

# Biotické vzťahy mikroorganizmov.

PAVEL NEMEC

## Časť všeobecná.

Od doby, keď sa mikroorganizmy pestovali v čistých kultúrach, spozorovalo sa, že niektoré mikroorganizmy sa uspokojia tzv. syntetickým prostredím, t. j. živnou pôdou zostavenou z vodného roztoku minerálnych solí a nejakého uhľohydrátu, cukru alebo alkoholu alebo organickej kyseliny. Iné mikroorganizmy naproti tomu vyžadujú kultivačné pôdy, obohatené určitými látkami organického pôvodu, a to v stave natívnom, čo najmenej denaturovanom. Účinné princípy, ktorých nositeľom sú natívne látky v kultivačných pôdach, volajú sa súborne biotiká a čiastočne boli identifikované.

Analogicky ako v prípade živín, účinkujúcich ako energetické zdroje, môžeme mikroorganizmy rozdeliť podľa schopnosti syntetizovať si biotiká z nebiotických komponent na vitamíno-autotrofné a vitamíno-heterotrofné. Prvá skupina mikroorganizmov, vitamíno-autotrofná, vie si biotiká syntetizovať sama a rastie preto v pôdach úplne syntetických. Druhá skupina vyžaduje pôdy obsahujúce biotiká alebo aspoň pôdy obohatené o ich komponenty.

Funkcia biotík v postupe životných pochodov u mikroorganizmov sa pre niektoré faktory zväčša poznala. Fungujú ako biokatalyzátory a regulátory biokatalýzy. Niektorí činitelia pri ich funkcii ubúdajú a anusia sa stále do organizmu privádzať alebo syntetizovať už aj preto, že sa často z organizmov tou alebo inou cestou vylučujú.

Biotiká mikroorganizmov a vitamíny vyšších organizmov, najmä živočíchov, sú často spoločné. Zdá sa, že to platí najmä pre faktory vo vode rozpustné.

Vyššie organizmy schopnosť syntetizovať vitamíny pre väčšinu faktorov stratili a ich fyziologická potreba vitamínov sa musí organizmu dodávať.

Nemusi to byť vždy potrava, ktorá je zdrojom vitamínov, ale niektorí vyšší živočísi si chovajú producentov nevyhnutných vitamínov vo svojom tele, žijúc s nimi vo viac-menej vyrovnanej symbióze. Pre živočíchov je tento spôsob získavania vitamínov pravidelný.

Zdrojom vitamínov pre človeka a iných vyšších živočíchov, najmä stavovce, sú črevné baktérie. U hmyzu to môžu byť ešte aj mikroorganizmy, chované vo zvláštnych pletivách, tzv. mycetoch. U iných členovcov žijú baktérie v žľazových sekrétoch vylučovaných do chitínových pohárikov. Aj tu, ako sa zdá, ide o vitamínovú symbiózu. U rastlín sú známe žľaznaté trichomy na povrchu rastlín alebo v medzibunečných priestoroch, na ktorých žije veľké množstvo mikroorganizmov, baktérií a kvasiniek. Je pravde-

podobné, že i tu ide o vitamínové symbiózy. Biotická symbióza sa nesporné dokázala napr. u tropickej rastliny *Ardisia crispa*. Symbiotické baktérie žijú tu v listoch a dodávajú rastline nejakú biotickú látku, pravdepodobne biotín.

Vitamínové symbiózy u rastlín a hmyzu sú zatiaľ so stránky chemickej a funkčionej pomerne málo prebádané. Viac pozornosti sa sústredilo na symbiózu vyšších živočíchov. Ide tu najmä o vodorozpustné vitamíny komplexu B, do ktorého počítame nasledujúce látky: Tiamín (aneurín), riboflavín, biotín, pantotenový kys., amid kys. nikotínovej (niacín), pyridoxín, listovú kyselinu, inositol a p-aminobenzoovú kyselinu.

