bez zvýšenia nárokov na pôdu, pomerne vysoká produktivita práce a možnosť využiť širokú paletu surovín podľa miestnych zdrojov.

V najbližšom čase treba počítať s krmovinárskym využitím mikrobiálnych bielkovín. Výhľadove však bude mať oveľa väčší význam izolácia čistých bielkovín pre priamy ľudský konzum.

Druhy rodu *Candida* sa dnes už bežne používajú pri spracovaní odpadov z rôznych priemyselných výrob. V Japonsku sa už niektoré druhy tohto rodu, ktoré majú schopnosť utilizovať uhľovodíky, a tak premieňať tento všade-

prítomný materiál na jednoduché bunkové bielkoviny, priemyselne využívajú. Ide predovšetkým o výrobu kŕmneho droždia pre hospodárske zvieratá.

Výroba potravín z čistých mikrobiálnych bielkovín v súčasnosti už nie je utópiou a celkom nerozpracovanou oblastou. Spoločnosť British Petroleum vyrába zo surovín získaných z nafty sušené mlieko. Firma Nestlé spolu s naftovými spoločnosťami Esso a Standard Oil vyrába korenie magi a polievky. V Spojených štátach vyrobili kuracie paštety, ktoré využájajú aj do Južnej Ameriky. V Japonsku vyrobili rozmanité druhy pečiva a jablkovú zmes na nerozoznanie od pravej. V Sovietskom zväze vyrobili z mikrobiálnych bielkovín dokonca kaviár a chcú postaviť továreň na výrobu mäsa. Ani u nás v tomto smere nezaostávame. V Českých Budějoviciach na výstave „Země životitel“ mohli návštěvníci ochutnat československé mäsové paštety, vyrobené zo surovín získaných z petroleja.

Mäsové využitie mikrobiálnych bielkovín pre ľudský konzum nie je však ešte vyriešené (de Pontanel 1972; Davis 1974; Champagnat, Adrian 1974). Okrem mnohých iných problémov treba sa predovšetkým zbaviť obáv z toxicity týchto produktov a vyriešiť otázku vysokého obsahu nukleových kyselín.

Pri raste na *n*-alkánoch majú mnohé kmene druhu *Candida lipolytica* schopnosť zvýšenej produkcie kyselín Krebsovo cyklu, najmä kyseliny citrónovej a  $\alpha$ -ketoglutárovej.

Citráty nadobúdajú v súčasnosti veľký význam najmä z hľadiska zachovávania čistoty prostredia a vód, ktoré sa okrem priemyslu a poľnohospodárstva veľmi silne znečistujú aj fosforom z pracích práškov, obsahujúcich polyfosfáty. Preto sa v súčasnosti výskum začína zameriavať na ich nahradenie citrátm. Citráty by však museli byť o polovicu lacnejšie, ako umožňuje súčasná výroba. Výroba kyseliny citrónovej z melasy je jednak nákladná, jednak začína byť nedostatok tejto suroviny a proces výroby je spojený so vznikom veľkého kvanta odpadových vód. Nákladnosť zvyšuje aj nevyhnutnosť dodržiavať vysoký stupeň mikrobiologickej čistoty.

Produkcia kyseliny citrónovej z *n*-alkánov by tieto nedostatky celkom odstránila. Ukazuje sa, že jej výroba týmto spôsobom má vysokú výtažnosť (około 140 %), a to aj za nesterilných podmienok.

Aby sa príslušné mikroorganizmy mohli využiť vo veľkovýrobe, treba predovšetkým získať a geneticky otestovať vysokovýkonné kmene niektorých druhov pripadajúcich do úvahy a vyriešiť technológiu ich ekonomickej výhodného pestovania.

V predloženej práci sa zaoberáme problémom bližšieho genetického určenia kmeňov druhu *Candida lipolytica*. Testovali sme kmene, ktoré sa už v súčasnosti začínajú u nás sledovať z hľadiska produkcie kyselín Krebsovo cyklu, najmä kyseliny citrónovej a  $\alpha$ -ketoglutárovej.

