

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta

MIKROBIOLOGIE
(pro zahradnické obory)
Díl 1. Obecná část

Ing. Ivan Tůma, Ph.D.

**Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta**

**MIKROBIOLOGIE
(pro zahradnické obory)
Díl 1. Obecná část**

Ing. Ivan Tůma, Ph.D.

Brno, 2015



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



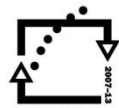
evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



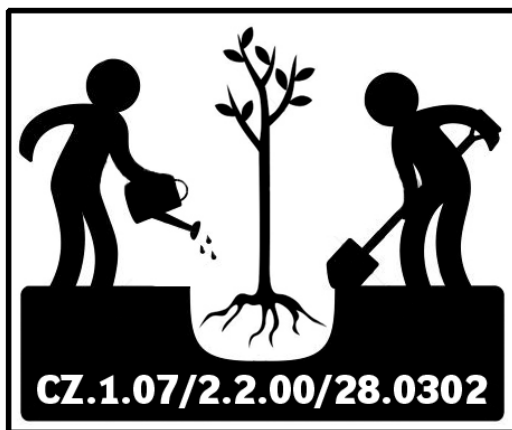
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



Tato publikace je spolufinancována z Evropského sociálního fondu a státního rozpočtu České republiky.

Byla vydána za podpory projektu OP VK CZ.1.07/2.2.00/28.0302 Inovace studijních programů AF a ZF MENDELU směřující k vytvoření mezioborové integrace.

Recenze: Mgr. Petr Holub, Ph.D.

© Ing. Ivan Tůma, Ph.D., 2015

ISBN 978-80-7509-226-7

ISBN 978-80-7509-228-1 (soubor)

ISBN 978-80-7509-227-4 (II. díl)

OBSAH

1 ÚVOD, ANEB PROČ STUDOVAT MIKROBIOLOGII.....	5
2 DEFINICE VĚDNÍHO OBORU MIKROBIOLOGIE A JEHO STRUČNÁ HISTORIE	7
3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ MIKROORGANISMŮ A JEJICH VÝŽIVA	10
3.1 Prvkové složení mikroorganismů	10
3.2 Látkové složení mikroorganismů	12
3.3 Charakteristika organismů podle typu výživy	15
3.3.1 Klasifikace organismů podle zdroje uhlíku	15
3.3.2 Klasifikace organismů podle donorů elektronů	16
3.3.3 Klasifikace organismů podle způsobu získávání energie	16
3.3.4 Klasifikace organismů podle nároků na vzdušný kyslík	19
3.4 Příjem živin a exkrece látek mikrobiální buňkou	19
4 METABOLISMUS MIKROORGANISMŮ	21
4.1 Všeobecná charakteristika metabolismu	21
4.2 Odlišnosti metabolismu mikroorganismů a vyšších organismů	22
4.3 Enzymy	22
4.4 Biologická tvorba a přenos energie	25
4.5 Rozklad látek mikroorganismy	27
4.5.1 Katabolismus chemoheterotrofních mikroorganismů	28
4.5.2 Katabolismus chemoautotrofních mikroorganismů	51
4.6 Anabolismus mikroorganismů	55
4.6.1 Biosyntéza monosacharidů	55
4.6.2 Biosyntéza aminokyselin a proteosyntéza	56
4.6.3 Asimilace anorganického dusíku – fixace vzdušného dusíku	56
5 GENETIKA MIKROORGANISMŮ	57
5.1 Co zkoumá genetika mikroorganismů	57
5.2 Genetika prokaryotních mikroorganismů	58
5.2.1 Chromosom prokaryot	58
5.2.2 Značení bakteriálního genotypu	59
5.2.3 Replikace	59
5.2.4 Struktura genomu	60
5.2.5 Plasticita prokaryotického genomu	60
5.3 Genetika eukaryotních mikroorganismů	64
5.3.1 Chromosom eukaryot	64
5.3.2 Proměnlivost eukaryotického genomu	65
5.3.3 Genetika kvasinek	65
5.3.4 Parasexuální cyklus mikroskopických hub	67
6 ZAŘAZENÍ MIKROORGANISMŮ V SYSTÉMU ORGANISMŮ	68
6.1 Mikroorganismy bez buněčné struktury	70
6.1.1 Viry	70
6.1.2 Priony	79
6.2 Mikroorganismy s prokaryotickou buňkou	81
6.2.1 Stavba prokaryotické buňky	81
6.2.2 Doména <i>Archaea</i>	91
6.2.3 Doména <i>Bacteria</i>	94
6.3 Mikroorganismy s eukaryotickou buňkou	107

6.3.1 Stavba eukaryotické buňky.....	107
6.3.2 Říše <i>Fungi</i> (houby).....	113
6.3.3 Říše <i>Chromista</i>	128
6.3.4 Říše <i>Protozoa</i> (prvoci)	129
6.3.5 Říše <i>Plantae</i> (rostliny).....	133
POUŽITÁ A DOPORUČENÁ LITERATURA	136

1 ÚVOD, ANEB PROČ STUDOVAT MIKROBIOLOGII

Proto!!! Protože každý z nás by měl o mikroorganismech něco vědět. A proč? Protože bez mikroorganismů by nebylo ani tzv. vyššího života. Protože každý z nás je s mikroorganismy v kontaktu od svého narození po celý život jak v osobním, tak v našem případě i v profesním životě. Každý člověk je již v době svého zrodu kolonizován „spřátelenými“ mikroorganismy v ohromném množství jedinců i počtu druhů tvořícími společně tzv. lidský mikrobiom (dříve mikroflora), který významně promlouvá do mnoha základních životních procesů člověka a spolurozhoduje také o našem zdraví. Toto společenstvo je specifické a jedinečné pro každého člověka podobně jako otisky prstů. Mikroorganismy jsou také nezbytným prostředkem při zemědělské výrobě a tedy i při různých zahradnických činnostech. S mikroorganismy se tak setkáváme v každém období našeho života, setkáváme se s nimi v rozličných formách, v různých prostředích a různých oborech lidské činnosti. Člověk se setkává i s tzv. patogenními mikroorganismy, to znamená těmi, které mohou způsobovat v lidském organismu rozličné choroby. Právě původní zájem o mikroorganismy byl spjat **se snahou porozumět příčinám nejrůznějších infekčních onemocnění lidí**. Těmito mikroorganismy se zabývá humánní medicína. Patogenní mikroorganismy mohou napadat též zvířata (veterinární medicína) a samozřejmě mohou poškozovat i rostliny, mezi nimi i zemědělsky využívané a zahradnický pěstované užitkové a okrasné rostliny (fytopatologie). Na druhé straně je však třeba konstatovat, že většina mikroorganismů není pro člověka nebezpečná, ale je tomu právě naopak – většina mikroorganismů je pro život člověka prospěšná, stejně jako pro ostatní organismy.

Mikroorganismy jsou důležitou a naprosto nezbytnou součástí koloběhu živin a energie na této planetě. Koloběh hmoty (prvků) a energie je nutným předpokladem pro vývoj všech živých organismů. Autotrofní organismy syntetizují z jednoduchých anorganických složek ekosystému látky organické, které jsou nezbytným zdrojem živin a energie pro heterotrofní organismy včetně člověka. Po odumření podléhají těla všech organismů rozkladným, tedy dekompozičním procesům uskutečňovaným mikroorganismy, kdy dochází k opětovným přeměnám organických látek v minerální, jedná se tedy o mineralizaci, kdy jsou z těl všech organismů uvolňovány tyto jednoduché minerální látky k opětovnému využití autotrofními organismy. Dochází zde k naplňování biblického „prach jsi a v prach se obrátíš“. Mikroorganismy jsou tak na počátku koloběhů a zároveň i na jeho konci.

Tyto procesy jsou spojeny s půdní úrodností a schopností zemědělců vyprodukovat dostatečné množství potravin. Celý náš zemědělský systém je tedy v mnoha důležitých ohledech přímo závislý na aktivitě mikroorganismů. Zde je třeba připomenout například některé druhy bakterií, které jediné ze všech pozemských organismů jsou schopny fixovat vzdušný dusík a zpřístupnit ho tak ostatním účastníkům koloběhů nebo mikroskopické houby žijící v symbióze s kořeny rostlin, pomáhající jim zásadním způsobem v příjmu živin a vody. Na druhé straně mohou mikroorganismy způsobovat ekonomické ztráty v zemědělských odvětvích (choroby rostlin i zvířat). Produkty vypěstované zemědělci včetně zahrádkářů je třeba dále zpracovat a i zde se setkáváme se spolupůsobením mikroorganismů v oborech potravinářských, například se jedná o výrobu kvašeného zelí, jogurtů, sýrů, dále jsou využívány ve vinařství, pivovarnictví, lihovarském průmyslu atd. Biotechnologie využívají mikroorganismy v široké škále průmyslových procesů, kdy jsou těsně provázány s genetickým inženýrstvím, často s využitím geneticky modifikovaného mikroorganismu schopného syntetizovat určité produkty vysoké komerční hodnoty. Jedná se o celou řadu organických kyselin, vitamínů či enzymů. Celá řada látek je využívána ve farmaceutickém průmyslu jako antibiotika a jiné biologicky aktivní látky. Příkladem by mohl být lidský inzulin, hormon, jenž se u nemocných cukrovkou vyskytuje v abnormálně nízkých množstvích. Může být produkován mikroorganismy s genem pro jeho tvorbu uměle do genomu patřičného mikroba vneseným. Mikroorganismy měly, mají a budou mít význam i při využívání, tvorbě a spotřebě energie člověkem. Většina přírodního plynu je totiž produktem aktivit metanogenních bakterií. Podobnou roli sehrávají mikroorganismy při výrobě energeticky využitelných produktů (např. v bioplynových stanicích), kdy nejrůznější organické látky (často odpadní) bývají přeměněny rozkladnou činností mikroorganismů na biopalivo (metan, etanol). Na produkci takto zpracovávané biomasy mohou být využity fototrofní mikroorganismy schopné přeměňovat světelnou energii. V budoucnosti by mohly mikroorganismy poskytovat alternativní zdroje energie (např. výroba vodíku využitelného v palivových článcích k pohonu strojů). Mikroorganismy s jejich obrovskou enzymatickou aktivitou mohou být také využity například při bioremediacích, tedy technologiích vedoucích k transformaci a inaktivaci toxických cizorodých látek, které se dostávají do ekosystému často vlivem činnosti člověka.

2 DEFINICE VĚDNÍHO OBORU MIKROBIOLOGIE A JEHO STRUČNÁ HISTORIE

Mikrobiologie, jejíž název navrhl L. Pasteur, je složen ze slovních základů *mikros* – malý, *bios* – život, *logos* – slovo nebo nauka. Je to tedy vědní obor, který se zabývá studiem vlastností a činností mikroorganismů a jejich významem pro rostliny zvířata a člověka.

Mezi **mikroorganismy** jsou řazeny jednobuněčné a vícebuněčné organismy i nebuněčné struktury (viry), které nejsou schopny tvořit diferencované tkáně či pletiva a jsou viditelné pouze mikroskopicky. Tvoří heterogenní skupinu organismů, kam řadíme viry, bakterie a sinice, mikroskopické houby tj. kvasinky a vláknité mikromycety (plísňe) a dále řasy a prvoky.

Mikrobiologii můžeme rozčlenit na mikrobiologii aplikovanou (speciální) a obecnou. **Obecná mikrobiologie** pomocí morfologie, cytologie, fyziologie, biochemie, taxonomie, genetiky a ekologie zkoumá jevy a vlastnosti společné všem mikroorganismům a formuluje všeobecně pro mikroorganismy platné principy a zákonitosti. **Aplikovanou mikrobiologii**, vycházející z poznatků mikrobiologie obecné, můžeme členit na celou řadu oborů, kde dochází k praktickému uplatnění a využití mikroorganismů. Jedná se především o mikrobiologii zemědělskou s důležitou půdní mikrobiologií, lékařskou a veterinární mikrobiologií, environmentální a technickou, kam patří například potravinářská mikrobiologie a výroba vína, piva, lihu, antibiotik, vitamínů a dalších látek.

Původní zájem o mikroorganismy však byl zpočátku spjat se snahou porozumět příčinám nejrůznějších infekčních onemocnění. Nějaké tušení o existenci původců chorob měli lidé již dávno. Například Marcus Terrentius Varro (116 až 26 př. n. l.) psal, že některé nakažlivé choroby způsobuje jakési neviditelné živé agens. Pravděpodobně tyto teorie však mohl čerpat již od svých předchůdců. Nicméně různorodých schopností mikroorganismů využíval člověk již od nepaměti. Člověk se za jejich pomocí naučil zpracovávat kůže, len, znal kyselé mléko, vyráběl různé sýry. Nejstarší známý alkoholický nápoj, tedy medovinu vyráběli lidé za pomoci kvasinek. Schopnosti kvasinek využívali ve starém Babylóně již v době 7000 let před naším letopočtem při výrobě piva, podobně jako ve starověkém Egyptě, kde se například uvádí v období 3000 let př. n. l. znalost 6 druhů vína. Dávno pěstovali lidé rostliny v půdě, i když přesně neznali mechanismy působení mikroorganismů na udržení půdní úrodnosti. Nicméně římský spisovatel Columella (1. století před naším letopočtem) radil zemědělcům ke zlepšení půdních vlastností a výnosu používat vikvovité rostliny. Až mnohem později bylo toto pozitivní působení přisouzeno bakteriím fixujícím dusík ze vzduchu, které žijí na

kořenech v symbióze s těmito rostlinami a obohacují půdu dusíkem. Velice zajímavé je, že z historických pramenů se dozvídáme o pokusech u starověkých civilizací Číny, Egypta, Mayů a národů střední, východní a jihovýchodní Evropy léčit choroby pomocí aktivních látek pocházejících z mikroorganismů, kdy se zanícené rány potíraly například plesnivým sojovým mlékem či plesnivým chlebem nebo kváskem (zdroj antibiotik). V kostech starých Egyptanů se našel dokonce tetracyklin, novodobě využívaný jako antibiotikum. O skutečné historii mikrobiologie však můžeme hovořit až s objevem buněk mikroorganismů. Prvním, kdo do tohoto světa nahlédl, byl patrně **Athanasius Kircher**, který v roce 1657 pomocí silné lupy v krvi nemocných morem pozoroval organismy, které nazval „morovní červíci“, původci moru. Svůj objev však náležitě nepublikoval a prvním člověkem, který viděl a popsal mikroorganismy pomocí prvních jednoduchých mikroskopů, byl **Robert Hooke** (roku 1664), který pozoroval buňky a fruktifikační orgány plísní (eukaryotické buňky). Prvním, kdo sledoval prokaryotické buňky bakterií je holandský amatérský konstruktér mikroskopů **Antony van Leeuwenhoeck** (1632 až 1723). Sám si sestrojil mikroskop a výsledky svých pozorování v roce 1684 publikuje jako „Tajemství přírody odkryté A. v. Leeuwenhoeckem“, kde pozorované objekty byly označeny jako „wee animalcules“ doslova „maličká mikroskopická zvířátka“.

Dalším důležitým průkopníkem a faktickým zakladatelem mikrobiologie jako vědy byl Francouz **Luis Pasteur** (1822 až 1895). Pasteur prokázal v letech 1857 až 1861, že příčinou etanolového kvašení jsou kvasinky a mléčného a máselného kvašení bakterie, kdy se do této doby tyto procesy považovaly za čistě chemické. Pasteur prokázal přítomnost bakterií ve vzduchu a vyvrátil v té době uznávanou teorii spontánního generování, která tvrdila, že mikroorganismy vznikají z neživé hmoty, začal používat tekutých živných půd, zavedl sterilizaci teplem a za studena filtrací, objevil původce sněti slezinné a cholery drůbeže. Svými výzkumy předurčil antibiózu, tedy boj proti mikroorganismům jinými druhy či jejich produkty. Vypracoval základní metody očkování vakcínami (aktivní imunizace oslabenými kulturami – sněť slezinná, vzteklina), stal se zakladatelem imunologie. Významným mikrobiologem byl také německý lékař, nositel Nobelovy ceny **Robert Koch** (1843 až 1910), tvůrce metodických postupů a laboratorní techniky využitelných při kultivaci, izolaci a identifikaci bakterií; první kultivoval bakterie na pevné živné půdě. Byl objevitelem původce cholery a především bakterie *Mycobacterium tuberculosis*, původce tuberkulózy, choroby způsobující v době objevu sedminu všech úmrtí lidí. Jsou známé tzv. Kochovy postuláty, které pomáhají určit, zda organismus je prokazatelně původcem dané choroby. Se svými žáky objevil také původce tyfu, tetanu, záškrtu a dalších chorob. Je autorem mnohých

metod barvení mikroorganismů. Další z metod barvení bakterií používanou dodnes vyvinul dánský mikrobiolog **Christian Gram** (1853 až 1938). **Ilja Mečnikov** (1845 až 1916), nositel Nobelovy ceny, je autorem fagocytární teorie zánětu a imunity při obraně těla proti infekci (*fagocytóza – pohlcování bakterií bílými krvinkami – fagocyty*). Je také autorem originální teorie o příčinách předčasného stárnutí lidského organismu, podle které jsou hlavní příčinou stárnutí hnilobné pochody v trávicím traktu, jejichž jedovaté zplodiny pozvolna otravují lidský organismus, jemuž se dá zabránit rekolonizací trávicího traktu tzv. probiotickými kulturami mikroorganismů. Byl iniciátorem biologické metody boje proti zemědělským škůdcům.