Pri štúdiu baktériosyntézy vitamínov B u vyšších živočíchov pomerne rýchle sa poznalo, že táto syntéza u rôznych typov organizmov prebieha rozdielne (6). Mikroflóra predžalúdka prežúvavcov je na mikroorganizmy veľmi bohatá, ale táto mikroflóra je veľmi rozdielna od mikroflóry žalúdka živočíchov neprežúvavých. V bachore teliat, od narodenia živých bez vitamínu B, daly sa dokázať aspoň niektoré látky komplexu B (6). Dokázalo sa tiež, že väčšina prežúvavcov prírod faktorov B zvonku nepotrebuje, ale svoju fyziologickú potrebu faktorov B hradí zo zdrojov baktériosyntézy v zažívacom trakte. Baktériosyntéza sa dokázala u tiamínu (aneurínu), riboflavínu, niacínu, pyridoxínu, pantotenovej kyseliny, biotínu a inositolu. Tieto látky zaživací trakt resorbujú a prechádzajú aj do mlieka a u prežúvavcov tvoria významnú časť jeho dietetickej hodnoty.

V organizme komplex B syntetizujúce mikroorganizmy sú známe ako obligátni obyvatelia zaživacieho traktu. Tiamín (aneurín) u zvierat syntetizujú najmä: *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Bac. lactis aerogenes*, *Bac. alcaligenes fecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* a *Bac. bifidus*. Pre väčšinu týchto mikrobov sa dokázala schopnosť syntetizovať tiamín aj v kultúre.

Podobne u ostatných faktorov komplexu B nachádzame pôvodcov syntézy medzi obvyklými príslušníkmi črevnej mikroflóry (2, 6).

U potkanov sa dokázalo, že baktérie ich zaživacieho traktu tiež syntetizujú aspoň niektoré faktory B. Plná fyziologická spotreba však nie je krytá baktériosyntézou, čo sa prejavuje deficienčnými príkazmi (hypovitaminózou, až avitaminózou) pri podávaní potravy bez vitamínov. V prípade, že sa z potravy vynechá riboflavín, potkan začne požívať vlastné výkaly, ktoré obsahujú riboflavín.

Vcelku podobné výsledky ako u neprežúvavých živočíchov našly sa aj u človeka. Narozdiel od prežúvavcov, kde fyziologická potreba vitamínov B, ako sa zdá, je plne hradené baktériosyntézou, u človeka sa javí potreba prírodu niektorých faktorov zvonku. To znamená, že baktériosyntéza nestačí pravidelne hradiť celú

fyziologickú potrebu vitamínov. Dietetická potreba vitamínov je rozdiel medzi fyziologickou, t. j. celkovou potrebou vitamínov a množstvom, získaným z bakteriosyntézy.

Na rozsah bakteriosyntézy a využitie jej produktov majú vplyv nasledujúci činitelia:

1. Miesto, kde sa syntéza započne a dĺžka dráhy, po ktorú sú steny zažívacieho traktu so svojím obsahom v styku; tým je daná možnosť resorpcie vitamínov. Tento faktor je, prirodzene, daný druhovými vlastnosťami organizmu.

2. Druhom potravy. Vcelku sa dá povedať, že rozmanitosť potravy bakteriosyntézu podporuje.

3. Vplyvy brzdiace činnosť mikroorganizmov v zažívacom trakte. Ako veľmi význační činitelia tohto druhu ukázaly sa byť sulfonamídy. Profylaktické a terapeutické dávky sulfonamidov veľmi podstatne snižujú bakteriosyntézu vitamínov a môžu viesť rýchle k deficienčným symptómom. Produkcia tiamínu pôsobením sulfonamidov veľmi rýchlo klesá. Podobné výsledky sa bezpečne zaznamenali u pantotenovej kyseliny, listovej kyseliny a inositolu.

Na záver tejto časti možno shrnúť:

V zažívacom trakte človeka prebieha bakteriosyntéza vitamínov, avšak nekryje pravidelne jeho fyziologickú potrebu plne a treba ju dopĺňovať prívodom vitamínov zvonku. Druh výživy je dôležitý pre kvalitu a kvantitu bakteriosyntézy. Liečba sulfonamidami môže viesť k zvýšeniu nárokov na obsah vitamínov v potravě.