Našou úlohou bolo určiť párovacie typy týchto kmeňov a zistiť podmienky výhodné na ich kopuláciu. Bližším určením týchto vlastností sa poskytne základ na genetické analýzy, vedúce k získaniu produkčne vysokovýkonných kmeňov. Určenie párovacích typov má význam aj pre bližšie systematické zaradenie týchto kmeňov.

## Literárny prehľad

Druh *Candida lipolytica* sa systematicky až donedávna zaradoval medzi nespórogénne kvasinky. Až roku 1952 a 1954 Wickerham a Burton zistili, že niektoré z nespórogénnych rodov existujú v prírode prevažne ako haploidné oddelené párovacie typy. Na základe týchto zistení sa druhy rodu *Candida* preradili z *Fungi imperfecti* medzi heterotalické kvasinky.

Kopulácia kmeňov druhu *Candida lipolytica* prebieha v pomerne nízkej frekvencii. Robila sa na viacerých typoch médií a jednotlivé metodiky sa uvádzajú vo viacerých prácach (Wickerham, Kurtzman, a Herman 1969, 1970; Herman 1971; Bassel, Warfel a Mortimer 1971; Bassel a Mortimer 1973; Gaillardin, Charoy a Heslot 1973). Vo všetkých týchto prácach sa uvádzajú nízka frekvencia zygot. Gaillardin, Charoy a Heslot (1973), ktorí sledovali vplyv rozličných kombinácií faktorov na kopuláciu (čas, teplota, hustota suspenzie, typ média a spôsob kultivácie) udávajú maximálnu frekvenciu zygot 4,2 %.

Hoci sa tieto organizmy už dávno priemyselne využívajú, ich selekcia bola nesystematická a okrem malých výnimiek (napr. produkčné mutanty na výrobu kyselín Krebsovho cyklu alebo dikarboxylových kyselín z *n*-alkánov) sa nevyužívali genetické a mutačné metódy.

Oblastné sexuality *Candida* sp. má veľký praktický význam najmä pre možnosť získať rôzne typy hybridov, napr. rýchlo rastúcich, alebo majúcich široké asimilačné spektrum a súčasne schopnosť nazhromažďovať metabolity a pod.

## Materiál a metódika

Ako materiál sme použili štyri kmene druhu *Candida lipolytica*. Dva z nich, označené číslami 106 a 113, boli zo zbierky Výskumného ústavu pre ropu a uhľovodíkové plyny, Bratislava-Vlčie hrdlo. Obidva tieto kmene mali schopnosť utilizovať *n*-alkány. Ďalšie dva kmene, ktoré slúžili na testovanie párovacích typov, sme získali z Chemického ústavu SAV, ktorý ich dostal priamo od Wickerhamu z Northern Regional Research Laboratory Peonia, Illinois, USA, pod označením YB-423-12 (naše označenie CCY 29-26-36) ako párovací typ B. Tieto dva testovacie kmene nemali schopnosť rásť na *n*-alkánoch.

Všetky uvádzané kmene sa pokladajú za haploidné heterotalické kvasinky a pôvodne sa izolovali z prírodných pôdných populácií. Kmene CCY 29-26-35 a CCY 29-26-36 získal Wickerham z diploidnej kultúry izoláciou spór mikromanipulátorom (Wickerham, Kurtzman a Herman 1969).

Používali sme tieto médiá: maximálne médium — Giffská pôda (G): 1 % peptón, 1 % kvasničný extrakt, 2 % glukóza, 2 % agar, doplniť obyčajnou vodou do 1000 ml; submaximálne médium — RG médium (Herman 1971): 0,02 % kvasničný extrakt, 0,02 % peptón, 0,1 % glukóza, 2 % agar, doplniť destilovanou vodou do 1000 ml; tekuté RG médium má rovnaké zloženie ako médium tuhé, obsahuje však agar.