Společně s intenzivně se rozvíjející lékařskou mikrobiologií se v 19. století vyvíjí i zemědělská mikrobiologie. Zakladatelem půdní mikrobiologie bývá označován ruský vědec **Sergej Vinogradskij** (1856 až 1953) a Holanďan **Martinus Beijerinck** (1851 až 1931). Vinogradskému se podařilo poprvé izolovat mnoho významných půdních bakterií, zejména se zabýval těmi bakteriemi, jež se uplatňují v koloběhu dusíku a v koloběhu síry. Popisuje u bakterií chemolitotrofii a na základě studií s nitrifikačními bakteriemi, které získávají oxid uhličitý ze vzduchu, popisuje u bakterií autotrofii. Izoloval čistou kulturu nitrifikačních bakterií, na které prokázal, že proces nitrifikace je výsledkem bakteriálních aktivit. Pomocí selektivních živných půd poprvé izoloval anaerobní bakterii schopnou fixace vzdušného dusíku, kterou popsal a pojmenoval *Clostridium pasteurianum*. Beijerinck měl podobné zájmy jako Vinogradskij a jeho snad největším příspěvkem na poli mikrobiologie byla teorie obohacené kultury. Namísto izolace mikrobů z prostředí pomocí univerzálních živných půd využívá jiný postup – selektivních živných médií a selektivních inkubačních podmínek, jež některé mikroorganismy podporují a jiné zase tlumí. Právě díky tomuto postupu se mu podařilo jako prvnímu izolovat čisté kultury fixátorů dusíku, sulfát-redukující a síru oxidující bakterie, hlízkovité bakterie, některé příslušníky rodu *Lactobacillus*, zelené řasy a mnohé další mikroorganismy. V roce 1866 objevil **M. Vorodin** v hlízkách vřesovitých rostlin bakterie, které dokázal Beijerinck převést do čisté kultury. V roce 1890 společně s **Dimitrijem Ivanovským** podali nepřímý důkaz o existenci virů – objevili původce virové tabákové mozaiky.

V boji proti původcům chorob sehrál velkou roli skotský lékař **Alexander Fleming** (1881 až 1955). V roce 1921 našel v tkáních a v tělních sekretech důležitou bakteriolytickou látku, kterou pojmenoval jako lysozym. V roce 1928 zjistil, že se na kultuře bakterie *Staphylococcus* náhodně objevily plísňe (*Penicillium notatum*) a že vytváří kolem sebe zónu prostou bakterií. Tím byl inspirován k dalším pokusům a zjistil, že kultura plísni zabraňuje

růstu stafylokoka a extrakt z mycelií plísně dokonce ještě při zředění 800x vykazoval stejné účinky. Aktivní substanci pojmenoval jako penicilín (podle rodového názvu zkoumané plísně). Za tento objev získal v roce 1945 Nobelovu cenu.

V roce 1997 získal Nobelovou cenu profesor neurologie, biochemie a biofyziky **Stanley Prusiner** za svůj objev úplně nového původce vzácného, pomalu se rozvíjejícího mozkového onemocnění, nazvaného prion. Další významnou osobností mikrobiologie dvacátého století je profesor **Luc Montagnier**, který věnoval celý svůj profesionální život objevu viru HIV, způsobujícímu chorobu AIDS a nalezení vakcíny proti němu. V roce 1995 **Craig Venter** a **Hamilton Smith** zveřejnili kompletní sekvence bakteriálního genomu.

Z českých, moravských či slovenských mikrobiologů se zapsali do dějin mikrobiologie například půdní mikrobiolog **Julius Stoklasa**, který jako první dokázal biologickou sorpci živin jako formu jejich dočasného vázání v půdě. **Václav Káš**, brněnský půdní biolog, byl autorem naší první učebnice zemědělské mikrobiologie. Autory další kvalitní zemědělské učebnice mikrobiologie byli **D. Marendiak** a **L. Kopčanová**. **Stanislav Prowazek** (1875 až 1915) je objevitelem pleomorfního původce skvrnitého tyfu *Rickettsia prowazeki* a dokázal, že jeho přenašečem je veš šatní. **František Král** v roce 1890 založil v Praze pravděpodobně vůbec první sbírku mikroorganismů na světě. Jejím pokračováním je Čs. sbírka mikroorganismů založená brněnským taxonem **Theodorem Martincem**.

3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ MIKROORGANISMŮ A JEJICH VÝŽIVA

3.1 Prvkové složení mikroorganismů

Ze svého bezprostředního okolí čerpají mikroorganismy látky, z nichž získávají energii a jednotlivé komponenty (živiny), ze kterých je složeno jejich tělo. Jestliže porovnáme chemické složení mikroorganismů, rostlin a živočichů, zjistíme, že ani v prvkovém, ani v látkovém složení nejsou zásadní rozdíly. Známe přibližně 20 prvků, které se pravidelně vyskytují v živých organismech a z nich **jen 13** můžeme zjistit **ve vyšším zastoupení než 0,001 %** – tyto prvky se nazývají **biogenní**.

Mezi **makroelementy** (plastické prvky) patří C, H, O, N, P, S, Na, K, Ca, Mg a Cl. Tyto prvky tvoří téměř 99,9 % hmotnosti buněk, přičemž základní plastické prvky – C, H, O, N tvoří 95 % hmotnosti buněk. Tzv. **primární prvky** patřící mezi makroprvky (C, H, O, N, P, S) se vyskytují v buňkách nejčastěji a jsou univerzálními složkami stavebních jednotek všech buněk.

Uhlík je pro organismy prvkem základním, je totiž součástí všech organických látek, není organické látky bez uhlíku a tedy ani organismu bez organické látky s uhlíkem. Je výchozím prvkem pro syntézu aminokyselin, nukleotidů, sacharidů, lipidů a jiných nízkomolekulárních látek, tvoří kostru proteinů a nukleových kyselin. Mikroorganismy mohou využívat uhlík z různých zdrojů. Podle zdroje uhlíku můžeme autotrofní a heterotrofní mikroorganismy rozdělit do několika skupin.

Dusík potřebují mikroorganismy pro tvorbu aminových a iminových skupin v aminokyselinách, purinových a pyrimidinových bází nukleových kyselin a dalších sloučenin. Pro mikroorganismy jsou nejvhodnějším zdrojem dusíku amonné soli (nejčastěji používané ve formě fosfátů a síranů). Některé bakterie, kvasinky a většina plísní mohou přijímat dusičnany. Je-li aminokyselina jediným zdrojem dusíku, je deaminována a amoniak je využit k syntéze dusíkatých látek. Některé mikroorganismy mohou asimilovat i vzdušný dusík.

Fosfor je složkou nukleotidů nukleových kyselin, fosfolipidů, koenzymů a intermediátů metabolismu sacharidů. Organické sloučeniny fosforu jsou využívány k akumulaci energie (ADP a ATP). Mikroorganismy asimilují fosfor nejčastěji ve formě anorganických fosfátů.

Síra je součástí sirných aminokyselin, cystinu, cysteinu a metioninu a některých kofaktorů, například acetylkoenzymu A a dalších. Zdrojem síry jsou kromě výše zmíněných aminokyselin většinou sírany (např. síran amonný).

Vodík je složkou nízko- i vysokomolekulárních látek, ale i buněčné vody. Jeho zdrojem je nejčastěji H_2O , H_2 , H_2S a případně různé organické sloučeniny.

Kyslík je složkou organických látek a buněčné vody. V prostředí je nutný pro oxidační procesy. K nim mohou mikroorganismy využívat kyslík molekulový (vzdušný) nebo kyslík z některých anorganických sloučenin (dusičnany, sírany atd.).

Zbylé prvky z makroelementů nazývané **sekundární prvky** (K, Na, Mg, Ca, Cl) jsou většinou ionizované a potřebné pro fyzikální procesy v buňce (permeabilita, viskozita).

Mezi **mikroelementy** (stopové prvky) patří Fe, Cu, Mn, Co, I, Br, F, Si, Zn, Li, Ba, Al, Rb, Sr, As a V a dohromady tvoří asi 0,1 % hmotnosti buněk. Stopové prvky se pravidelně nevyskytují ve všech buňkách, mnohé jsou však potřebné jako kofaktory při enzymových reakcích – i přes nízké zastoupení jsou mnohé **nepostradatelné** pro určité druhy.

Složení mikroorganismů: Elementární analýzou čistých a koncentrovaných suchých virových preparátů se zjistily tyto průměrné hodnoty: 48 % uhlíku, 7 % vodíku, 15 % dusíku, od 0,2 do 2,2 % síry a 0,07 až 4,8 % fosforu. U buněčných mikroorganismů připadá v sušině nejvyšší procento na primární plastické prvky; uhlík je v bakteriích zastoupen průměrně 50 %,

v kvasinkách a houbách od 22 do 64 %; vodík je jen ve vázané formě, kyslík tvoří 20 až 44 %, dusík 1 až 10 % a fosfor 3 až 5 %. Kvantitativní výkyvy v prvkovém složení mikroobů jsou odrazem druhu mikroobů, jejich fyziologické aktivity, věku kultury i složení prostředí, ve kterém mikrobi žijí.

3.2 Látkové složení mikroorganismů

Budeme-li považovat celkovou hmotnost buňky mikroorganismů za 100 %, pak v průměru 70 až 85 % tvoří **voda**, 15 až 30 % **sušina**. Ve vodném prostředí uvnitř buňky se odehrává většina metabolických reakcí. Voda je v první řadě rozpouštědlem a transportním činitelem převážné většiny anorganických a organických sloučenin. Voda aktivuje biochemické reakce disociací sloučenin na kationty a anionty, je i dobrým vodičem tepla.

Z celkové hmotnosti sušiny připadá zhruba 13 % na **nízkomolekulární sloučeniny** – sacharidy, aminokyseliny, nukleotidy koenzymy a mastné kyseliny, což jsou většinou meziprodukty buněčného metabolismu. Tyto sloučeniny slouží buňce k syntéze **vysokomolekulárních látek**, které představují celkově 87 % z celkové hmotnosti sušiny. Hmotnostně převažují bílkoviny (46 až 53 %), které mají strukturní, metabolickou a informační funkci. Následují polysacharidy (16 %), které jsou zásobárnou energie a součástí buněčných struktur; povrchové polysacharidy se podílejí na antigenní struktuře bakterií. Nukleové kyseliny reprezentují zhruba 14 % z hmotnosti sušiny, z toho 12 % připadá na RNA a 2 % na DNA. Tuky (lipidy) tvoří 10 až 11 % hmotnosti sušiny.

Mezi nejdůležitější organické sloučeniny v buňce patří bílkoviny, nukleové kyseliny, sacharidy a lipidy.

Bílkoviny jsou složité přirozené vysokomolekulární sloučeniny, jejichž makromolekuly se skládají buď celé nebo jen z části z velkého počtu různých aminokyselin navzájem spojených peptidovou vazbou. Při tvorbě peptidové vazby se vylučuje molekula vody, takže jde vlastně o kondenzaci. Spojení dvou aminokyselin peptidovou vazbou se nazývá **dipeptid**, tři **tripeptid** atd. Peptidy obsahující méně než 10 aminokyselin se označují jako **oligopeptidy**, spojením většího počtu aminokyselin vzniká **polypeptidový** řetězec. Z výživového hlediska rozlišujeme aminokyseliny **esenciální** (nenahraditelné), které určitý druh organismu není schopný syntetizovat pomocí metabolických přeměn jiných látek a nahraditelné aminokyseliny, jež vznikají v organismu hlavně z meziproduktů metabolismu sacharidů a lipidů. Vlastnosti bílkovin určuje druh i pořadí aminokyselin – určuje její primární strukturu. Bílkoviny jsou základním stavebním kamenem buňky (tzv. strukturní bílkoviny) či mají

funkci enzymů katalyzujících průběh chemických reakcí (tzv. funkční bílkoviny), ale mají i další funkce.

Nukleové kyseliny tvoří relativně malé procento hmotnosti buňky – 14 %, z toho 12 % připadá na RNA a 2 % na DNA. Kódováním genetické informace a jejím naplňováním představují nukleové kyseliny nejdůležitější typ biopolymeru všech živých soustav. Monomerem nukleových kyselin jsou nukleotidy složené z organických dusíkatých bází, pentóz (sacharidů) a kyseliny fosforečné. Z organických dusíkatých zásad se v nukleotidech vyskytují purinové (adenin a guanin) a pyrimidinové báze (cytosin, thymin a uracil). Kyselina fosforečná se estericky váže na třetí nebo pátý atom uhlíku pentózy a určuje kyselý charakter molekuly. Pentózy nukleotidů jsou dvě – ribóza (v ribonukleotidech) anebo deoxyribóza (v deoxyribonukleotidech). Podle funkce, kterou RNA zastávají, rozlišujeme tři typy RNA. Do **mediátorové RNA (mRNA)** se přepisuje genetická informace zapsaná v DNA. Prostřednictvím mRNA se tato informace o sekvenci bází přenáší ve formě přepisu do ribosomů, kde se podle ní sestavují sekvence aminokyselin v polypeptidových řetězcích bílkovin. Molekulová hmotnost mRNA je 100 000 až 500 000. **Ribosomová RNA (rRNA)** je stavební složkou ribosomů a podmiňuje připojení mRNA k ribosomům, nukleotidový řetězec této RNA má v určitém úseku tvar dvojzávitnice, přičemž tvoří základ ribosomů, na povrchu kterých se nachází bazický bílkovinný obal. rRNA má největší molekulovou hmotnost – až kolem 1 miliónu. **Transferová RNA (tRNA)** je malá molekula, která se sestává asi z 80 nukleotidů s molekulovou hmotností kolem 26 000. Nachází se v základní cytoplasmě a má významnou úlohu při syntéze bílkovin, váže na sebe aminokyseliny a takto aktivované je přenáší na místo syntézy na ribosomech. Ukázalo se, že každou aminokyselinu přenáší její vlastní tRNA. tRNA mají relativně dlouhou životnost.

Sacharidy se účastní na buněčném metabolismu a jsou nejčastějším zdrojem energie a uhlíku ve výživě většiny heterotrofních organismů. Podílí se na stavbě některých buněčných struktur. Obsah sacharidů v mikrobních buňkách je velmi variabilní (biologická aktivita buňky, věk, živné prostředí a ekologičtí činitelé). Sacharidy dělíme na monosacharidy, oligosacharidy a polysacharidy. **Monosacharidy** jsou po chemické stránce oxidačními produkty vícemocných alkoholů. Podle počtu atomů uhlíku je dělíme na triózy, tetriózy, pentózy, hexózy aj. V metabolismu buněk jsou nejdůležitější triózy, pentózy a hexózy. **Oligosacharidy** se syntetizují ze dvou až 12 molekul monosacharidů pospojovaných glykosidovou vazbou. Nejdůležitějšími disacharidy jsou sacharóza, laktóza, celobióza, z trisacharidů rafinóza. **Polysacharidy** (glykany) jsou součástí buněčných stěn a mezibuněčných hmot, uvnitř buňky slouží jako energetická zásoba a vázané na bílkoviny

jsou součástí mnohých funkčně důležitých makromolekul (enzymů, membránových receptorů atd.). Monomerem polysacharidových molekul jsou monosacharidy. Jednotlivé druhy polysacharidů se odlišují jednak typem monomeru (monomerů), jednak typem glykosidové vazby. Polysacharidy můžeme rozdělit na stavební (konstrukční), kam patří např. celulóza, což je lineární polysacharid, jehož počet monomerů dosahuje až 10 000 a délka molekuly až několik μm . Obsahují ji buněčné stěny rostlin, některých hub a řas, zjištěna byla i ve slizovém obalu octových bakterií rodu *Acetobacter*. Dále se rozlišují polysacharidy zásobní (rezervní), které na rozdíl od stavebních polysacharidů mají α -glykosidové vazby umožňující vytvořit kompaktní molekuly. Nejdůležitějšími rezervními polysacharidy jsou škrob (ve vyšších rostlinách, v některých řasách a houbách) a glykogen (zejména v prvociích, houbách a některých zástupcích rodu *Bacillus*).