Ako sa už v úvode zdôraznilo, vedľa vitamíno-autotrofné mikroorganizmy syntetizovať biotiká a stávajú sa priamo či nepriamo ich zdrojom pre všetky vitamíno-heterotrofné organizmy. Jestvujú početné mikroorganizmy, ktoré vedľa syntetizovať jeden faktor komplexu B, ale nevedia to u iného. Sú potom v jeho fyziologickej potrebe odkázané na prívod tohto faktora zvonku a hovoríme, že sú, s ohľadom na príslušný faktor, vitamíno-heterotrofné. *Nematospora gossypii* syntetizuje tiamín, avšak nevie tvoriť biotín. Iným stačí prídanie jednej určitej komponenty tiamínu, napr. jadra pyrimidínového, aby mohli celú molekulu aneurínu (tiamínu) „dostávať“. Iné vedľa složiť tiamín z jeho komponent, jadier pyrimidínového a tiazolového (*Staphylococcus aureus*). *Leuconostoc mesenteroides* môže syntetizovať iba malé množstvo pyridoxínu.

Mikroorganizmy vitamíno-heterotrofné sú veľmi citlivé na prítomnosť biotík v substráte. *Phycomyces Blakesleeanus* uspokojí sa s 0,02 % (2/100,000,000 g) tiamínu v 1 cm<sup>3</sup> živného roztoku. Pantotenová kyselina pôsobí ešte v zriedení 4. 10<sup>-11</sup>. Na vzrast *Corynebacteria diphteriae* pôsobí biotín ešte v zriedení 0,0005 % v 1 cm<sup>3</sup>.

Pre organizmy vitamíno-heterotrofné je prítomnosť príslušných biotík v substráte životnou nevyhnutnosťou. Avšak aj časť

vitamíno-autotrofných organizmov reaguje na prítomnosť biotík v živnom prostredí zrýchlením vzrastu. Stimulačne pôsobia najmä biotiká v počiatocnom štádiu vzrastu.

Keď už sú biotiká v živnom prostredí prítomné v množstve individuálne druhu vyhovujúcom, na ďalšie pridávanie biotík organizmus pravidelne nereaguje.

Z nasledujúcej tabuľky je zrejmé, že rozmedzie stimulačne účinných alebo životne nevyhnutných dávok pre rôzne organizmy je veľmi rozdielne. Mimoriadna citlivosť niektorých mikrobov viedla k myšlienke upotrebiť ich ako pokusný organizmus na testovanie prítomnosti alebo aj kvantít faktora. Myšlienka pochádza od Schopfera, ktorý ju navrhol r. 1936 pre stanovenie prítomnosti aneurínu. Ako testovací organizmus navrhol *Phycomyces Blakesleeanus*. Inak boli navrhované najčastejšie rôzne druhy rodu *Lactobacillus*. Meria sa závislosť váhy mycelia, produkcia  $\text{CO}_2$  kyseliny alebo množstvo vyrastlých mikrobov (turbidimetrická metóda) na množstve do živnej pôdy pridaného vitamínu. Citlivosť testu niektorých organizmov je fantastická. *Streptococcus salivarius* reaguje ešte na množstvo 0,00001 % aneurínu v 1  $\text{cm}^3$  roztoku.

Prirodzene, núka sa aj praktické upotrebenie týchto poznatkov vo fermentačnom priemysle.

Jedným z ľahko dostupných zdrojov vzrastových faktorov je výluh získaný pri procese mokrého mletia kukurice, tzv. corn-steep liquor.

Behr (12) navrhoval túto látku už r. 1909 ako živinu alebo — lepšie povedané — ako zdroj doplnkových živín pre mikroorganizmy. V USA sa konali s CSL (corn-steep liquor) pokusy s jeho upotrebením v nasledujúcom priemysle: Výroba kŕmnych kvasníc a lisovaného droždia, glukónovej kyseliny, sorbózy, riboflavínu atď. Najväčšie upotrebenie dosiahol CSL v poslednej dobe ako stimulant pri výrobe penicilínu.