Kultúry príslušných kmeňov sa rozpestúvali 24 hodín na bohatom kompletom médiu (G) pri teplote 28 °C; 24-hodinová kultúra sa potom predkultivovala na submaximálnom DG médiu, kde sa kmene nechali samostatne rásť

48 hodín pri teplote 20 °C. Kultivácia na tomto médiu obmedzujúcom rast slúžila nie na rozpestovanie kultúr, ale na zvýšenie fertility kmeňov (Herman 1971). Po 48 hodinách kultivácie sa vždy dva a dva kmene z RG pôdy spoločne zmývali do 50 ml Erlenmayerových baniek s 20 ml tekutej RG pôdy. Do tekutého RG média sa zmýval vždy každý testovaný kmeň s každým testérom, ako aj testéry a testované kmene spoločne. Takýmto spôsobom sa získali tieto typy krížení:

CCY 29-26-35 × CCY 29-26-36  
CCY 29-26-35 × 106  
CCY 29-26-25 × 113  
106 × CCY 29-26-36  
113 × CCY 29-26-36  
106 × 113

Zmesi v tekutej RG pôde sa kultivovali na recipročnej trepačke pri teplote 23 °C. Po 1 hodine trepania sa suspenzie centrifugovali a bez zliatia supernatantu sa nechali stáť 2 hodiny pri teplote 22 °C. Po 2 hodinách sa supernatant zlial a sediment sa celý naočkoval do čerstvej RG pôdy a kultúry sa opäť dali na trepačku, kde sa 24 hodín kultivovali pri teplote 23 °C. (Centrifugácia a státie scentrifugovaných kultúr sa používalo na zväčšenie pravdepodobnosti styku buniek opačných párovacích typov.) Po tomto čase sa kultúry mikroskopicky sledovali a počítala sa v nich frekvencia zygot vzhľadom na počet jedincov, t. j. buniek, pučiacich buniek, hýf aj pseudohýf. Bunky sa počítali v Bükerovej komôrke.

Aby sa zistilo, ako sa mení frekvencia zygot v závislosti od trvania kultivácie v tekutom RG médiu, počítala sa frekvencia jednak po 26 hodín, jednak po 50 hodín spoločnej kultivácie (doba kultivácie sa počítala až do zliatia supernatantu a naočkovania do tekutej RG pôdy).

Frekvencia zygot sa počítala v suspenziách s hustotou  $10^7$ — $10^8$  buniek/ml v troch sériach pokusov.

### Výsledky

Pri kultivácii kopulačných zmesí v tekutej RG pôde na trepačke sa po 26 hod. vyskytovali v suspenzii jednak samostatné bunky rôznej veľkosti, ktoré často pučali, jednak hýfy a pseudohýfy, ktoré často tvorili blastospóry, a pri niektorých typoch krížení neboli zriedkavý ani výskyt retiazok. Vzhľad jednotlivých bunkových typov sa nemenil ani po 50 hod. kultivácie.

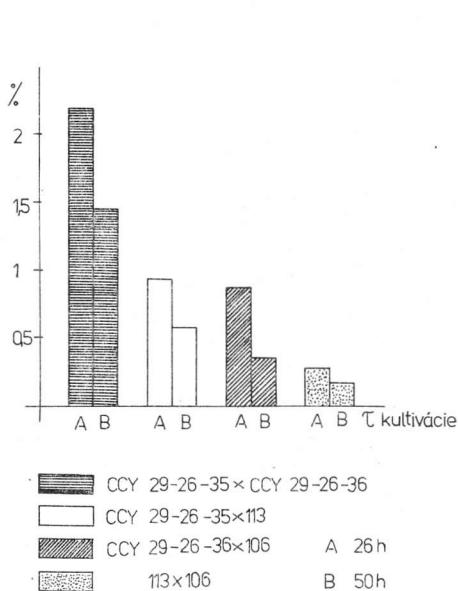
Zygoty sa vyskytovali vo všetkých typoch krížení a tvorili ich dve veľké bunky, ktoré boli umiestnené vedľa seba a spojené kopulačným mostíkom. Okrem dvoch takmer rovnakých buniek mohla zygotu tvoriť aj jedna veľká a jedna menšia bunka, nikdy ju však netvorili dve bunky, ktoré by boli umiestnené za sebou.

Na základe výskytu zygot sa určilo, že kmeň 113, keďže sa kríži s testérom CCY 29-26-35, reprezentuje párovací typ B a kmeň 106, keďže sa kríži s testérom CCY 29-26-36, reprezentuje párovací typ A.