Lipidy jsou estery alkoholů a karboxylových (mastných) kyselin, mají hydrofobní charakter a jsou nerozpustné ve vodě. Fosfolipidy (fosfatidy) mají ve své molekule kyselinou fosforečnou. Glykolipidy obsahují lipidové a sacharidové složky spojené kovalentní vazbou. Společně s molekulami bílkovin jsou lipidy základními složkami biomembrán. Fosfolipidy buněčných membrán tvoří volně pospojované molekuly, které ulehčují propustnost a elasticitu membrán.

Pigmenty, které tvoří mikroorganismy, můžeme rozdělit na endopigmenty a exopigmenty. Pigmenty jsou důležitým taxonomickým znakem. Chemická struktura mikrobiálních pigmentů je rozmanitá, mohou být deriváty karotenu, pyrolu, naftochinonu aj. Důležitý je **bakteriochlorofyl**, což je zelený pyrolový pigment fototrofních bakterií (má stejnou funkci jako chlorofyl, ale není s ním identický); podle stavby molekuly rozlišujeme 5 typů bakteriochlorofylu – a, b, c, d, e. V hlízkách bakterií rodu *Rhizobium* najdeme **leghemoglobin**, který má pyrolovou povahu a obsahuje Fe. **Karotenoidy** (deriváty karotenu) jsou většinou žluté, oranžové až červené pigmenty, mnohé se nacházejí v buňkách fototrofních bakterií; běžně se vyskytují v bakteriích rodu *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium* a *Nocardia*, v kvasinkách rodů *Rhodotorula*, *Rhodospiridium* a *Cryptococcus*. Tvoří se na světle, jehož účinným akceptorem je flavin nebo flavoprotein schopný fotooxidace – důvod tvorby karotenoidů se vysvětluje jako ochrana proti škodlivému vlivu slunečního záření. **Antokyany** jsou červené a modré pigmenty s vlastnostmi přirozených indikátorů měnících se obvykle podle pH prostředí; producenty jsou druhy rodu *Streptomyces*. **Melaniny** jsou většinou hnědé až černé pigmenty komplexní povahy s vysokou molekulovou hmotností. Melaniny často tvoří plísně, některé aktinomycety, *Azotobacter*

chroococcum atd. Pigmenty mají v buňce funkce především katalytické nebo se účastní na mechanismu přeměny světelné energie na chemickou, příp. mají význam ochranný.

Vitamíny se zařazují mezi růstové faktory, tj. látky, které mají zpravidla funkci prekurzorů biosyntézy makromolekulárních sloučenin anebo koenzymů nezbytných pro růst a vývin buňky. Mikroorganismy, které neumějí syntetizovat jeden nebo více růstových faktorů, se nazývají **auxotrofní**. Na rozdíl od nich **prototrofní** mikroorganismy mohou syntetizovat nezbytné růstové faktory z jednodušších složek. Jsou to nejčastěji aminokyseliny, nukleové báze, vitamíny nebo koenzymy. Například *Escherichia coli* dobře roste na minerálním médiu s glukózou a je tedy prototrofem. Na tomto médiu neroste *Proteus vulgaris*, jestliže do média nepřidáme nepatrné množství amidu kyseliny nikotinové, který je pro tento druh růstovým faktorem. Na vitamíny, zejména skupiny B, jsou odkázány např. laktobakterie, propionové bakterie, stafylokoky, streptokoky, klostridie. Producenti vitamínů, převážně skupiny B, jsou různé sporulující bakterie, azotobakter, symbiotické hlízkové bakterie, různé aktinomycey a mikromycey. Významnými producenty vitamínů B jsou kvasinky, zejména pekařské *Saccharomyces cerevisiae*. Tyto kvasinky mohou obsahovat až 2,2 % volného thiaminu (vitamínu B₁), sušené až 30 % a hydrolyzované až 85 %. Kvasinky obsahují zpravidla 4 až 8 % riboflavinu (vitamínu B₂), 11 % niacinu (vitamínu B₃). Intestinální mikroflora zejména přežvýkavců produkuje významný vitamín B₁₂, průmyslově se získává pro farmaceutické účely z kultur aktinomycet *Streptomyces griseus*.

3.3 Charakteristika organismů podle typu výživy

Okolní prostředí musí být dostatečně zásobeno látkami využívanými mikroorganismy pro získání energie a syntézu látek pro stavbu svých těl. Důležitým prvkem a jeho formou, podle kterého rozdělujeme organismy na různé typy výživy, které dotyčný mikroorganismus využívá, je uhlík.

3.3.1 Klasifikace organismů podle zdroje uhlíku

Podle toho, z jakých zdrojů čerpají uhlík, rozdělujeme organismy na autotrofní, heterotrofní a mixotrofní.

Autotrofní mikroorganismy (zelené rostliny, některé řasy a bakterie) získávají uhlík z anorganické sloučeniny CO₂. V rámci této kategorie můžeme vyčlenit i přechodné typy. Obligátní autotrofové nejsou schopni nikdy využívat organické látky jako zdroje uhlíku

a fakultativní autotrofové mohou v případě přítomnosti organických látek zastavit příjem CO₂ a nahradit tento zdroj uhlíku organickými látkami (tab. 1).

Heterotrofní mikroorganismy (houby, většina bakterií, nezelené rostliny, živočichové) využívají jako zdroje uhlíku organické látky nacházející se v prostředí.

Mixotrofní mikroorganismy mohou využívat současně jak anorganické, tak i organické zdroje uhlíku.

3.3.2 Klasifikace organismů podle donorů elektronů

Pro **litotrofy** jsou zdrojem redukčních ekvivalentů (H⁺/e⁻) anorganické sloučeniny. Pro **organotrofy** jsou zdrojem redukčních ekvivalentů (H⁺/e⁻) organické sloučeniny.

3.3.3 Klasifikace organismů podle způsobu získávání energie

Podle zdroje energie můžeme mikroorganismy rozdělit na fototrofní a chemotrofní.

Fototrofní mikroorganismy využívají světelnou sluneční energii a přeměňují ji na energii chemickou. Tyto mikroorganismy mohou využívat jako zdroje uhlíku buď CO₂ nebo organické látky. Potom dle zdroje uhlíku a energie rozeznáváme fotoautotrofní a fotoheterotrofní mikroorganismy.

Fotoautotrofní mikroorganismy využívají jako zdroj energie světlo a jako zdroj uhlíku CO₂. ATP se tvoří v procesu fotosyntézy, necyklickou fotofosforylací. Vodík pro redukcí CO₂ poskytují anorganické sloučeniny. Vodu jako zdroj vodíku využívají sinice, řasy a rostliny, které uskutečňují oxidativní fotosyntézu, při níž se vytváří plynný kyslík fotolýzou vody. Tato fotosyntéza se označuje též jako fotosyntéza sinicového nebo rostlinného typu. Sirovodík, thiosíran či jiné redukované formy síry nebo H₂ využívají jako zdroj vodíku sírné fototrofní bakterie obsahující bakteriochlorofyl. Jsou to bakterie anaerobní, většinou obligátně fotoautotrofní. Tvorba ATP probíhá cyklickou fotofosforylací. Tato fotosyntéza se označuje jako anoxidativní fotosyntéza, protože se při ní netvoří kyslík. Takto fotosyntetizují zelené sírné bakterie (např. rod *Chlorobium*) obsahující pouze některý z bakteriochlorofylu a purpurové sírné bakterie (čeleď *Chromatiaceae*), které navíc obsahují ještě karotenoidní barviva, také archebakterie. U purpurových sírných bakterií může jako zdroj uhlíku sloužit acetát nebo jiné jednoduché organické látky, autotrofie tak není zcela striktní. Elementární síra, vzniklá redukcí sulfanu, se může přechodně akumulovat v buňkách bakterií, jako je tomu např. u rodu *Chromatium*.

Fotoheterotrofní mikroorganismy jako zdroj uhlíku využívají organické sloučeniny a zdrojem energie je světlo. ATP se může vytvořit cyklickou fotofosforylací. Patří sem

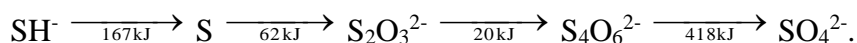
nesírné purpurové bakterie (čeleď *Rhodospirillaceae*), které obsahují bakteriochlorofyl i karotenoidní barviva. Většinou jsou schopné využívat i plynný vodík. Za světla uplatňují anaerobní metabolismus (kyslík zde inhibuje fotosyntézu), ve tmě však oxidují organické sloučeniny aerobně (tehdy jsou chemoheterotrofní). Sírné i nesírné bakterie dokáží fixovat vzdušný dusík. Vyskytují se v sírných pramenech, organicky znečištěné a zahnívající vodě, mořích. Absorbují díky odlišnému chlorofylu světlo o vlnových délkách, které nevyužívají řasy. Karotenoidní barviva absorbují světlo o vlnové délce 450 až 550 nm.

Tabulka 1: Charakteristika metabolismu mikroorganismů dle různých zdrojů

Metabolický typ organismu	Zdroj energie	Zdroj uhlíku	Zdroj elektronů (H ⁺ /e ⁻)	Organismy
Fotolitotrofní autotrofové	Světlo	CO ₂	anorg. látky	cyanobakterie, purpurové b.
Fotoorganotrofní heterotrofové	Světlo	org. látky	org. látky	purpurové nesírné b., zelené nesírné b.
Chemolitotrofní autotrofové	anorg. látky	CO ₂	anorg. látky	nitrifikační b., S-oxidující b., železitě b., vodíkové b.
Chemoorganotrofní heterotrofové	org. látky	org. látky	org. látky	houby, mléčné b., amonifikační b., celulolytické b.

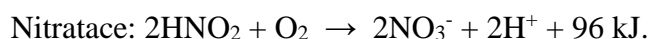
Chemotrofní mikroorganismy získávají energii oxidací chemických látek, a to jak organických, tak anorganických.

Chemoautotrofní mikroorganismy získávají energii oxidací různých redukovaných anorganických sloučenin (amoniak, dusitany, síra a její redukované formy, dvojmocné železo) a zdrojem uhlíku je CO₂. Do této kategorie patří několik skupin aerobních bakterií, a to bezbarvé sírné bakterie a vláknité sírné bakterie, které získávají energii oxidací síry a jejích sloučenin, především sirovodíku až na sírany. Elementární síru mohou ukládat v buňce ve formě zrníček. Příslušníci rodu *Thiobacillus* produkují H₂SO₄ a mohou silně okyselovat prostředí:



Způsobují koroze kovových konstrukcí a potrubí uložených v zemi, či narušení betonových konstrukcí ponořených ve vodě.

Nitrifikační bakterie získávají energii oxidací sloučenin dusíku. Oxidací amoniaku na dusitany získávají energii např. bakterie rodu *Nitrosomonas* a *Nitrosococcus*, oxidací dusitanů na dusičnany bakterie rodu *Nitrobacter* a *Nitrococcus*. Tyto procesy označované jako nitritace a nitratace jsou významné v koloběhu dusíku v ekosystému.



Železité bakterie získávají energii oxidací železnatých iontů na železité. Mezi vláknité železité bakterie patří např. zástupci rodu *Gallionella*, jejichž buňky jsou obalené pochvou inkrustovanou hydratovaným oxidem železitým. Tyto bakterie se pak mohou podílet na zanášení vodovodního potrubí v oblastech s vodou obsahující větší množství železitých iontů. Kulovité nebo tyčinkovité železité bakterie (např. rod *Siderocapsa*) mohou ve svých slizových obalech nebo mimo buňku hromadit nerozpustné železité sloučeniny, ale i mangan. Mají význam geologický, neboť se svou činností podílejí na vzniku ložisek železitých rud.

Bakterie využívající pouze metan a metanol patří k rodům *Methilomonas* a *Methilococcus*, nejsou schopny využívat další organické sloučeniny a pro syntézu buněčné hmoty využívají CO_2 . Některé ale mohou energii získat i oxidací sacharidů či jiných organických sloučenin a jsou to tedy mixotrofní mikroorganismy.

Chemoheterotrofní mikroorganismy získávají energii oxidací redukovaných organických látek (sacharidy, alkoholy, organické kyseliny, aminokyseliny atd.), jichž využívají také jako zdroje uhlíku, vodíku a většinou i kyslíku k syntéze buněčné hmoty. Chemickou energii získávají z oxidačních procesů organických látek a to buď oxidační fosforylací, nebo fosforylací na substrátové úrovni. Je to způsob výživy prvoků, mikroskopických hub a většiny bakterií (i patogenních). Tyto mikroorganismy mají velký význam v koloběhu látek v přírodě při produkci organických kyselin a dalších významných látek. Podílí se ale také na kažení potravin, krmiv a surovin pro jejich výrobu. Za aerobních podmínek jsou organické sloučeniny oxidovány s maximálním ziskem energie až na oxid uhličitý a vodu (**aerobní oxidace**). Proces označujeme též jako **respiraci** neboli **dýchání**:



Dusík obsažený v organických sloučeninách je přeměňován většinou na amoniak. Při nadbytku organického substrátu a absenci některých enzymů vedoucích k plnému rozkladu tohoto substrátu může být substrát jen částečně oxidován za vzniku technologicky významného produktu. Tento proces pak označujeme jako **neúplná oxidace** nebo také

nepravé kvašení. Tento proces je využíván při výrobě kyseliny octové, citronové, fumarové a jiné.

Anaerobní oxidace může probíhat různými způsoby; nejčastěji jde o proces označovaný jako **fermentace** neboli **pravé kvašení**, kdy je substrát za anaerobních podmínek oxidován na CO₂ a zbývající část se redukuje na produkt, jenž je uvolňován do prostředí. Nejznámější a prakticky významné procesy jsou etanolové, mléčné, máselné a propionové kvašení.



Anaerobní oxidace může ale probíhat i s využitím kyslíku dusičnanů (např. u příslušníků rodu *Bacillus* atd.) nebo síranů (u rodu *Desulfovibrio*). Ze síranů při tomto procesu vzniká sirovodík, který při reakci s železitými či jinými kationty tvoří černé sulfidy. To může být například příčinou černání obsahu konzerv. Při tzv. dusitanovém kvašení dochází při oxidaci dusičnanů ke vzniku toxických dusitanů nebo nižších oxidů dusíku.

3.3.4 Klasifikace organismů podle nároků na vzdušný kyslík

Podle nároků na vzdušný kyslík (podle konečných akceptorů elektronů) můžeme mikroorganismy rozdělit do několika skupin.

Aerobní mikroorganismy oxidují organické látky vzdušným kyslíkem až na oxid uhličitý a vodu. Tento způsob je energeticky nejvýhodnější a obvyklý u všech vyšších organismů.

Anaerobní mikroorganismy zpracovávají organické látky kvašením, přičemž vznikají různé organické látky, které jsou zpravidla dále zpracovatelné aerobním metabolismem. Na anaerobní metabolismus je odkázána řada organismů, které žijí v prostředí bez kyslíku, především mnoho druhů bakterií, z živočichů např. střevní paraziti. Energeticky je anaerobní metabolismus řádově méně účinný z hlediska zisku energie než metabolismus aerobní.

Fakultativně anaerobní mikroorganismy mohou růst v přítomnosti i v nepřítomnosti vzdušného kyslíku. Přítomnost kyslíku indukuje změnu metabolismu z fermentativního na respirativní.

3.4 Příjem živin a exkrece látek mikrobiální buňkou

Aby mohly mikroorganismy uskutečňovat svoje životní procesy, je nutná neustále probíhající výměna mezi cytoplasmou a vnějším prostředím spočívající v příjmu živin a vylučování metabolitů. Mikroorganismy dokáží přijímat různé látky celým povrchem buňky. Příjem živin reguluje cytoplasmatická membrána, která tvoří osmotické rozhraní mezi

buňkou a vnějším prostředím. Složité a velké molekuly však nemohou touto membránou projít a musí být nejprve enzymaticky rozloženy na jednodušší sloučeniny. Významnou roli zde sehrávají enzymy permeázy. Eukaryotické mikroorganismy pro přenos těchto látek mohou využívat pinocytózy, kdy se na cytoplasmatické membráně vytvoří okolo potřebné externí látky vychlípeniny (měchýřky), ze kterých se potom tyto látky vyprázdní do nitra buňky. Přenos většiny látek se však nejčastěji děje prostřednictvím pasivní difúze, usnadněné difúze nebo aktivním transportem.