CSL obsahuje produkty metabolizmu a produkty fermentačnej činnosti mikroorganizmov, ktoré sa v ňom za výrobného procesu vyvíjajú.

Napriek pomerne veľkej acidite corn-steepu ( $\text{pH} = 3,8\text{—}4,3$ ) je obsah živných mikroorganizmov v 1  $\text{cm}^3$  ohromný a ide podľa literárnych údajov do biliónov. Platí to najmä pre organizmy rodu *Lactobacillus*, *Bac. subtilis* a *Proteus vulgaris*. Značný je aj podiel kvasiniek. S ohľadom na vysokú enzymatickú aktivitu mikroorganizmov obsahuje kukuričný výluh (CSL) veľa aminokyselín a polypeptidov. Tvorba alkoholu je obmedzená pomerne vysokou teplotou, ktorá v procese kolísala okolo 45°C.

Takto složený kukuričný výluh ukázal sa skvelým prameňom živín pre mikroorganizmy a súčasne aj prenikavým stimulantom, najmä pre *Ascomycety*.

Corn-steep môže slúžiť v laboratóriu ako náhrada bouillonu a rastú na ňom okrem niektorých patogenných mikrobov organizmy

Faktor (synonymá):	Stimulujúce alebo najmenšie úč. množstvo v 1 cm <sup>3</sup> substrátu v %	
Tiamín, (aneurín, faktor B <sub>1</sub> )	Mycobacterium tuberculosis	1000,0—3.500,0
	Lactobacillus sp.	0,005—0,2
	Saccharomyces cerevisiae	0,01—5,0
	Torula utilis,	10,0—15,0
	Torula cremoris,	0,2
	Vláknité huby,	0,0004—0,25
	Riasy (Algae),	100,0—1.000,0
	Prvoci	0,001—0,8
Riboflavín, (laktoflavín, faktor B <sub>2</sub> )	Lactobacillus sp.	0,05—0,1
	Vláknité huby,	0,02—0,1
	Leptospira canicola	0,001
Pyridoxín, (adermín, faktor B <sub>6</sub> ).	Lactobacillus sp.	0,5—1,0
	Saccharomyces cerevisiae	0,004—1,6
	Vláknité huby ,	0,5—5,0
Amid kys. nikotínovej, (niacín).	Lactobacillus sp.	0,1—0,3
	Leptospira canicola	1,0
	„ icterohemorrhagiae	100,0
Glutamín	Lactobacillus casei	0,2—0,3
Inositol, (bois I).	Mycobact. tuberculosis	100,0
	Saccharomyces cerevisiae	10,0—50,0
Pantotenová kys. (bois III).	Lactobacillus sp.	0,005—0,05
	Saccharomyces cerevisiae	0,006
	Torula cremoris	0,2
	Vláknité huby	0,1—1,0
Biotin, (bios II).	Lactobacillus sp.	0,0004—0,0001
	Saccharomyces cerevisiae	0,0003—0,167
	Torula eremoris	0,002
	Vláknité huby	0,00012—0,012
p-aminobenzoová kys.	Brucella abortus	0,05—1,0
	Clostridium sp.	0,002
	Neurospora crassa	0,0025