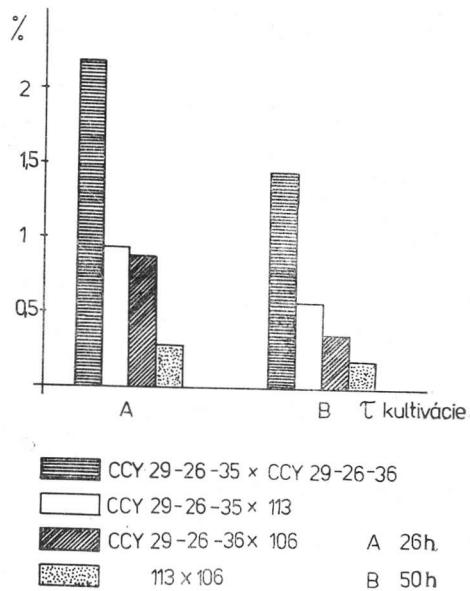
Pri krížení  $106 \times 113$  sa v suspenzii vyskytovali aj samostatné bunky, hýfy, pseudohýfy a nechýbali ani blastospóry, ale na rozdiel od predchádzajúcich typov krížení sa tu nevyskytovali pučiace bunky a kultúra bola oveľa

menej životoschopná. Bunky boli obalené hrubšou blanou, ich plazma bola zrnitá a často sa vyskytovali lýzujúce bunky a rozpadajúce sa hýfy. Množstvo rozpadajúcich sa buniek bolo priamo úmerné trvaniu kultivácie.

Frekvencia zygot bola nepriamo úmerná trvaniu kultivácie. Pri krížení CCY 29-26-35 × CCY 29-26-36 klesla frekvencia zygot po 50 hod. kultivácie o 35 %, pri krížení CCY 29-26-35 × 113 a 38 %, pri krížení CCY 29-26-36 × 106 o 59,3 % a pri krížení 113 × 106 o 39,3 %. Pokles frekvencie zygot pri 26 a 50 hod. kultivácií je znázornený na grafe 1.



Obr. 1. Pokles frekvencie zygot počas kultivácie.



Obr. 2. Frekvencia zygot v jednotlivých typoch krížení.

Najvyššia frekvencia zygot bola pri krížení CCY 29-26-35 × CCY 29-26-36, keď zygoty tvorili 2,22 % jedincov, t. j. frekvencia zygot bola  $2,22 \cdot 10^{-2}$ . Pri krížení CCY 29-26-35 × 113 bola frekvencia zygot  $0,93 \cdot 10^{-2}$ , t. j. 0,93 %, pri krížení CCY 29-26-36 × 106 bola frekvencia zygot  $0,86 \cdot 10^{-2}$ , t. j. 0,86 %. Najnižšia frekvencia zygot bola pri krížení 113 × 106, keď zygoty tvorili iba 0,28 %, t. j. ich frekvencia bola  $0,28 \cdot 10^{-2}$ .

Z uvedených hodnôt vyplýva, že najlepšie sa spolu krížili kmene CCY 29-26-35 × CCY 29-26-36. Frekvencia zygot pri kríženiach CCY 29-26-35 × 113 a CCY 29-26-36 × 106 sa od seba veľmi neodlišovala, a preto možno konštatovať, že pravdepodobnosť kríženia týchto dvoch kmeňov s testérmi je takmer rovnaká. Pri krížení 113 × 106 je frekvencia zygot veľmi nízka, čo poukazuje na zníženú kompatibilnosť týchto kmeňov za daných podmienok kultivácie. Frekvencia zygot pri jednotlivých typoch krížení po 26 a 50 hod. kultivácie je znázornená na grafe 2.

Hodnoty frekvencie zygot po 26 a 50 hod. kultivácie sú uvedené v tab. 1.