Pasivní difúze probíhá přes cytoplasmatickou membránu, jejími bílkovinnými póry (kanálky) ve směru gradientu tak dlouho, až se koncentrace na obou stranách membrány vyrovnají. Volně mohou difundovat pouze nízkomolekulární hydrofilní sloučeniny bez elektrického náboje (nedisociované molekuly vody, slabé kyseliny a zásady, kyslík, etanol, lineární monosacharidy a jiné). Lipidovou částí cytoplasmatické membrány prochází sloučeniny rozpouštějící lipidy, jako například aceton nebo dietyleter. Vyšší koncentrace mohou způsobit odumření buňky, protože poškozují cytoplasmatickou membránu.

Usnadněná difúze probíhá ve směru gradientu bez potřeby metabolické energie. Je však potřebný specifický bílkovinný přenašeč. Tímto způsobem přijímají např. kvasinky pentózy a hexózy a vylučují etanol.

Aktivní transport probíhá proti gradientu koncentrace. Jsou takto transportovány anorganické ionty a organické sloučeniny, jako jsou oligosacharidy, aminokyseliny, vitamíny, puriny a pyrimidiny, u některých mikroorganismů i některé kyseliny (např. kyselina citronová). Tento transport vyžaduje metabolickou energii a přítomnost specifických bílkovin zprostředkujících transport anorganických iontů (přenašeče) nebo organických sloučenin (permeázy). Přenášená látka se do buňky dostává bez chemické modifikace. Aktivní transport může probíhat, jako **primární aktivní transport** využívají energii redox-systému a makroergických sloučenin (např. ATP). Takto se přenáší například galaktóza u *Escherichia coli*, laktóza a maltóza u *Staphylococcus aureus*, ionty draslíku, vápníku, sodíku a hořčíku u bakterií a eukaryot. **Sekundární aktivní transport** využívá energizovaného stavu cytoplasmatické membrány ve spojení např. s transportem další látky. Využívá energie uvolněné přímo katabolickým procesem. Je to nejekonomičtější mechanismus transportu. Takto jsou přenášeny oligosacharidy, aminokyseliny, purinové a pyrimidinové báze.

Specifickým příkladem aktivního transportu je **transport spojený s přeměnou sloučeniny**. Takto se přenáší monosacharidy, disacharidy a alkoholické cukry u řady fakultativně anaerobních a anaerobních bakterií. Proces je spojen s fosforylací uvedených

cukrů. Systém bílkovin a enzymů, uskutečňující tento transport se nazývá fosfotransferový systém (PTS).

Výsledkem aktivního metabolismu mikrobiální buňky je velké množství produktů a meziproduktů, které vylučuje buňka do vnějšího prostředí. Většina těchto látek z buňky odchází volnou difuzí (např. CO₂, etanol, vyšší alkoholy). Důležité je vylučování extracelulárních hydrolytických enzymů (amyláz, proteináz, celuláz atd.) mikrobiální buňkou do vnějšího prostředí. Hydrolytické enzymy se jako jednotlivé polypeptidové podjednotky syntetizují v ribozomech a procházejí přes cytoplasmatickou membránu. K jejich sestavení v příslušný enzym dochází v periplasmatickém prostoru nebo po průchodu póry buněčné stěny. U kvasinek a plísní se do prostředí vylučují pravděpodobně vyprázdněním sekrečních nádobek (např. měchýřků Golgiho aparátu) do periplasmatického prostoru.

4 METABOLISMUS MIKROORGANISMŮ

4.1 Všeobecná charakteristika metabolismu

Hmotu, energii a informaci živý systém přijímá, transformuje a nevyužitelné odpadní látky přeměny odvádí do prostředí. Příjem, transformace a vylučování se uskutečňuje pomocí rozsáhlé soustavy časově a prostorově zkoordinovaných fyzikálních a chemických procesů, které souborně nazýváme **metabolismus** nebo látková přeměna. Metabolická dráha je soubor probíhajících biochemických reakcí seřazených do řetězců a katalyzované enzymy, kdy produkt předcházející reakce je substrátem pro následující reakci. Živiny, substráty, meziprodukty a konečné produkty označujeme společně jako **metabolity**.

Veškeré procesy zpracování hmoty, energie a informace probíhá podle programu převzatého od předků uloženého v genomu organismu. Veškerá tato činnost živých systému vedoucí k autoreprodukci buňky je tedy realizace genetického programu. Z hlediska plnění životních funkcí organismu včetně rozmnožování má metabolismus dvě základní funkce: **replikace genetické informace** (zdvojení genomu a přenos na potomstvo), **realizace genetické informace** (přeměna kódu na činnost – růst, vývoj, rozmnožení).

Ze živin jsou syntetizovány složité biomolekuly (asimilace) včetně makromolekul (biopolymerů) a buněčných struktur při endergonických reakcích. Vznik složité a vysoko organizované živé hmoty z jednoduchých živin provází spotřeba energie, nastává kladná změna volné energie (+ ΔG). Tento biosyntetický proces zvaný **anabolismus** by nemohl spontánně probíhat bez procesů exergonických, tedy rozkladných disimilačních procesů, které

energii poskytují nazvaných **katabolismus**. Katabolické procesy jsou charakteristické zápornou změnou volné energie ($-\Delta G$). Spontánně samy od sebe probíhají jen procesy charakterizované zápornou změnou volné energie. Katabolismus a anabolismus jsou procesy velmi úzce spjaté, neoddělitelné a probíhající současně. Spojené jsou společnými intermediáty, společnými enzymy metabolických drah, mechanismy regulace metabolismu. Spráhnout tyto dva typy reakcí tak, že produkt jedné reakce je současně substrátem druhé reakce, není vždy možné. Uplatňuje se tu však zprostředkovatel – látka, která vzniká v exergonické reakci a propojuje oba typy metabolismu. Váže na sebe volnou energii katabolické reakce a vstupuje do endergonické anabolické reakce, kde tuto akumulovanou energii při své hydrolyze odevzdává. Takovýmto univerzálním přenašečem volné energie je **adenozintrifosfát (ATP)**.

4.2 Odlišnosti metabolismu mikroorganismů a vyšších organismů

Metabolismus mikroorganismů je obvykle výrazně **rychlejší** než srovnatelný metabolismus vyšších organismů. Důvodů proto je několik: (i) mikroorganismy přijímají živiny **celým povrchem** těla, jejich měrný povrch (povrch vztažený na jednotku hmotnosti) je přitom značný; (ii) **malý mikroorganismus** nepotřebuje zdaleka tolik transportovat látky v rámci metabolismu jako vyšší organismy; (iv) mnohé mikroorganismy mají i **extracelulární metabolismus**, do prostředí vylučují tzv. **extracelulární enzymy**, které rozkládají okolní makromolekulární substráty; mikroorganismus už pak jen přijímá rozložené živiny.

4.3 Enzymy

Enzymy jsou katalyzátory metabolických procesů (chemických reakcí) v biologických systémech, jsou to **biokatalyzátory**. Biokatalyzátory mají již v nepatrném množství velké účinky, snižují aktivační energii na start reakce a urychlují vytvoření rovnováhy. Po chemické stránce jsou enzymy bílkoviny. V buňkách se vyskytují v koloidním stavu nebo jsou vázané na buněčné struktury, jako jsou lysosomy, ribosomy, mitochondrie atd. Každému stupni transformačních procesů odpovídá zpravidla jeden enzym. Obrovské možnosti změn v prostorovém uspořádání molekul a změn struktur jejich povrchů umožňují vysokou specifickou enzymů, která může být v podstatě dvojího druhu: (i) **substrátová specifita** – označuje schopnost určitého enzymu katalyzovat přeměnu jen určitého substrátu, (ii) **specifita účinku** – každý enzym katalyzuje jen jednu z termodynamicky možných přeměn substrátu.

Mechanismus působení se vysvětluje na základě tvorby aktivního **komplexu enzymu se substrátem**, který přechází přes přechodný stupeň na **komplex enzym – produkt**. Tento komplex se potom samovolně rozpadá na **produkt**, enzym se regeneruje a může vstoupit do nové reakce.

Adsorpci molekul substrátu, jejich vázání a přeměna na produkt nastává jen na určité části povrchové plochy enzymové molekuly, na **aktivním (katalytickém) centru**. Molekuly substrátu jsou ve většině případů podstatně menší než enzym, takže přicházejí do kontaktu jen s malou částí enzymového povrchu. Na aktivní centrum se často váže ještě **koenzym** (nebílkovinná složka – kov nebo organická molekula), který se také podílí na přeměně substrátu. Koenzym může být s bílkovinou enzymu (**apoenzymem**) vázaný pevně, kovalentně (čímž představuje pro protein **prostetickou skupinu**) nebo disociačně a po reakci se odděluje od enzymu. Enzymy a koenzymy se musí během reakce regenerovat, aby mohly vstoupit do nových reakcí.

Aktivita nebo **katalytická síla enzymů** je schopnost enzymu urychlit určitou reakci, tj. přeměnit substrát na produkt v závislosti na čase.

Podle základní klasifikace se enzymy rozdělují podle jejich účinku do 6 hlavních tříd:

1. **Oxidoreduktázy** katalyzují oxidoredukční procesy (přenos elektronů). Třída oxidoreduktáz se podle donorů a akceptorů vodíku dále dělí na skupiny a podskupiny (dehydrogenázy, oxygenázy atd.).

2. **Transferázy** katalyzují přenos skupin atomů: C₁-skupiny (např. metylové, karboxylové skupiny), aldehydové nebo keto-skupiny, acylové zbytky, glykosylové zbytky, alkylové nebo arylové zbytky, skupiny obsahující N, P, S.

3. **Hydrolázy** katalyzují hydrolytické štěpení různých vazeb: esterů, glykosidů, éterů, peptidů, C-N vazeb (kromě peptidů), C-C, P-N, S-N, C-P vazby (např. proteázy, glikosydázy).

4. **Lyázy** katalyzují nehydrolytické štěpení různých vazeb: C-C, C-O, C-N, C-S, P-O (např. dekarboxylázy).

5. **Izomerázy** katalyzují izomeraci (intramolekulové přeměny substrátu): racemázy, intramolekulové transferázy, oxidoreduktázy a lyázy, cis-trans-izomerázy.

6. **Ligázy** (syntetázy) katalyzují spojení dvou substrátů za současné spotřeby energie ATP nebo jiného analogu; ligázy tvoří vazby: C-O, C-S, C-N, C-C (např. polynukleotidsyntetáza).

Podle místa působení se rozdělují enzymy na enzymy **intracelulární**, které zajišťují vnitrobuněčný metabolismus a **extracelulární**, které buňka vylučuje do okolního prostředí; jde zejména o enzymy katalyzující hydrolýzu živin.

Metabolismus mikroorganismů je velice plastický, což je způsobeno právě bohatým enzymovým vybavením buňky, které je silně ovlivněno složením vnějšího prostředí. Mikrobiální enzymy můžeme dále rozdělit do čtyř skupin:

- (i) **Konstitutivní** enzymy jsou přítomny v buňce za jakýchkoliv vnějších podmínek. Příkladem mohou být enzymy umožňující využívání většiny hexóz.
- (ii) **Indukovatelné** enzymy jsou syntetizovány jen tehdy, je-li v živném prostředí přítomen induktor, tj. sloučenina, jejíž přeměnu tyto enzymy katalyzují.
- (iii) **Reprimovatelné** enzymy jsou syntetizovány jen tehdy, není-li ve vnějším prostředí přítomna sloučenina produkovaná metabolickým řetězcem, jehož součástí jsou tyto enzymy. Jestliže je sloučenina následně do prostředí dodána, dojde k zastavení (represi) syntézy těchto enzymů a buňka bude přijímat hotovou sloučeninu z prostředí.
- (iv) **Indukovatelné** enzymy, které podléhají ještě **represi**, jsou indukovatelné katabolické enzymy, jejichž indukce je reprimována přítomností snáze využitelného zdroje energie. Příkladem může být glukózová nebo hexózová represe, kdy je indukce enzymu štěpícího oligosacharid (např. maltózu, celobiózu, rafinózu) nebo polysacharid celulózu potlačena přítomností snadno využitelné hexózy štěpené konstitutivními enzymy. Represí indukovaných enzymů lze vysvětlit postupné využívání substrátu od nejsnáze využitelného k těm, pro jejichž využití je třeba komplikovanějších enzymových systémů. Tento jev se nazývá **diauxie**. Hexózové represí podléhá také indukce dýchacích enzymů u většiny fakultativně anaerobních mikroorganismů. Pro buňku je jednodušší využít cukr přítomný v dostatečně vysoké koncentraci anaerobním procesem, i za cenu nižšího energetického zisku. Teprve při poklesu koncentrace pod určitou hladinu, začne syntéza indukovatelných enzymů a přenašečů elektronů, nutných pro aerobní využití cukru a tím i jeho efektivnějšího energetického využití. Takovému potlačení dýchání přítomností hexózy se u kvasinek říká **Crabtreeho efekt**.

Mikroorganismy jsou tedy schopny přizpůsobit svůj enzymatický aparát vnějším podmínkám. Reakce na změnu prostředí je u mikroorganismů velmi rychlá. U kvasinek trvá syntéza indukovatelného enzymu do dosažení jeho optimální koncentrace 20 až 30 minut. Stejně dlouho trvá i rozložení nepotřebného enzymu po vyčerpání substrátu. Složení

kultivačního prostředí může vést ke změně aktivity enzymů. U kvasinek se snížení spotřeby sacharidů při přechodu z anaerobního na aerobní metabolismus nazývá **Pasteurův efekt**. Aktivita enzymů ovlivněná produkty metabolismu neboli **inhibice zpětnou vazbou** (*feedback inhibition*) je citlivějším regulačním mechanismem než regulace syntézy enzymů, protože účinek této inhibice se uplatňuje okamžitě.

Aktivitu enzymů ovlivňují různé činitele prostředí, ve kterém se uskutečňují enzymové reakce. Jsou to především fyzikálně-chemické vlastnosti prostředí (např. koncentrace substrátu nebo metabolitů, teplota, pH prostředí atd.) a přítomnost specifických látek s funkcí aktivátorů nebo inhibitorů enzymů. **Aktivátory enzymů** jsou látky, které zvyšují katalytický účinek enzymů buď svojí přítomností ve struktuře aktivního centra (většinou ionty kovů) nebo stabilizací aktivní konformace enzymů, příp. uvolňováním aktivního centra proenzymy.

Inhibitory jsou látky, které snižují nebo ruší aktivitu enzymů a to různě:

- (i) Inhibitor má stejnou strukturu jako substrát, se kterým soupeří o aktivní centrum enzymu (**kompetitivní inhibice**). Vliv inhibitora závisí na poměru koncentrace inhibitor–substrát a jejich afinitě k enzymu. Přebytek substrátu inhibici ruší.
- (ii) Inhibitor blokuje části enzymů, které jsou potřebné na katalýzu reakce. Zvýšením koncentrace substrátu se inhibice nedá odstranit (**nekompetitivní inhibice**).
- (iii) Inhibitor stabilizuje méně aktivní konformaci enzymů tím, že se naváže na přesně definované místo na povrchu enzymu, které není totožné s aktivním centrem. Enzym potom už není schopen vázat substrát (**alosterická inhibice** – alosterický efekt).

Inhibitory enzymů mají velký praktický význam. Antibiotika a chemoterapeutika používané v medicíně v mnohých případech inhibují životně důležité enzymy patogenních mikroorganismů; podobně i některé pesticidy v zemědělství.

4.4 Biologická tvorba a přenos energie

Adenosin trifosfát (ATP) je univerzální přenašeč chemické energie mezi reakcemi dodávajícími energii a reakcemi, které energii spotřebovávají, tedy mezi reakcemi katabolismu a anabolismu. Energie přijímaných živin včetně energie redukovaných anorganických sloučenin a také světelná energie se mohou převést na ATP a v této formě dodávat biosyntézám. Z toho vyplývá, že ATP podmiňuje energetické sepětí mezi katabolismem a syntetickými procesy v buňce. ATP se nachází ve všech buňkách. Jeho molekula se skládá z adeninu, D-ribózy a třech molekul fosfátu. Molekula ATP je energeticky bohatá (makroergická), protože její trifosfátová jednotka obsahuje dvě hydrolyzovatelné

fosfoanhydridové vazby. Volná energie hydrolýzy anhydridové vazby ATP přechází formou přenášení fosfátu do endergonické reakce. ATP je tedy univerzálním akceptorem fosfátu v katabolických reakcích a jeho univerzálním donorem v anabolických reakcích. V některých biosyntetických reakcích se využívají i analogy ATP a to: **GTP (guanozintrifosfát)** při syntéze bílkovin, **UTP (uridintrifosfát)** při syntéze polysacharidů buněčné stěny a **CTP (cytidintrifosfát)** při aktivaci molekul při syntéze lipidů. Hydrolýza fosfoanhydridové vazby neprobíhá jen u ATP a jeho analogů, ale i u ostatních fosforylovaných látek. ATP a jiné fosforylované sloučeniny s velkou zápornou změnou volné energie hydrolýzy se nazývají **energeticky bohaté molekuly**; mluvíme také o **energeticky bohatých vazbách – makroergických vazbách** (symbol ~). Nejde však o energii, které provází vznik nebo zánik vazby mezi dvěma atomy, ale o energii, která představuje rozdíl mezi volnou energií látek reagujících v reakci hydrolýzy fosforylované sloučeniny a volnou energií produktů.