*k rôznym organizmom (4, 6, 9)*

Faktor je nepostradateľný pre:	Fyziologická funkcia:	Literatúra:
vyšších živočíchov, niektoré baktérie a vláknité huby, prvokov  korene vyšších rastlín.	Ko-karboxyláza Metabolizmus uhlíhydrátov.	Leitner, 1937. Wood, 1937; Saret, 1944. Williams, 1930 Odintsova, 1940. Koser, Wright, 1943. Schopfer, 1938, 1943. Schopfer 1943. Lwoff, 1938; Dewey, 1941
vyšších živočíchov, hmyz, niektoré baktérie a vyš. huby	Súčasť Warburgovho žltého dých. enzymu Metabolizmus proteínov.	Snell, Strong, 1939; Lowry, 1914 Rosenfeld, Green, 1941 Robbins, Kavanagh, 1942.
vyšších živočíchov, hmyz, nižšie huby, korene vyš. rastlín.	Ko-dekarboxyláza	Möller, 1940; Snell, 1943. Moller, 1938; Eakin, Williams 1939. Fries, 1943. Stokes, 1943.
vyšších živočíchov, niektoré bakterie. Korene vyš. rastlín.	Ko-enzym. Úloha v metabolizme proteínov.	Snell, 1938, 1939. Rosenfeld, 1941. Ward, 1941
niektoré bakterie.	Nejasná	Pollack, 1942.
Niektorých vyš. živočíchov, Nižšie huby, jednobunecné pliesne, Trychophyton Discoides	Nejasná	Uyei, 1930.  Wooley, 1941.
vyšších živočíchov, hmyz, niektoré nižšie huby.	Zdá sa, že je dôležitá pre hydrolytické enzymatické pochody.	Snell, 1938. Williams, 1941. Koser, Wight, 1943. Robbins, 1942.
vyšších živočíchov, hmyz, niektoré bakterie a nižšie huby	Nejasná.	Snell, 1941 Kögl, 1935, 1936. Koser, Wight, 1943. Robbins, 1942.
vyšších živočíchov, hmyz, niektoré bakterie a nižšie huby	Antagonista pôsobenia sulfonamidov.	Green, 1942. Rubko, 1942. Anderson, 1948.

inak pestované na bouillonových pôdach. Odporúča sa použiť roztok corn-steepu (SCL) obsahujúce 0,5 — 1% sušiny s príslušne nastaveným pH.

Momentálne najdôležitejšie upotrebenie pre corn-steep poskytuje technológia penicilínu. Penicilium, pestované v Czapek-Doxovom roztoku minerálnych solí s prídavkom corn-steepu, veľmi podstatne zvyšuje produkciu penicilínu.

CSL je syropovitá kvapalina, šp. váhy 1,25 pH = 3,7—4,1.	
obsah vody	45—50%
obsah dusíka podľa Kjeldahla	2,7—4%
obsah red. cukrov	0,1—11,0%
obsah mliečnej kys.	5—15,0%
obsah popola	9—10,0%
obsah prchavých kys. (oct.)	0,1—0,3%

Prítomné dusíkaté slúčeniny sú zväčša aminokyseliny a polypeptidy. Z aminokyselín sa zistily alanín, histidín, arginín, asparťová kys., cystín, glutamínová kys., izoleucín, leucín, lyzín, metionín, fenylamín, prolín, treonín, tyrozín a valín. Viac ako jedna štvrtina N je prítomná vo forme alanínu.

Ďalšou veľmi dôležitou zložkou CSL sú vzrastové faktory.

V 1 g výluhu sa našlo riboflavínu 5,0 % kyseliny pantotenevej 24,0 % pyridoxínu 19,0 %, biotínu 0,13 %. Tiamínu je podľa amerických údajov málo, pretože je deštruovaný výrobným procesom, najmä SO<sub>2</sub>. Zato obsah inositolu je veľký, najmenej 1 mg/g výluhu.

Analýza popola ukázala, že obsahuje tak väčšinu biogenných, ako aj oligobiogenných prvkov. Obsah mikroelementov, čiže tzv. katalytických prvkov je dostatočný. Z mikroelementov (t. j. oligobiogenných prvkov), našly sa v corn-steepe: Cu, Al, B, Co, Li, Mn, Ni, Si, Sn a Zn.

Keď prezremo všetky chemické vlastnosti CSL, vieme si aspoň čiastočne vysvetliť jeho stimulačné účinky pre tvorbu penicilínu. Obsah a kombinácia aminokyselín, ako potvrdil White a jeho spolupracovníci, v kultivačných pochodoch zodpovedá najvýhodnejšej kombinácii aminokyselín ako stimulácie tvorby penicilínu. Vedľa toho nárazníkový vplyv prítomných aminokyselín pomáha udržať optimálne podmienky syntézy penicilínu.