Tab. 1. Frekvencia zygot pri rôznej dobe kultivácie a rôznych typoch kríženia  
(sumarizácia 3 opakovania)

Doba kultivácie	26 hod.			50 hod.		
	počet jedinecov	počet zygot	frekvencia zygot v %	počet jedinecov	počet zygot	frekvencia zygot v %
CCY 29-26-35 × CCY 29-26-36	11 441	254	2,22	12 226	177	1,45
CCY 29-26-35 × 113	8 789	82	0,93	10 621	62	0,58
CCY 29-26-36 × 106	10 250	88	0,86	9 339	33	0,35
113 × 106	11 265	32	0,28	10 208	17	0,17

### Diskusia

Výsledky svedčia o tom, že frekvencia zygot je nepriamo úmerná trvaniu kultivácie kopulačnej zmesi. Pri kríženiacach sa maximum zygot vyskytovalo po 24—30 hod. a ich frekvencia potom rýchlo klesala. Výrazné rozdiely sa pozorovali už po 50 hod. kultivácie. Herman (1971) uvádzá, že zygoty vznikali 12—15 hod. po masovom párovaní a kopulácia dosiahla maximum 24—30 hod. po zmiešaní buniek, takže výsledky, ktoré uvádzame, sa celkom zhodujú s jeho pozorovaniami.

Zistenú frekvenciu zygot pri kultivácii na chudobnom RG médiu nemožno porovnať s literárnymi údajmi, pretože ani v jednej z prác týkajúcich sa tejto problematiky sa frekvencia zygot na tomto médiu neuvádzajú. Frekvenciu zygot uvádzajú vo svojej práci jedine Gaillardin, Charoy a Heslot (1973); robili kultiváciu na MC médiu, ktoré je bohatšie ako RG médium. Po 36-hod. kultivácií pri rôznej hustote buniek uvádzajú pre suspenziu s hustotou  $10^8$  buniek/ml 2,5 % frekvenciu zygot, ktorá sa od nami zistenej frekvencie v kopulačnej zmesi CCY 29-26-35 × CCY 29-26-36 (2,2 %) odlišuje iba veľmi málo. Z toho možno usudzovať, že krížiteľnosť kmeňov CCY 29-26-35 × CCY 29-26-36 za našich podmienok kultivácie je takmer taká istá ako krížiteľnosť kmeňov W × Z, odvodnených z testovacích kmeňov, ktoré sme používali.

Na základe pozorovania frekvencie zygot v jednotlivých typoch kríženia možno dôjsť k záveru, že frekvencie zygot v jednotlivých kopulačných zmesiach sa od seba značne odlišujú. Keďže sa kmene kultivovali a krížili za rovnakých podmienok, možno tento jav vysvetliť iba rozdielnou kompatibilitou testovaných kmeňov. Je dosť pravdepodobné, že rozdielna kompatibilita môže súvisieť aj so schopnosťou jednotlivých kmeňov využívať *n*-alkány ako zdroj uhlíka. Predchádzajúcimi pokusmi sme zistili, že testér CCY 29-26-35 a testér CCY 29-26-36 nerastú na alkánoch, kým kmene 106 a 113 využívajú uhľovodíkový substrát ako zdroj uhlíka. Z pozorovaní vyplýva, že kmene, ktoré utilizujú uhľovodíky, krížia sa v oveľa nižšej frekvencii ako kmene, ktoré alkány neutilizujú. Na základe tohto predpokladu by sa dala vysvetliť aj rozdienosť vo výskytu zygot pri jednotlivých typoch krížení. Aby sa však mohla táto úva-

ha potvrdiť, treba vykonať presnejšiu genetickú analýzu testovaných kmeňov, získať z kmeňov 106 a 113 mutanty takisto neschopné rásť na *n*-alkánoch, ktoré by mohli byť zahrnuté do porovnávacích krížení.

## Záver

Prínosom práce bolo určenie párovacích typov dvoch kmeňov druhu *Candida lipolytica* schopných utilizovať *n*-alkány, čím sa otvorila cesta k ďalšej genetickej analýze a genetickému zušľachteniu týchto priemyselne dôležitých kmeňov. Určením párovacích typov bolo umožnené aj použitie mutačnej analýzy pri získavaní kmeňov s vysokou produkciou biomasy a kyselín Krebsovho cyklu.

## Súhrn

Niekteré kmene *Candida lipolytica* sú schopné utilizovať *n*-alkány a črtajú sa široké možnosti využiť ich pri výrobe bielkovín a niektorých organických kyselín.