Adenzintrifosfát vstupuje do biosyntéz v různých stádiích buněčného dění a to při aktivním transportu živin do buňky, při transformaci těchto živin na nízkomolekulární intermediáty a při polymerizaci intermediátů na biopolymery. Kromě této fyzikální a chemické práce buňky vyžadují přísun energie i pro mechanickou práci, například pohyb bakterií.

ATP se v živé buňce neustále hydrolyzuje, proto se musí neustále i regenerovat. Známe tři základní způsoby tvorby ATP a to fosforylaci na substrátové úrovni, oxidativní fosforylaci a fotofosforylaci. Mikroorganismy mají dvě místa, na kterých nastává syntéza ATP: (i) cytoplasma a cytoplasmatická membrána u prokaryot, (ii) cytoplasma a vnitřní membrána mitochondrií u eukaryot.

Vznik ATP **fosforylací na substrátové úrovni** probíhá v cytoplasmě. Makroergická fosfátová vazba se tvoří přímo na molekule substrátu při jeho oxidaci (dehydrogenaci).

Vznik ATP **oxidativní fosforylací** se uskutečňuje na cytoplasmatické membráně a membráně mitochondrií. Na těchto membránách se nacházejí redoxní systémy, enzymy a koenzymy uskutečňující postupnou oxidaci vodíku kyslíkem až na H₂O. Oxidaci vodíku provází velká negativní změna volné energie, která se akumuluje v ATP.

Uvolňování energie v buňce nastává biologickou oxidací substrátů. Biologická oxidace začíná obvykle dehydrogenací substrátu, odtržením dvou atomů vodíku a jejich přenosem na molekuly pyridinových nukleotidů **NAD⁺** a **NADP⁺**. Tyto molekuly se stávají prvními akceptory vodíku, přičemž se současně redukují na **NADH + H⁺** nebo **NADPH + H⁺**. Jsou schopné odevzdávat vodík dalším sloučeninám, čímž plní zase funkci donorů vodíku. Nikotinamidadeninukleotid je koenzymem mnohých dehydrogenáz přítomných

v cytoplasmě, univerzálním přenašečem vodíku a elektronů a zprostředkovatelem buněčných oxidoredukci. Redukovaný NADH_2 odevzdává vodík a elektrony redoxním systémem na membránách, kde se vodík postupně oxiduje kyslíkem. Biologická oxidace vodíku tedy není jen jedinou jednoduchou reakcí, ale stupňovitě probíhající řetěz reakcí, pomocí kterých se vodík přenáší až na kyslík. Soustavu reakcí biologické oxidace vodíku nazýváme **dýchací řetězec** a vnik ATP spojený s oxidací **oxidativní fosforylace**.

Přeměnu světelné energie na chemickou uskutečňují organismy v procesu **fotosyntézy**. Chemická energie se akumuluje přitom ve dvou makroergických sloučeninách a to v **NADPH_2 (syntéza redukčních ekvivalentů)** a v **ATP (fotofosforylace)**.

Při fotosyntetické přeměně energie soustava molekul pigmentů přijme světelné kvantum – **foton**, dostane se do vybuzeného (excitovaného) stavu a může odevzdat elektron bohatý na energii. Tento elektron se využije pomocí redoxních systémů na redukci NADP^+ , čímž vznikne redukční ekvivalent. Na regeneraci pigmentu je potřeba opět elektron, který se může odebrat různým donorům. Některé bakterie využívají v **oxygenní fotosyntéze** jako donor elektronů vodu, uvolňuje se při tom kyslík. V jiných případech je donorem elektronů jiná molekula, kde kyslík nevzniká (**anoxygenní fotosyntéza**). Donorem elektronů u rostlin je voda ($2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{H}^+ + \text{e}^-$), u mikroorganismů to může být sirovodík ($\text{H}_2\text{S} \rightarrow \text{S} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$), molekulární vodík ($\text{H}_2 \rightarrow 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$) nebo jednoduché organické substráty (např. etanol \rightarrow acetaldehyd + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$). Při transportu vodíku a elektronů redoxními systémy se může energie obsažená v elektronech využít na tvorbu ATP z ADP.

4.5 Rozklad látek mikroorganismy

Mikroorganismy přijímají živiny z vnějšího prostředí ve formě organických a anorganických sloučenin. Oxidací organických sloučenin a redukovaných anorganických sloučenin v katabolických procesech získávají energii, redukční ekvivalenty (NADH_2 , NADPH_2) a rozličné intermediáty utilizované v biosyntetických procesech. Jako oxidaci označujeme reakci, při níž dochází k odejmutí elektronu z atomů nebo molekuly. Nejjednodušší případ oxidace je např. oxidace železa dvojmocného na trojmocné. Živá hmota vyvinula subtilnější a mnohem výhodnější formy oxidace. Při oxidaci organických látek, která pro biologické systémy má hlavní význam, dochází často nikoli k odejmutí volného elektronu, nýbrž k odejmutí vodíkového atomu. Při tom je obvyklé, že vodík bývá odnímán ve dvojicích. Tomuto procesu říkáme **dehydrogenace**. Ani elektrony, ani vodíkové atomy se nemohou hromadit jako takové. Proto každá oxidace je provázena redukcí. Oxidace kyseliny nemůže

proběhnout, pokud není přítomna látka, která by převzala atomy vodíku. Taková látka se nazývá akceptor vodíku. Jedna látka je tedy tzv. **akceptorem vodíku** a druhá tzv. **donorem vodíku**.

Polymery organických sloučenin se nejprve rozkládají na monomery, např. bílkoviny na aminokyseliny, polysacharidy na jednoduché sacharidy, tuky na glycerol a mastné kyseliny. Zisk využitelné energie je v této etapě prakticky nulový. V další etapě se monomery rozkládají na úplně jednoduché jednotky, např. na acetyl, které se váže s koenzymem A na **acetyl-CoA**, který je centrální substancí, která vzniká při rozkladu živin v buňce. Tvoří se při katabolismu sacharidů (oxidační dekarboxylací pyruvátu), lipidů (β -oxidací mastných kyselin), ale i při rozkladu některých aminokyselin po jejich deaminaci. Jeho oxidací (dehydrogenací) vodík přechází dýchacím řetězcem až na kyslík a vzniká voda. Současně se uvolňuje velké množství energie ukládané v ATP. Uhlík živin vystupuje z katabolických drah ve formě CO_2 . Redukovaný NADH_2 kromě přenášení vodíku do dýchacího řetězce buňka využívá i na redukci při biosyntetických procesech za současné spotřeby ATP.

4.5.1 Katabolismus chemoheterotrofních mikroorganismů

Většina mikroorganismů patří mezi chemoheterotrofy, kteří získávají energii oxidací organických sloučenin. Tato oxidace může probíhat za aerobních nebo za anaerobních podmínek.

4.5.1.1 Rozklad monosacharidů

Se sacharidy se setkáváme v tělech všech mikroorganismů kromě virů. Monosacharidy mikrobiální buňky velmi dobře využívají jako zdroj uhlíku a energie. Nejvýznamnějším monosacharidem v intermediální přeměně látek všech organismů je **glukóza**. Z hlediska získávání energie v buňce má dokonce určitý monopol mezi sacharidy, protože prakticky všechny procesy poskytující energii (v rámci přeměn sacharidů) vycházejí z glukózy nebo glukóza-6-fosfátu. Všechny ostatní monosacharidy jsou před energetickým metabolismem přeměňovány na glukózu. Rozklad glukózy se zakládá na postupném štěpení uhlíkové kostry a na oxidaci meziproductů buď na oxid uhličitý a vodu (**dýchání**) nebo se zastavuje na úrovni energeticky stále bohatého meziproductu (**kvašení**).

Začáteční úsek přeměny glukózy až po vytvoření pyruvátu (kyseliny pyrohroznvé) je společný pro všechny organismy a nazýváme ho **glykolýza** nebo podle objevitelů Embden-Mayerhofova dráha nebo **Embden-Mayerhof-Parnasova dráha (EMP dráha)**. U **mikroorganismů se vyskytují ještě dvě** metabolické dráhy a to **Entner-Doudoroffova**

dráha končící taktéž pyruvát a **pentózo-fosfátový cyklus** (jinak zvaný Horeckerova dráha, pentózový cyklus či hexózamonofosfátový zkrat), při které je produktem pentózafosfát. Využití jednotlivých drah je specifické podle druhu mikroorganismu a částečně závisí na vnějších podmínkách. Všem třem způsobům je společná tvorba fosfoglyceraldehydu a jeho oxidace za tvorby ATP. Rozdíl je v tom, že u glykolýzy **je čistý zisk ATP větší než u obou ostatních způsobů**. U glykolýzy získáme na jednu molekulu glukózy 2 molekuly ATP, kdežto u obou dalších způsobů jenom 1 molekulu ATP.

4.5.1.1.1 Glykolýza

Kromě glukózy se touto drahou přeměňují i další hexózy (fruktóza, manóza, galaktóza). Jde o sled deseti reakcí katalyzovaných příslušnými enzymy. Tento proces začíná postupnou fosforylací hexóz až na fruktóza-1,6-bisfosfát, pokračuje jeho štěpením na 2 trifosfáty a jejich oxidací v 1,3-bisfosfoglycerát. Při oxidaci se redukuje koenzym NAD^+ na $\text{NADH} + \text{H}^+$ a u některých mikroorganismů je jediným zdrojem energie glykolýzy. Část takto získané energie se ihned uloží v ATP a další se uvolní až při dalších reakčních stupních, tj. při přeměně fosfoenolpyruvátu na **pyruvát** za vzniku další ATP. Čistý zisk při odbourání molekuly hexózy je 2 ATP.

Pyruvát pak může být následně přeměňován za aerobních podmínek v citrátovém cyklu, nebo za anaerobních podmínek na různé organické sloučeniny podle druhu fermentace. Při aerobním využití jedné molekuly hexózy přes pyruvát a citrátový cyklus vzniká za současné aerobní regenerace vzniklých redukováných kofaktorů až **38 ATP** (19krát více než při anaerobním využití např. etanolové či mléčné fermentaci).

4.5.1.1.2 Pentózový cyklus

Alternativní cestou rozkladu glukózy je **pentózo-fosfátový cyklus**, který umožňuje úplnou oxidaci hexózy na CO_2 bez zahrnutí citrátového cyklu a dýchacího řetězce. Je zdrojem redukovaného koenzymu NADPH, kterého se využívá při většině redukčních procesů syntézy buněčné hmoty. Je rovněž zdrojem pentóz pro syntézu nukleotidů a nukleových kyselin, nejsou-li pentózy obsaženy v růstovém prostředí. Jeho podstatou je fosforylace hexózy a následující oxidace (za součinnosti NAD^+) v 6-fosfoglukono- δ -lakton, který je následnou enzymovou adicí H_2O přeměněn v 6-fosfoglukonát. Ten je pak oxidačně dekarboxylován na **pentózo-5-fosfát** za současné redukce NADP^+ . Šest molekul pentóza-5-fosfátu je systémem enzymů postupně přeměňováno v sedmi-, tří- a čtyřuhlíkaté fosforylované cukry, vedoucí nakonec k zisku 5 molekul glukóza-6-fosfátu, které jsou znovu oxidovány. Procesu lze využít při výrobě kyseliny glukonové pomocí *Aspergillus niger*.

NADPH může svůj vodík předat oxidovanému NAD^+ za vzniku NADH, který se pak oxiduje dýchacím řetězcem. Maximální čistý zisk při úplné oxidaci molekuly glukózy na CO_2 a vodu je $12 \times 3 \text{ ATP}$ (z oxidace $\text{NADH} + \text{H}^+$), tedy **36 ATP**.

4.5.1.1.3 Entner-Doudoroffova dráha

Kyselina 6-fosfoglukonová, která vzniká v pentózovém cyklu, může vstoupit do další metabolické dráhy rozkladu hexóz – Entner-Doudoroffovy dráhy. V této dráze je glukóza fosforylována na glukóza-6-fosfát, který je pak oxidován za součinnosti NADP^+ na 6-fosfoglukonát. Ten je dehydratován na 2-keto-3-deoxy-6-fosfoglukonát a ten je pak štěpen na pyruvát a glycerinaldehyd-3-fosfát. Vzniklý glycerinaldehyd-3-fosfát je převeden procesy známými při glykolýze na pyruvát za vzniku **2 ATP** a NADH. Oba vzniklé pyruváty jsou oxidační dekarboxylací převedeny v **acetylkoenzym A**, který vstupuje do **citrátového cyklu**.

Vzniklé NADPH a NADH jsou oxidovány v dýchacím řetězci za vzniku příslušného množství ATP. Z jedné molekuly glukózy je čistý zisk **37 ATP**.

Touto drahou získávají energii aerobní gramnegativní bakterie rodu *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Azotobacter*, *Rhizobium* aj., ale také fakultativně anaerobní bakterie rodu *Zymomonas*, které vzniklé pyruváty přeměňují glykolýzou za anaerobních podmínek v etanol.

Pyruvát vzniklý při výše zmíněných drahách může být následně přeměňován za aerobních podmínek v citrátovém cyklu, kde se úplně rozloží až na H_2O a CO_2 nebo za anaerobních podmínek na různé organické sloučeniny podle druhu fermentace (organické kyseliny, alkoholy, H_2 a CO_2). Rozklad monosacharidů, především aerobní, završuje koloběh uhlíku.

4.5.1.2 Citrátový cyklus a glyoxylátový cyklus

Substrát pro vlastní „konečné spálení“ uhlíku v buňce je Acetyl-CoA. Důležitým zdrojem acetylu je **pyruvát** vytvořený v procesu glykolýzy. Proces oxidace Acetyl-CoA je cyklus uspořádaných reakcí, který nazýváme podle jeho objevitele **Krebsův cyklus**, jedná se o druhou etapu rozkladu cukrů. Podle meziproductů, které se v něm vyskytují, mluvíme také o cyklu trikarboxylových kyselin nebo **cyklu kyseliny citronové**. Krebsův cyklus začíná sloučením acetyl-CoA s kyselinou oxaloctovou, přičemž vzniká kyselina citronová. Po její izomeraci následují oxidační dekarboxylace, přičemž se kyselina izocitrónová mění na kyselinu α -ketoglutarovou a dále na sukcinyl-CoA. Dekarboxylací se odštěpí 2 molekuly CO_2 . Rozštěpením sukcinyl-CoA vzniká kyselina jantarová, která se přes kyselinu jablečnou mění opět na kyselinu oxaloctovou. Na oxidaci kyseliny citrónové a produktů její přeměny se podílí více koenzymů (NADP^+ , FAD), které jim odnímají vodík (celkově 8 elektronů) a poté

ho přivádějí na oxidaci do **dýchacího řetězce**, tedy třetí etapy rozkladu (katabolismu) cukrů. Část energie uvolněné oxidací se ukládá jako chemická energie v podobě ATP. Oxidací jednoho molu acetyl-CoA v cyklu se vytvoří **12 molů ATP** (oxidací pyruvátu při vzniku acetyl-CoA vzniká ještě 1 mol NADH + H⁺, ze kterého je energetický zisk 3 ATP).

Cyklus kyseliny citronové má velký význam nejen z hlediska energetického metabolismu, ale i látkového metabolismu. Je **hlavní drahou odbourávání sacharidů, lipidů a proteinů**, ale přes mezi svoje meziprodukty i **výchozím zdrojem látek pro syntézu buněčných složek**.

Např. kyselina oxaloctová je východiskem pro tvorbu glukózy, kyselina oxaloctová a α -oxoglutarová pro tvorbu aminokyselin a z kyseliny citrónové se mohou tvořit přes acetyl-CoA mastné kyseliny. Z toho vyplývá, že cyklus není zcela uzavřený, protože v jeho průběhu se odvádějí produkty na biosyntézy. Krebsův cyklus (a některé další s ním související) není možno označit jen za katabolismus ani za anabolismus, jelikož je součástí obou metabolických drah. Takovéto dráhy, katabolické i anabolické současně se označují jako **amfibolické dráhy**.