Knight dokázal, že aj corn-steepový popol stimuluje tvorbu penicilínu. Vysvetlenie pôsobenia tohto popola treba hľadať v prítomnosti mikroelementov a azda aj Fe a P.

Otázku významu biotín pre životné pochody *Sacharomyces cerevisiae* u nás študoval V. Stuchlík. Jeho výsledky, publikované v r. 1942 (11), dobre sa kryjú s neskoršie uverejnenými prácami americkými.

Zo všetkých pokusov vyplýva, ako mimoriadne dôležitá je pre štúdium pôsobenia jednotlivých faktorov tá okolnosť, aby všetky ostatné podmienky boli optimálne. Platí to tak pre produkciu hmoty, ako aj pre produkciu metabolitov. (1, 11, 8).

1. Knight, B. C. J. G., Vitamins and Hormones, Vol. III., 105 (1945).
2. Johansson, K. R., Sarles, W. B., Bacteriological Reviews 1, 25 (1949).
3. Olson, B. H., Marvin, J. J., Journ. of Bacteriology. 2, 235 (1949).
4. Porter, J. R.: Bacterial Chemistry and Physiology. London, 1946.
5. Bautheret, R. J., Endeavour 26, 75 (1948).
6. Moore, T., Vitamins and Hormones, Vol. III., 1 (1945).
7. Melville, D. B., Vitamins and Hormones. Vol. II, 1 (1944).
8. Ligett, R. W., Koffler, H., Bact. Rev. 4, 297 (1948).
9. Najjar, V. A., Barret, R., Vitamins and Hormones. Vol. III. 23 (1945).
10. Bourgin, J. P., Helv. Chim. Acta. 5, 1302 (1946).
11. Stuchlik, V., Chem. obz. 1, 1 (1942), 2, 25 (1942).
12. Behr, A.: Food product and process of making same. U. S. P. Čís 914.379 (199).
13. Anderson, C. G., Bacteriological chemistry. Edinburgh, 1948.

## Vynález a patent vo svetle hospodárskeho a sociálneho vývoja

GABRIEL SOMMER

V modernej dobe nespočíva výskumná činnosť len v genialite výskumného pracovníka, ale predpokladá presnú a dôkladnú znalosť aktuálneho stavu techniky. Výskumná činnosť bez tejto znalosti stáva sa ľahko neúspešnou, pretože vedie k výsledkom, ktoré so svetového hľadiska nie sú už nové. Stretávame sa často s prípadom, že vynálezca vynaložil veľa kvalitnej duševnej činnosti na vypracovanie nového postupu alebo na zostrojenie nového zariadenia, zabudol však pritom, alebo nemal dostatočnú možnosť získať si náležitý prehľad o najnovšom stave techniky doma i za hranicami a dodatočne urobí trpké zistenie, že hoci subjektívne išlo o činnosť vynálezeckú, výsledok jeho práce predsa nemôže byť uznaný za vynález, nakoľko predtým obdobný postup či zariadenie staly sa už známymi niekde vo svete. Výsledok jeho činnosti je preto vynálezom len s jeho subjektívneho hľadiska, nie je ním však s hľadiska objektívneho a nemá preto praktickú hodnotu. Keby bol vynaložil obdobnú myšlienkovú prácu pri presnej znalosti aktuálneho stavu techniky, mohol dospieť k výsledkom, ktorým by ani s prísneho objektívneho hľadiska nebolo možno odoprieť povahu vynálezu a ktoré by boli prakticky hodnotné tak v tuzemsku, ako aj v cudzine.

Ide tu teda vlastne o *racionálne využitie duševnej kapacity výskumných pracovníkov*. Ak sa nevytvoria pre ich prácu potrebné predpoklady, aby sa ľahko a rýchlo mohli orientovať o stave techniky, povedie značná časť ich duševnej činnosti k riešeniam, vo