Pri dvoch bližšie neurčených kmeňoch, označených 106 a 113, izolovaných v Bratislave, sa na základe kríženia s testermi určili ich párovacie typy (kmeň 106 ako párovací typ A, kmeň 113 ako párovací typ B) a frekvencia zygot. Najvyššia frekvencia zygot bola pri krížení testérov medzi sebou. Najnižšia frekvencia zygot bola pri vzájomnom krížení skúmaných novoizolovaných kmeňov. Rozdielnosť frekvencie zygot medzi jednotlivými kríženiami by sa mohla vysvetliť rozdielnou kompatibilitou testovaných kmeňov, ktorá môže byť v korelácií so schopnosťou utilizovať *n*-alkány.

## Literatúra

1. BASSEL, J. — MORTIMER, R.: Genetic analysis of mating type and alkane utilization in *Saccharomyces lipolytica*. *J. Bacteriol.*, **114**, 1973, 894—896.
2. BASSEL, J. — WARFEL, J. — MORTIMER, R.: Complementation and genetic recombination in *Candida lipolytica*. *J. Bacteriol.*, **108**, 1971, 601—611.
3. CHAMPAGNAI, A. — ADRIAN, J.: Pétrole et protéines. Paris, Doin 1974.
4. DAVIS, P.: Single cell protein. London, Academic Press 1974.
5. GAILLARDIN, C. — CHAROY, V. — HESLOT, H.: A study of copulation, sporulation and meiotic segregation in *Candida lipolytica*. *Arch. Microbiol.*, **92**, 1973, 69—83.
6. HERMAN, I.: Mating responses in *Candida lipolytica*. *J. Bacteriol.*, **107**, 1971, 371.
7. PONTANEL, G.: Proteins from hydrocarbons. London, Academic Press 1972.
8. WICKERHAM, L. J. — BURTON, K. A.: Occurrence of mating types in nature. *J. Bacteriol.*, **63**, 1952, 449—451.
9. WICKERHAM, L. J. — BURTON, K. A.: A clarification of the relationship of *Candida guilliermondii* to other yeast by a study of their mating types. *J. Bacteriol.*, **68**, 1954, 594—597.
10. WICKERHAM, L. J. — KURTZMAN, C. P. — HERMAN, A. I.: Sexuality in *Candida lipolytica*. Recent trends in yeast research. Chary, New York, Miner Institute 1969. Spectrum, Vol. 1, 1969, 81—92.
11. WICKERHAM, L. J. — KURTZMAN, C. P. — HERMAN, A. I.: Sexual reproduction in *Candida lipolytica*. *Science*, **167**, 1970, č. 3921, 1141.

## Использование микроорганизмов при решении проблемы голода

### Выводы

Некоторые штаммы *Candida lipolytica* способны утилизировать н-алканы и обретаются широкие возможности их использования при производстве белков и некоторых органических кислот.

У двух более подробно неопределенных штаммов, обозначенных как 106 и 113, изолированных в г. Братиславе, были на основании скрещивания с тестерами определены их парные типы (штамм 106 был установлен как парный тип А, штамм 113 был установлен как парный тип Б) и частота зигот. Самая высокая частота зигот оказалась при скрещивании тестеров между собой.

Самая низкая частота зигот оказалась при взаимном скрещивании наблюдавшихся новоизолированных штаммов. Разницу частоты зигот между отдельными скрещиваниями можно было бы объяснить разной совместимостью тестированных штаммов, которая может быть в корреляции с способностью утилизировать н-алканы.

## The utilizing of the microorganisms in solving the starving problem

### Summary

Some strains of *Candida lipolytica* are capable to utilize n-alkanes and due to the fact there drawn wide possibilities of their utilizing by production protein and some organic acid production.

By two nearer non determined strains signed as 106 and 113, isolated in Bratislava, on the base of crossing with testes the pair types were determined (the strain 106 was determined as the pairing type A, the strain 113 was determined as pairing type B) and the frequency of zygotes. The highest frequency of zygotes had been by crossing the testes between themselves.

The lowest frequency of zygotes took place at mutual crossing of the tested nonisolated strains. The difference in the frequency of the zygotes between individuals crossings could be by different compatibility of the tested strains explained which can be in correlation with the n-alkanes using capability.