Na udržení cyklu a pro syntézu dalších potřebných látek si buňka musí zabezpečit nejen tvorbu acetyl-CoA, ale i kyseliny oxaloctové pro syntézu aminokyselin. Především v období růstu tyto meziprodukty citrátového cyklu významně ubývají. Tento úbytek je nahrazován karboxylací pyruvátu kdy je izocitrát štěpen za katalýzy izocitrátlyázou na glyoxylát a sukcinát. Tento cyklický mechanismus se nazývá **glyoxylátový cyklus**. Vzniklý sukcinát představuje výstup z cyklu. Může být dále přeměňován prostřednictvím citrátového cyklu nebo zapojen do různých biosyntetických reakcí. Glyoxylát naproti tomu pokračuje v cestě dalšími reakcemi glyoxylátového cyklu. Do cyklu vstoupí druhá molekula acetyl-CoA a kondenzuje se s glyoxylátem za vzniku malátu.

Enzymy pro citrátový a glyoxylátový cyklus jsou u prokaryot umístěny v cytoplasmatické membráně. U fakultativně anaerobních mikroorganismů jsou to indukovatelné enzymy podléhající většinou hexózové represi. U eukaryot jsou enzymy umístěny v mitochondriích a glyoxyzomech resp. peroxyzomech.

Tvorba a uvolňování meziproduktů do prostředí se využívá k průmyslové výrobě např. kyseliny citrónové pomocí *Aspergillus niger*, kyseliny glutamové po přeměně z α -oxoglutarové pomocí *Corynebacterium glutamicum*, kyseliny fumarové po dyhydrogenaci sukcinátu *Rhizopus nigricans* a některými druhy rodu *Mucor*.

Citrátový cyklus ve své katabolické funkci úzce souvisí s dýcháním, tedy s dýchacím (respiračním) řetězcem.

4.5.1.3 Respirace

Na glykolýzu a citrátový cyklus navazuje v procesu katabolismu cukrů třetí krok – **dýchací řetězec**. Respirace je oxidačně redukční proces, při kterém organismy získávají potřebnou energii a kde akceptorem vodíku je anorganická látka a jsou zde oxidovány redukované faktory NADH, FNDH₂ a FMNH₂. Všechny reakce dýchacího řetězce katalyzují enzymy, které podle jejich koenzymů rozdělujeme na několik skupin: (i) **Flavinové enzymy (flavoproteiny)**, které odebírají vodík NADH₂ nebo přímo substrátům a přenášejí ho na cytochromy. U **cytochromů** se rozlišují čtyři základní skupiny cytochromů: **a, b, c, d**. Z cytochromů se potom přenáší vodík přímo na kyslík nebo až přes další redoxní systémy – metaloproteiny. **Metaloproteiny** obsahují jako kofaktory těžké kovy Cu nebo Mo. Z nich **cytochromoxidázy** se uplatňují v dýchacím řetězci jako terminální oxidoreduktázy při aerobním dýchání a **nitrátreduktázy** při anaerobním dýchání.

Dýchací řetězec je spojený prostřednictvím intermediátů metabolismu a prostřednictvím systému $\text{NAD}^+ \leftrightarrow \text{NADH}^+ + \text{H}^+$ s dráhami rozkladu sacharidů, lipidů, aminokyselin a dalších stavebních jednotek buňky.

Respirací je větší množství druhů a členíme je podle toho, jaká látka je donorem vodíku a co je jeho akceptorem. **Aerobní respirace** je nejběžnějším způsobem respirace vůbec. Setkáváme se s ní nejen u bakterií, nýbrž u převážné většiny mikrobů vůbec a také u vyšších organismů. V tomto dýchacím řetězci jsou oxidovány redukované kofaktory (obohacené o vodík – NADH₂) ve stupňovitě probíhajícím řetězu reakcí, pomocí kterých se vodík přenáší až na kyslík za vzniku vody. Energie uvolněná v tomto procesu je využita k syntéze ATP v procesu **oxidační fosforylace**, představující čtvrtý krok rozkladu (katabolismu) cukrů. Tři etapy (citrátový cyklus, respirační cyklus a oxidační fosforylace) jsou v buňce lokalizovány na cytoplasmatické membráně u eukaryot na vnitřní membráně mitochondrií.

Za **anaerobní respiraci** označujeme oxidaci, při níž je akceptorem vodíku nějaká jiná anorganická látka, než kyslík (např. železité ionty, nitrát, nitrit, síranový aniont, elementární síra, CO₂). Jedná se o procesy disimilační nitrifikace, desulfurikace a metanogeneze. Funkce přenašečů vodíku konají v obou případech cytochromy. Je tedy jediným rozdílem mezi aerobní a anaerobní respirací to, že první z nich používá za akceptor vodíku plynný kyslík a druhá kyslík vázaný na anorganické soli. Anaerobní respirace je vždy **méně energeticky** výhodná než oxidace kyslíkem.

Při respiraci dochází obvykle k úplné oxidaci organických látek různými metabolickými drahami za účasti velkého počtu různých enzymů a v prostředí zůstane jen oxid uhličitý, voda

a buněčný materiál. Chybí-li buňce příslušný enzym, dojde v daném místě k přerušení řetězce reakcí a proces se zastaví. Tomuto procesu vyskytujícímu se u některých bakterií a hub říkáme tzv. **neúplná (částečná, přerušená) respirace**. Při této se jako konečné produkty objevují organické látky. Takto probíhající respirace bývá často mylně označována za oxidativní kvašení. Uvedený způsob respirace však s kvašením nemá nic společného. Na rozdíl od kvašení jsou produkty neúplné respirace pouze látky oxidované. Také akceptorem vodíku zde nejsou organické látky, nýbrž kyslík. Proces sám probíhá za aerobních podmínek. Organismy, u nichž se s neúplnou respirací setkáváme, mají úplný metabolický systém a mohou provádět úplnou oxidaci. Příkladem takovýchto procesů, které mají i průmyslové využití, je částečná oxidace etanolu na kyselinu octovou bakteriemi rodu *Acetobacter* nebo *Gluconobacter* či tvorba kyseliny citronové z glukózy u plísní *Aspergillus niger*. Tyto procesy bývají nesprávně označovány jako octové a citronové kvašení. Neúplná oxidace nastává v nepříznivých podmínkách, např. při nepříznivém pH (produkce kyseliny citronové při pH 2,0), nedostatku stopových prvků či při přebytku sacharidů.

Regeneraci NAD uskutečňují mnohé mikroorganismy v anaerobních podmínkách ještě **jinou cestou**. Akceptory vodíku jsou organické látky, které vznikají v průběhu rozkladu substrátů. Tyto **rozkladné procesy**, které probíhají za nepřítomnosti kyslíku, se nazývají **kvašení (fermentace)**.

4.5.1.4 Fermentace

Fermentace je jedním ze základních a vývojově nejstarších typů energetického metabolismu (katabolismu). Základními substráty při kvašení jsou mono-, di- a polysacharidy, ale mohou to být i jiné organické sloučeniny, např. alkoholy, glycerol, manitol aj.

Základní drahou je **glykolýza**, při níž vzniká **pyruvát**, který je následně přeměňován na různé produkty. Nejčastěji to jsou organické kyseliny snižující pH prostředí (mléčná, octová, propionová, máselná, mravenčí, jantarová aj.), alkoholy a jim příbuzné látky (etanol, aceton, izopropanol, butanol aj.), častým produktem jsou rovněž plyny, především CO₂ a H₂. Společným cílem přeměny pyruvátu u fermentací je přeměna redukovaného kofaktoru (NADH) ve formu schopnou dehydrogenovat další molekulu substrátu při glykolýze (tj. na NAD⁺). Akceptorem vodíku jsou u anaerobního rozkladu sacharidů organické látky, které vznikají v průběhu glykolýzy. Výsledné produkty jsou ještě potenciálně energeticky využitelné, ale buňka je již neumí využít a vylučuje je do prostředí. Rozklad substrátů kvašením proto poskytuje menší energetický zisk pro mikroorganismy než dýchání. **ATP při fermentaci se tvoří fosforylací na substrátové úrovni**. Makroergická fosfátová vazba se

tvoří přímo na molekule substrátu při jeho oxidaci (dehydrogenaci). Při dehydrogenaci komplexu enzym-substrát se vytvoří energeticky bohatá thioesterová vazba, která se fosforolyticky štěpí za vzniku makroergické fosfátové vazby. Tato může přecházet na ADP za vzniku ATP. Substrátová fosforylace ale uvolňuje **19krát méně** energie než oxidativní fosforylace. Počet produktů kvašení je poměrně velký a závisí na druhu zúčastněného mikroorganismu a na jeho enzymovém vybavení. Podle koncových produktů jsou pojmenované i typy kvašení – etanolové, mléčné, propionové, máselné aj. Výsledkem kvašení však není vždy jen jeden produkt, ale může jich být i více. Pro průmysl a zemědělství má velký význam etanolové, mléčné, máslové a propionové kvašení.

4.5.1.4.1 Etanolové kvašení

Nejrozšířenějším produktem kvašení sacharidů je **etanol**. Etanolové kvašení se využívá ve vinařství, pivovarnictví a lihovarnictví. Hlavními původci tohoto kvašení jsou kvasinky. Původci etanolového kvašení jsou především kvasinky rodů *Saccharomyces* a *Torula*, některé druhy mikroskopických hub (rod *Mucor*) a ojedinelé druhy bakterií (např. *Pseudomonas lindneri* či *Sarcina ventriculi*). Hlavním původcem etanolového kvašení ovocných moštů jsou právě kvasinky *Saccharomyces ellipsoideus*, které energicky zkvašují glukózu, fruktózu, sacharózu a maltózu. Typickou pivovarskou kvasinkou je *S. cerevisiae*, ze které pochází mnoho kulturních ras. Lihovarské kvasinky jsou kulturní rasy *S. cerevisiae*, které se vyznačují silnou kvasnou energií a odolností proti vysokým koncentracím alkoholu, vyšší aciditě a vyššímu obsahu solí v prostředí.

Kvasinky zkvašují glukózu EMP dráhou na etanol a CO₂. Vzniklý pyruvát při glykolýze je dekarboxylován na acetaldehyd za součinnosti redukováného kofaktoru NADH a příslušného enzymu redukován na etanol. Z jedné molekuly hexózy vznikají 2 molekuly etanolu a 2 molekuly CO₂ za současného čistého zisku energie 2 ATP. Bakterie využívají Entner-Doudoroffovu dráhu a konečným produktem je opět etanol a CO₂.

Průběh a konečné produkty etanolového kvašení mohou být ovlivněny podmínkami prostředí, mluvíme pak o různých formách kvašení. Například za přítomnosti siřičitanu sodného vznikající acetaldehyd nemůže fungovat jako akceptor vodíku. Jako náhradní akceptor se využívá dihydroxiacetonfosfát vzniklý v EMP dráze, který se redukuje na glycerol. Mohou vznikat i jiné jedno nebo vícesytné alkoholy nazývané také jako přiboudliny. Estery vznikající esterifikací organických kyselin etanolem se podílí na buketu vína, v pivovarnictví jsou naopak nežádoucí.

4.5.1.4.2 Mléčné kvašení

Výsledným produktem mléčného kvašení je **kyselina mléčná (laktát)**; tvoří se přímo redukcí kyseliny pyrohroznové. Mléčné kvašení je jedním z nejdůležitějších fermentačních procesů využívaných v potravinářství.

Rozlišujeme dva typy mléčného kvašení – **homofermentativní**, kde jako jediný produkt vzniká kyselina mléčná a **heterofermentativní**, při kterém vznikají i další produkty.

Původci homoenzymového mléčného kvašení jsou bakterie rodů *Streptococcus* a *Lactobacillus*. *Streptococcus lactis* zkvašuje mléko v našich zeměpisných šířkách, dokáže nahromadit asi 1 % kyseliny mléčné. *Lactobacillus bulgaricus* se používá při výrobě jogurtů, což je vlastně nejrozšířenější způsob přípravy kyselého mléka v jižních oblastech Evropy. V prostředí nahromadí 3 až 4 % kyseliny mléčné. *Lactobacillus acidophilus* se používá při výrobě acidofilního mléka. Do tohoto rodu zařazují někteří autoři i druhy způsobující mléčné kvašení v siláži, kvašení okurek a zelí (*L. plantarum* a *L. brevis*).

Při heterofermentativním mléčném kvašení vznikají kromě kyseliny mléčné i kyseliny mravenčí, octová, jantarová, oxalocetová, fumarová nebo jablečná, etanol a manitol. Z plyných produktů CO_2 a H_2 . Původci tohoto typu kvašení jsou *Lactobacillus brevis*, *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*.

Mléčné kvašení se uplatňuje v potravinářském průmyslu (mléčné výrobky – jogurt, kefir, kumys atd., výroba sýrů, konzervované zeleniny) a v zemědělství při konzervování rostlinné hmoty silážováním. Některé bakterie mléčného kvašení najdeme i v trávicím traktu a na sliznicích živočichů včetně člověka. Disociací kyseliny mléčné se zvyšuje v prostředí koncentrace vodíkových iontů, což inhibuje rozvoj amonizační mikroflóry a hnilobných bakterií a tím silně omezuje rozpad bílkovin.

4.5.1.4.3 Máselné kvašení

V půdě je jedním z nejrozšířenějších typů kvašení hexóz uvolněných depolymerizací polysacharidů. Původci máselného kvašení jsou hojně rozšířeni nejen v půdě, ale i ve znečištěných vodách a v mléce. Představiteli jsou *Clostridium pasteurianum*, *Cl. butyricum* a další druhy uvedeného rodu. energii uvolněnou máselným kvašením využívají částečně i na fixaci molekulového dusíku. Při máselném kvašení vznikají konečné produkty – kyselina máselná, kyselina octová, CO_2 a H_2 .

Zatímco máselné kvašení v půdě a ve vodách má důležitou funkci v koloběhu uhlíku (v anaerobních podmínkách) a je potřebné, v siláži ale i v různých potravinách (např. sýry) je nežádoucí pro silný zápach a štiplavou chuť kyseliny máselné.

4.5.1.4.4 Propionové kvašení

Původci tohoto kvašení jsou specifické, přísně anaerobní propionové bakterie rodu *Propionibacterium*, které zkvašují hexózy na kyselinu propionovou, která se může tvořit buď jako jediný produkt nebo vznikají další produkty a to kyselina octová, CO₂. Propionové bakterie se vyskytují v mléce, sýrech, siláži, v půdě a v exkrementech hospodářských zvířat.

Největší význam v potravinářství má jejich činnost při výrobě tvrdých sýrů, kterým dodávají při zrání výraznou chuť. Produkt jejich činnosti oxid uhličitý vytváří v sýrové hmotě charakteristické „díry“ (např. v ementálském sýru).

4.5.1.5 Rozklad polysacharidů

Celá řada mikroorganismů mohou jako zdroj stavebních látek a energie využívat i další složitější a hůře rozložitelné organické látky. Rozklady složitějších organických látek kam patří např. polysacharidy, fenolické látky aj. jsou důležitou součástí **koloběhu uhlíku**, ale dekompozice dalších látek (např. bílkovin) jsou součástí cyklů i **dalších biogenních prvků** (N, S atd.) v ekosystému.

Polysacharidy, které se dostávají do půdy, pocházejí především z rostlin (škrob, inulín, celulóza, hemicelulózy, pektin aj.), ale určitou část produkují i mikroorganismy (dextrin, levan, manan, chitin) a nižší živočichové (chitin). V tělech organismů mají různou funkci, kde představují:

- (i) zásobní látky: škrob, glykogen, inulín,
- (ii) stavební, strukturální látky: celulóza, hemicelulózy, chitin,
- (iii) stavební jednotky slizů: dextran, levan, agar-agar, laminarin.

Polysacharidy jsou polymery ve vodě převážně nerozpustné a neprocházejí cytoplasmatickou membránou, proto se musí rozložit extracelulárními enzymy na základní stavební jednotky – monosacharidy, resp. disacharidy a to předtím, než je mikroorganismy asimilují. Monomery se v buňkách potom začleňují do metabolických drah sacharidů.

4.5.1.5.1 Rozklad zásobních polysacharidů

Mezi zásobní (rezervní) polysacharidy patří škrob, glykogen, nigeran, dextran, pullulan, jejichž stavební jednotkou je polysacharid glukóza; nazýváme je i **glukozany**. **Fruktozany** jsou polysacharidy polymerizované z fruktózy, mezi kterými má rezervní funkci inulin a levan. Zatímco škrob a inulin tvoří výlučně rostliny, glykogen jsou schopné syntetizovat živočichové i mikroorganismy (kvasinky, bakterie). Ostatní uvedené polysacharidy syntetizují

různé druhy mikroorganismů, které zůstávají jako zásobní látky v buňkách nebo se z nich vylučují do prostředí ve formě slizu (dextran, pullulan, levan).

Rozklad škrobu

Škrob se uskládá v buňkách zásobních pletiv rostlin (hlízy, podzemní rhizomy) a rozmnožovacích orgánech (semena) ve formě zrn. Škrobová zrna jsou složena ze dvou polysacharidů – **amylózy** a **amylopektinu**. **Amylóza** tvoří menší podíl škrobu (20 až 30 %). Vzniká lineárním spojením 200 až 1 000 jednotek glukózy α -1,4-glykosidovými vazbami. Ve vařící vodě se zcela rozpouští. **Amylopektin** má rozvětvený typ řetězce, jeho molekula je větší než molekula amylózy, tvoří ji několik tisíc glukózových jednotek lineárně pospojovaných α -1,4-glykosidovými vazbami. Větvení nastává v odstupech po 8 až 10 glukózových zbytcích. Postranní řetězce jsou připojeny α -1,6-glykosidovými vazbami. Ve vodě tvoří amylopektin typický škrobový maz. Rozklad škrobu se uskutečňuje hydrolytickou cestou působením exoenzymů **amyláz**. Amylázy štěpí oba dva typy glykosidových vazeb, kterými jsou glukózové jednotky navzájem pospojované. Řetězce amylózy se nejprve rozštěpí na menší fragmenty – dextriny složené z několika molekul glukózy. Dextriny se rozkládají dále na disacharidy maltózu (1,4-glykosidová vazba) a izomaltózu (1,6-glykosidová vazba). Maltóza i izomaltóza jsou ve vodě dobře rozpustné, buňky je asimilují a pomocí endoenzymu **α -glukosidázy** je rozloží na dvě molekuly glukózy, které se potom začleňují do vnitrobuněčného metabolismu.

Schopnost produkovat amylázy má velký počet mikroorganismů, které poměrně rychle rozkládají škrob, především v úrodných půdách. Mezi aerobní rozkladače škrobu patří některé houby, především rody *Aspergillus* a *Rhizopus*, aktinomycety rodu *Streptomyces* a aerobní bakterie rodů *Bacillus* a *Pseudomonas*. Škrob rozloží až na CO_2 a H_2O . V anaerobních podmínkách se škrob rozkládá na kyselinu máselnou, kyselinu mléčnou, etanol a jiné produkty rozkladu podle zúčastněné mikroflóry a jejího enzymového vybavení. Z půdních anaerobních bakterií je možné připomenout především rod *Clostridium*.

Z faktorů vnějšího prostředí ovlivňuje rychlost rozkladu především obsah půdní vody, jeho zvyšováním se rozklad urychluje. Vzhledem k tomu, že někteří rozkladači škrobu patří mezi přísně aerobní, jiné zase mezi anaerobní mikroorganismy, koncentrace kyslíku nemá podstatný vliv. Změnou aerace se mění druhové složení uvedených mikroorganismů.

Rozklad glykogenu

Molekula glykogenu je podobná amylopektinu, ale stupeň jeho rozvětvení je intenzivnější. Boční řetězce se vytvářejí již po 3 až 4 glukózových zbytcích. Molekulová hmotnost je také 5 až 10krát větší. Rozklad glykogenu se uskutečňuje enzymatickou hydrolyzou.

Kromě extracelulárního rozkladu glykogenu se depolymerizuje glykogen i jako zásobní látka mikroorganismů ještě během jejich života. Rozkladný proces není potom hydrolytický, ale fosforolytický. To znamená, že z molekuly glykogenu se postupně odštěpují jednotky glukózy a pomocí enzymů se přenášejí na fosfor, přičemž vzniká glukóza-1-fosfát. Mikroorganismy glukóza-1-fosfát velmi rychle využívají jako zdroj uhlíku a energie, hlavně když je omezený přísun živin z prostředí.

Rozklad inulínu

Inulín je nízkomolekulární kondenzační produkt fruktózy. Hydrolyzou se rozkládá na základní stavební jednotky, fruktóza se potom zapojuje do buněčného metabolismu.

4.5.1.5.2 Rozklad stavebních polysacharidů

Na stavbě buněčné stěny rostlin se podílejí fibrilární substance tvořící jejich kostru (celulóza, u hub chitin), amorfni látky (hemicelulózy) a inkrustační látky (lignin).

Rozklad celulózy

Celulóza je nejrozšířenější biopolymer v přírodě. V žijících rostlinách se stále tvoří a trvale se v půdě rozkládá, především působením mikroorganismů. Její rozklad je podstatným činitelem koloběhu uhlíku, protože celulóza tvoří téměř polovinu rostlinného materiálu. Je nejdůležitějším zdrojem živin a energie pro půdní mikroflóru a faunu. Celulóza je polysacharid nerozpustný ve vodě, složený z molekul glukózy spojených **β -1,4-glykosidovými vazbami** do dlouhých lineárních řetězců nazývaných **micely**. Jedna micela se tvoří přibližně ze 14 000 glukózových zbytků. Micely jsou mezi sebou spojeny vodíkovými můstky a vytvářejí fibrily, podstatu celulózového vlákna. Jedna fibrila obsahuje 10 až 12 micel. Volné prostory mezi micelami vyplňují pektinové látky, hemicelulózy, lignin, ale i minerální složky. Vazba celulózy s různými sloučeninami v přírodě je příčina jejího pomalejšího rozkladu v porovnání s chemicky čistou celulózou. Rozklad celulózy je mnohostupňový proces podmíněný její složitou strukturou. Na rozkladu se účastní komplex enzymů **celuláz** a **β -glukozidáza**. Z celuláz jsou nejlépe prozkoumané **enzymy C₁** a **C_x**. Enzym C₁ přeměňuje nativní celulózu na aktivní formu, přičemž se zvyšuje příjem vody a molekula celulózy se štěpí na nízkomolekulární fragmenty řetězce – celulózodextriny.

Enzym C_x hydrolyzuje glykosidické vazby celulózdextrinů za současné tvorby disacharidu **celobiózy** rozpustného ve vodě. Buňky mikroorganismů jsou schopné celobiózu asimilovat. Enzym β -glukosidáza působí intracelulárně na glykosidické vazby celobiózy, z které se tvoří dvě molekuly glukózy.

Schopnosti produkovat celý komplex celulolytických enzymů je charakteristická pro mnohé houby rodů *Fusarium*, *Phoma*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* a *Verticillium*, neaktivnější jsou bazidiomycety. Celulolytické enzymy se převážně lokalizují v mladém myceliu a jeho koncích, kterými pronikají do buněčných stěn rostlinného opadu.

Schopnost rozkládat celulózu má i celá řada bakteriálních zástupců. Z aerobních jsou to rody *Cellvibrio*, *Cellfalcicula*, *Cellolomonas* a specifická skupina bakterií – myxobakterie s rody *Polyangium*, *Archangium*, *Soliangium*, *Cytophaga*. Z anaerobních rozkladačů je dobře známý *Bacillus cellulosae hydrogenicus* a z termofilních *Clostridium thermocellum*. V kompostech a slatiných půdách mají význam aktinomycety.

Při aerobním rozkladu celulózy vzniká H_2O a CO_2 , při anaerobním různé produkty kvašení, organické kyseliny, alkoholy, H_2 , CH_4 a některé vysokomolekulární látky, které se stávají součástí humusu. Fyziologická různorodost mikroflóry umožňuje rozklad celulózy v nejrozmanitějších ekologických podmínkách. Komplexní působení vlhkosti, teploty, aerace, pH a rostlinného opadu jako zdrojů celulózy určuje rychlost rozkladu a změnu rychlosti během roku. Velmi důležitou úlohu mají průvodní organické látky, především lignin. Se zvyšováním jeho podílu v rostlinných zbytcích klesá intenzita rozkladu celulózy. Když se do půdy dostane vyšší podíl celulózy (strniště, sláma), limitujícím faktorem rozkladu se stává dostatek vhodných zdrojů dusíku.

Rozklad hemicelulózy

Hemicelulózy se vyskytují v rostlinných stoncích, kořenech, listech, semenech a v ovoci. Jsou složeny buď převážně z jednoho typu polysacharidů – homopolysacharidy nebo z rozdílných stavebních jednotek – heteropolysacharidy.

Homopolysacharidy mohou být polymery hexóz (manóza, galaktóza) nebo pentóz (arabinóza, xylóza). Jejich názvy jsou odvozeny od základního monosacharidu.

Manany a **galaktany** se nacházejí převážně v ovoci a proto nemají pro půdní mikroflóru podstatnější význam. Konečným produktem depolymerizace je manóza a galaktóza, které se intracelulárně metabolizují na fruktóza-6-fostát anebo glukóza-6-fostát. **Arabany** jsou součástí rostlinných živců a slizů; do půdy se jejich dostává velmi málo. **Xylany** jsou v rostlinách nejvíce zastoupené, mohou tvořit až 30 % jejich sušiny (sláma obilnin). Jako stavební

polysacharidy jsou vždy sdružené s celulózu. Polymerizační stupeň je nízký (30 až 100 xylózových zbytků pospojovaných β -1,4-glykosidovou vazbou), proto jsou částečně rozpustné ve vodě. Štěpí se exoenzymy xylanázami, které patří do skupiny hydrolytických enzymů – **hemiceluláz**. Hydrolyzou se uvolňují molekuly xylóxy, které mikroorganismy asimilují a zapojují je do pentózo-fostátového cyklu.

Dobrymi tvůrci xylanáz jsou bakterie rodu *Sporocytophaga* v neutrálních až slabě alkalických půdách a *Clostridium* v kyselějších půdách. Schopnost rozkládat xylany mají velmi často houby, hlavně v kyselých půdách. Jsou to zástupci rodů *Aspergillus*, *Penicillium* a *Rhizopus*. Jen velmi málo druhů je schopných současně rozkládat hemicelulózu i celulózu. Z aktinomycet rozkládají xylany zástupci rodu *Streptomyces*. Rozklad je poměrně rychlý, odolnější jsou galaktany. Pro zajímavost třeba uvést, že xylany jsou dobrým zdrojem uhlíku a energie pro žampióny (vyšší houby), které je možné pěstovat na slámě. Velký význam má rozklad xylanů v hnoji. Zpočátku je rozklad rychlý (za prvních 8 až 10 dní se rozloží asi polovina xylanů), potom se zpomaluje, až posléze zůstává zbytkový podíl, který se téměř nemění.

Heteropolysacharidy jsou polymery uronových kyselin a monosacharidů (pentóz i hexóz); v přírodě je představují **pektinové látky**.

Pektiny jsou různorodé komplexní polysacharidy, které se vyskytují v pletivech mladých rostlin a ve všem ovoci. V pletivech stmelují navzájem jednotlivé buňky, čímž podporují jejich kompaktnost. Základní stavební jednotkou je kyselina galakturonová, jejíž molekuly jsou 1,4-glykosidovými vazbami pospojované do lineárního řetězce. Karboxylové skupiny kyseliny galakturonové jsou úplně nebo částečně esterifikované metanolem. Neesterifikovaný pektin se nazývá **kyselina pektinová**. Na lineární řetězec kyseliny galakturonové se připojují monosacharidy, pentózy nebo hexózy.

Pektiny s vodou vytvářejí rosol, jsou ve vodě rozpustné, a proto je mikroorganismy rychle rozkládají. Rozklad pektinů je postupný hydrolytický proces, který probíhá poměrně rychle, rychleji než rozklad celulózy. Mají význam v prvních stádiích rozkladu komplexního rostlinného materiálu, protože podmiňují rychlé rozmnožení mikroflóry. Rozklad katalyzují pektinolytické enzymy, **protopektináza**, **pektin-metylesteráza** a **polygalakturonáza**.

Kromě kyseliny octové vznikají i kyseliny máselná, mravenčí, vinná, mléčná, které se v aerobních podmínkách dále rozkládají až na CO_2 a H_2O ; za nepřístupu kyslíku vzniká často H_2 . Rozkladu pektinových látek v půdě se zúčastňují početné bakterie a houby. Mezi aerobní bakterie patří např. *Bacillus subtilis*, *B. mesentericus*, *B. asterosporus*, *Pseudomonas fluorescens*. Anaerobní bakterie reprezentují hlavně *Clostridium roseum*, *Cl. pectinovorum*

a další zástupci rodu *Clostridium*. Mezi fakultativní anaerobní bakterie patří *Bacillus macerans* a *Clostridium polymyxa*. Pektinolytické houby jsou *Aspergillus niger*, *Peuicillium glaucum*, *Mucor mucedo*, *Botrytis cinerea*, *Pullulate pullulans*. Při rozkladu pektinových látek jsou houby všeobecně aktivnější než aerobní bakterie, i když mezi houbami jsou druhy, které rozkládají nejen pektiny, ale i celulózu. I různé druhy patogenních mikroorganismů produkují pektinázy, což jim umožňuje pronikat do kořenových vlásků a infikovat rostliny.

Činnost pektinolytických mikroorganismů se využívá v praxi při rosení přadních rostlin (len, konopí). Přadná vlákna jsou složena převážně z celulózy, nacházejí se na obvodu stonku pod parenchymatickou kůrou. Činností pektinolytických mikrobů se rozkládají pektinové látky střední lamely buněčných stěn a tím se uvolňují jednotlivá vlákna. Pektinolytické enzymy jako technická směs se využívají průmyslově na číření ovocných šťáv.

Rozklad chitinu

Chitin je součástí buněčných stěn některých bakterií, hub a řas, skeletu článkonožců, jakož i vajíček půdních nematod. V půdě se nachází ve značném množství.

Z chemického hlediska je chitin polymer N-acetylglukózaminu, jehož molekuly tvoří řetězce zpevněné vodíkovými můstky. Ve vodě je nerozpustný a velmi odolný vůči mikrobiálnímu rozkladu. Jedním ze základních faktorů pomalého rozkladu je skutečnost, že se chitin v přírodě nikdy nevyskytuje v čisté formě, ale spolu s jinými polymery.

Rozkladači chitinu produkují exoenzym **chitinázu**, který štěpí vazby mezi jednotlivými stavebními složkami chitinu; vzniká **N-acetylglukózamin**. Působením dalších enzymů se N-acetylglukózamin intracelulárně dále rozkládá na jednotlivé složky – glukózu, amoniak a kyselinu octovou.

Největší podíl na rozkladu chitinu mají aktinomycety rodu *Streptomyces*, které ho využívají jako zdroj uhlíku i dusíku. Z bakterií jsou známí zástupci rodů *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Cytophaga* a *Pseudomonas*. V přísně anaerobních podmínkách mají význam desulfurikační bakterie. Celkově nejmenší účast mají houby a to z rodu *Aspergillus*.

Rozklad stavebních slizů

V rostlinných slizech se nacházejí různé polysacharidy, ze kterých si zvláštní pozornost zasluhuje **agar-agar**. V mikrobiálních slizech je zastoupení **dextran**, **levan** a **laminarin**.

Rozklad agaru

Agar tvoří většinou červené řasy. Hlavní podíl připadá na **agarózu**, lineární polysacharid, jehož základní složkou je **galaktóza**. Je rozpustný v horké vodě. Menší podíl tvoří

agaropektin, který kromě galaktózy obsahuje i **uronové kyseliny** a **sulfát**. V přírodě jen velmi málo mikroorganismů má schopnost depolymerizovat agar; jsou to mikroorganismy rodů *Cytophaga*, *Pseudomonas* a *Bacillus*. Produkují extracelulární enzym **agarázu**. Fyzikálně-chemické vlastnosti agaru, hlavně schopnost tvořit gel a vysoká odolnost vůči rozkladu, ho přímo předurčují na použití v syntetických živných půdách, kterým dává pevnou konzistenci.

Rozklad laminarinu

Laminarin je polysacharid, který se nachází v buněčných stěnách hub a lišejníků. Depolymerizaci uskutečňuje enzym **laminarináza**. Tento enzym má důležitou funkci při klíčení konidií a větvení hyf. Je schopný rozleptat buněčnou stěnu konidií a hyf a tím umožnit vývoj nových hyf.

Rozklad dextranu

Dextran je rozvětvený polysacharid polymerizovaný ze zbytků **glukózy** spojených v poloze α -1,6. Schopnost tvořit značné množství dextranu má druh *Leuconostoc mesenteroides* v prostředí obsahujícím sacharózu, což vede ke značným zemědělským ztrátám. V cukrovarech při zpracování rýžeků může vzniknout za několik hodin ze sacharózy nadprodukce dextranu, čímž se celé množství změní na huspeninovou hmotu. *Leuconostoc* se však využívá na průmyslovou výrobu dextranu, který se po příslušné úpravě používá jako náhrada krevní plasmy. Dextran i levan se rozkládají hydrolytickou cestou exoenzymy až na monosacharidy přijatelné buňkou dalších mikroorganismů.

Rozklad ligninu

Buněčné stěny rostlin obsahují kromě celulózy a hemicelulóz i značné množství ligninu. Zvláště vysoký obsah mají dřeviny (25 až 30 %) a zdřevnatělé části kulturních rostlin. V přirozeném materiálu se nevyskytuje volný, ale tvoří komplexy, zvláště s celulózou (**lignocelulózy**). Látky podobné ligninu obsahují i houby z rodů *Aspergillus*, *Gliocladium*. Lignin je komplexní aromatický polymer, ale není polysacharid. Základním monomerem je aromatický **koniferylalkohol** a jeho deriváty. Jednotlivé monomery nejsou mezi sebou spojené jedním typem vazby, ale různými (C-O, C-C) a na tyto vazby se navazují karboxylové, karbonylové, fenolové, alkoholové a metoxylové funkční skupiny. Lignin tedy není jednotnou chemickou substancí, jeho složení má u různých rostlin různý charakter. Molekulová hmotnost ligninu je vysoká (1000 až 10 000), v porovnání s celulózou je bohatší na uhlík a chudší na kyslík.

Do půdy se lignin dostává s odumřelou rostlinnou hmotou. Má význam nejen při mineralizačních, ale hlavně při humifikačních procesech. Je známo, že lignin je za normálních půdních podmínek velmi rezistentní vůči rozkladu. Podle druhu výchozího materiálu a zúčastněných mikroorganismů zůstává po rozkladu nerozložen „ligninový zbytek“, který představuje 15 až 18 % výchozího substrátu. Biochemické přeměny začínají odbouráváním funkčních skupin a až potom se otvírá aromatické jádro. Produkt přeměn ligninu vstupují do reakce s dusíkatými látkami mikrobiálního původu. Výsledkem jsou velmi složité heterogenní látky humusové povahy. Procesy rozkladu a přeměn ligninu jsou tedy úzce spojené s tvorbou humusu. Téměř jedinými rozkladači ligninu jsou houby, především bazidiomycety. Mají lignolytické enzymy lokalizované na koncích hyf a rizomorf, kterými pronikají do dřeva a způsobují jeho hluboký rozklad. Nejznámější jsou původci bílé a hnědé hniloby z rodů *Coriolus*, *Polystictus*, *Pleurotus*, *Polysporus*, z deuteromycet rod *Fusarium*. I mezi nižšími houbami jsou některé druhy, které využívají lignin; patří většinou k rodům *Aspergillus*, *Trichoderma*. I když nejsou známé jednotlivosti o přeměnách ligninu v půdě, přece jen se zjistilo, že lignin má centrální postavení při tvorbě humusu. Jeho rozkladem vznikají předstupně humusových látek, které se složitými biologickými a chemickými reakcemi postupně syntetizují na humus.

4.5.1.6 Rozklad lipidů

Hlavní stavební složkou lipidů jsou mastné kyseliny (nasycené a nenasycené), které jsou nejen zdrojem energie, ale také důležitou součástí fosfolipidů tvořících buněčné membrány bakterií a hub. Lipidy (tuky) jsou v první fázi štěpeny v cytoplasmě prostřednictvím **lipáz** na mastné kyseliny (vyšší mastné kyseliny jsou oxidativně štěpeny na methylketony procesem tzv. žluknutí tuků; typický zápach způsobuje methylamylketon) a glycerol. Mastné kyseliny jsou poté převedeny do matrix mitochondrie, kde dochází k jejich odbourání. V matrix mitochondrie probíhá odbourávání mastných kyselin procesem tzv. **β-oxidace** mastných kyselin. Rozklad **triglyceridů** jednoduchých lipidů je hydrolytický proces, na kterém se zúčastňují enzymy **lipázy**. Nejprve se oddělí základní stavební složky glycerol a mastné kyseliny. Glycerol, který vzniká po odštěpení mastných kyselin, se přeměňuje na dihydroxyaceton a začleňuje se do Embden-Meyerhofové dráhy. Mastné kyseliny se esterifikují s CoA a zapojují do **β-oxidace**, která je hlavní dráhou jejich rozkladu. Rozklad je vícenásobnou oxidací, která probíhá spirálovitě. Po každé jedné závitnici se oddělí jeden acetyl-CoA, který vstupuje v aerobních podmínkách do citrátového cyklu. Vodík, který se uvolňuje β-oxidací a oxidací acetyl-CoA, přechází dýchacím řetězcem až na kyslík. Oxidace

mastných kyselin má výraznější energetický efekt než oxidaci sacharidů. Úplnou oxidací hexózy se získá 40 ATP, oxidací 18-uhlíkové kyseliny stearové 152 ATP, tedy na každých 6 atomů uhlíku připadá 51 ATP.

Za nepřítomnosti kyslíku zůstává velká část mastných kyselin volná v tuku; mikroorganismy je redukují na aldehydy a alkoholy. Nízkomolekulární mastné kyseliny, aldehydy a alkoholy mohou dávat látkám charakteristickou vůni.

4.5.1.7 Rozklad uhlovodíků

Uhlovodíky jsou chemicky relativně inertní sloučeniny. O to významnější je skutečnost, že existuje velký počet mikroorganismů, který dovede uhlovodíky využívat jako zdroj uhlíku a energie. Jsou to především rody *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Acinetobacter*. Z hub mohou rozkládat alifatické uhlovodíky prakticky všechny druhy rodu *Candida*, ale i jiné rody.

Schopnost oxidovat uhlovodíky není v žádném případě zvláštní vlastností jednotlivých kmenů, jako se dříve předpokládalo. Proto se i uvažovalo, že mikroorganismy rozkládající naftu se vyskytují výhradně na stanovištích, kde se s naftou dostávají do styku. Ve skutečnosti jsou druhy oxidující uhlovodíky v přírodě dost rozšířené; je možné je izolovat ze všech půd. V posledních letech zákonitě stoupá zájem petrochemického průmyslu o mikrobiologickou přeměnu nafty. To vedlo k rychlému vývoji samostatného vědního odboru – mikrobiologie nafty. Mezi mikroorganismy jsou některé druhy, které upřednostňují uhlovodíky s krátkým řetězcem, dokonce metan, jiné zase uhlovodíky s dlouhým řetězcem.

4.5.1.7.1 Rozklad alifatických uhlovodíků

Řada bakterií je schopna využívat alifatické nasycené a nenasycené uhlovodíky jako zdroj elektronů v anaerobních podmínkách. Klíčovou reakcí je oxidace uhlovodíku kyslíkem pomocí **monooxygenázy**. Konečným produktem posloupností reakcí je acetyl-CoA.

V přírodě existují bakterie, které jsou schopné využívat **metan** jako zdroj uhlíku a energie. Jsou to tzv. **metanové bakterie** rodu *Methanomonas*, blízké rodu *Pseudomonas*. Ještě více je bakterií schopných asimilovat metanol a to bakterie rodu *Hyphomicrobium*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Arthrobacter* a některé houby.

Bakterie rodu *Mycobacterium*, *Flavobacterium* jsou schopné oxidovat **etan** a **propan**, které jsou součástí zemního plynu. Enzymová oxidace probíhá přes primární alkoholy na mastné kyseliny, které bakterie asimilují a přes acetyl-CoA začleňují do citrátového cyklu.

Rozklad uhlovodíků s dlouhými řetězci podmiňují dva typy enzymů – **hydratázy** a **oxidázy**. Postupnou hydrolýzou a oxidací vznikají mastné kyseliny, které se zařazují do už uvedené oxidace s následnou oxidací v citrátovém cyklu.

4.5.1.7.2 Rozklad aromatických uhlovodíků

Mikrobiologický rozklad aromatických sloučenin je důležitý v koloběhu uhlíku v přírodě. Tvůrci aromatických systémů jsou především vyšší rostliny. Největší podíl tvoří lignin.

Aromatické uhlovodíky se nacházejí v různých koncentracích i v naftě. Některé bakterie, kvasinky a jiné houby jsou schopné štěpit aromatický kruh a jeho uhlík zapojit do centrálních metabolických drah. Na štěpení těchto uhlovodíků se podílejí různé oxidázy.

Bakterie rodu *Pseudomonas* mají schopnost využívat aromatické uhlovodíky (např. katechol, toulén, benzen) v aerobních podmínkách. První krok je opět oxidace uhlovodíku kyslíkem v přítomnosti **mono-** popř. **dioxygenázy**. Podobný proces je znám u některých anaerobních bakterií.

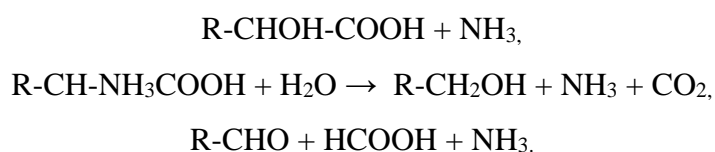
Otázka rozkladu uhlovodíků má velký význam nejen z hlediska půdní úrodnosti (vznik humusu), ale i z hlediska ochrany životního prostředí (znečišťování naftou a syntetickými prostředky – pesticidy).

4.5.1.8 Rozklad bílkovin a aminokyselin

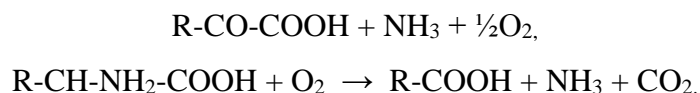
Rozklad bílkovin je součástí koloběhu dusíku a tento proces, kdy produktem rozkladu dusíkatých organických látek (bílkovin) je dusíkatá anorganická látka (amoniak) je zde nazýván amonifikací. Bílkoviny jsou vysokomolekulární látky složené z asi 20 základních aminokyselin, jejichž molekuly se vzájemně váží peptidovými vazbami (-CO-NH-) do dlouhých řetězců. Rostlinné bílkoviny se skládají převážně z alifatických aminokyselin, živočišné mají vyšší podíl aromatických aminokyselin. Vysokomolekulární bílkoviny a jejich štěpné produkty jsou příliš velké, takže protoplasma mikrobiálních buněk je nemůže přímo přijímat přes povrchové buněčné struktury. Rozklad bílkovin proto nastává už mimo mikrobiální buňky působením komplexu proteolytických enzymů, které amonizační mikroflóra vylučuje do prostředí. Bílkoviny se rozloží až na aminokyseliny, které mikroorganismy už přijímají do protoplasmy, kde pokračuje jejich deaminace až na konečné produkty. Bílkoviny se nejprve hydrolyticky štěpí za účasti proteolytických enzymů – **proteináz**. Ty uvolňují peptidové vazby buď uprostřed nebo na konci řetězců bílkovinné molekuly, čímž vznikají **polypeptidy**. Polypeptidy představují ještě relativně velké molekuly složené nejméně ze dvou dipeptidů. Jejich rozklad se uskutečňuje prostřednictvím další

skupiny enzymů – **peptidáz**. Část těchto specifických enzymů štěpí sloučeniny s volnými aminoskupinami v peptidovém řetězci (**aminopeptidázy**), jiné jsou odkázané na reaktivní karboxylové skupiny (**karboxylpeptidázy**). Konečnými produkty rozkladu bílkovin mimo buňky jsou aminokyseliny, které mohou přejít přes cytoplasmatickou membránu mikroorganismů prostřednictvím specifických enzymů – **permeáz**. Uvnitř buněk mikroorganismů se aminokyseliny dále rozkládají skupinou **deamináz** a dekarboxyláz na konečné produkty. Tuto reakci označujeme souhrnně jako **deaminaci** a rozdělujeme ji do těchto základních typů:

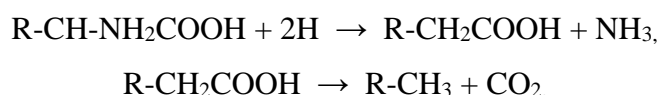
- (i) **hydrolytická deaminace**, při které se aminokyseliny rozkládají na příslušné oxykyseliny, alkoholy, amoniak: dekarboxylací oxykyselin se uvolňuje CO₂:



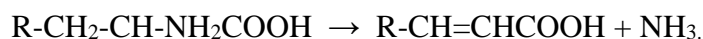
- (ii) **oxidační deaminace** se katalyzuje specifickými oxidázami; vznikají ketokyseliny a amoniak; tato reakce může být spojená ještě s dekarboxylací, přičemž se ketokyseliny mění na mastné kyseliny:



- (iii) **redukční deaminace** vede ke vzniku mastných kyselin, které často dekarboxylují na uhlovodíky:



- (iv) **přímá deaminace**, při které se amoniak odděluje přímo od jednotlivých aminokyselin, a vznikají nenasycené kyseliny:



Kromě alifatických aminokyselin podléhají deaminaci i aminokyseliny aromatického typu. Oxidativní deaminací aromatických aminokyselin vznikají tyto sloučeniny:

tyrozin → kyselina p-oxybenzoová + fenol + NH₃ + CO₂ + H₂O,

fenylalanin → kyselina fenyloctová + kyselina benzoová + NH₃ + CO₂,

tryptofan → kyselina indolyloctová → skatol → indol + NH₃ + CO₂ + H₂O.

Schopnost mineralizovat proteiny a jejich štěpné produkty – aminokyseliny je rozšířená u velkého počtu mikroorganismů. Z bakterií jsou to hlavně zástupci rodu *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. mycoides* aj.) a rodu *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. putrida* aj.). Z mikroskopických hub mají touto vlastností zástupci rodu *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* a *Trichoderma*.

V ornici se odhaduje množství mikroorganismů schopných proteolýzy průměrně na 10^6 až 10^7 v jednom gramu půdy. Rychlost rozkladu bílkovin v půdě závisí na množství proteinového materiálu přicházejícího do půdy, jakož i na biochemické činnosti amonifikačních mikroorganismů, kterou ovlivňují faktory vnějšího prostředí (teplota, vlhkost, pH). Vytváření komplexů bílkovin s jílovými minerály půdy snižuje jejich rozklad.

Rostlinné a živočišné **proteiny obsahující síru** v půdě rozkládá velmi početná heterogenní mikroflóra na aminokyseliny. Patří sem aerobní i anaerobní heterotrofní bakterie, aktinomycety a houby. Při rozkladu siřných aminokyselin se uvolňuje sirovodík. V aerobních podmínkách oxidací H_2S vznikají více nebo méně oxidované sloučeniny síry, hlavně sírany, které jsou přijatelné pro rostliny. Rozsah mineralizace organických sloučenin síry závisí na jejich množství v půdě a od vzájemného poměru C : S v rozkládajícím se substrátu. Akumulace síranů v půdě nastává pouze v tom případě, když obsah síry v organické hmotě převyšuje požadavky mikrobů. V oblastech humidních se ročně zmineralizuje přibližně stejné procento síry jako dusíku, tj. 1 až 3 % z celkové zásoby v půdě (5 až $15 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ za rok). Zároveň se však síra může vyplavovat, čímž se půda ochuzuje o přístupné formy síry.

4.5.1.9 Rozklad ostatních organických dusíkatých látek

Kromě bílkovin jsou v půdě i jiné sloučeniny, ve kterých je dusík vázaný v organické formě. Jsou to humusové látky, nukleoproteiny, močovina, kyselina močová, kyselina hipurová aj.

Nukleové kyseliny jsou součástí rostlinných, živočišných a mikrobiálních buněk. Jsou všeobecně dobrým zdrojem dusíku ale i vhodným zdrojem uhlíku pro mnoho druhů mikroorganismů schopných produkovat enzymy ribonukleázy a deoxyribonukleázy. Nukleové kyseliny se v buňce hromadí během lag fáze, po dosažení určitého množství probíhá dělení. Ribonukleáza a deoxyribonukleáza specificky štěpí vazby mezi nukleotidy a dochází k hromadění mono- a dinukleotidů.

Biochemické procesy, kterými se tento rozklad uskutečňuje, můžeme rozdělit do 5 etap:

1. rozštěpení nukleoproteidů,
2. rozklad polynukleotidového retězce molekuly RNA nebo DNA,
3. defostorylace mononukleotidů,
4. rozštěpení nukleosidu na cukr a báze,
5. rozklad purinových a pyrimidinových bází.

Purinové a pyrimidinové báze rozkládají mikroorganismy dále přes různé meziprodukty na konečné produkty:

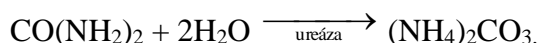
adenin, guanin → močovina + kyselina glyoxalová,

cytozin, thymin, uracil → močovina + kyselina jablečná + alanin.

V porovnání s množstvím nukleoproteinů jako důležité součásti buněčných jader, resp. tomu ekvivalentní jaderné substance u všech půdních živočichů, je množství volných nukleoproteinů v půdě nepatrné. To může souviset s rychlou mineralizací těchto sloučenin. Z ekologického hlediska je významná vysoká rychlost mineralizace nukleoproteinů hlavně proto, že se tímto způsobem uvolňuje biologicky vázaná kyselina fosforečná. V této formě ji rostliny mohou využít a vrátit tak do koloběhu fosforu. Schopnost produkovat enzymy rozkládající nukleoproteiny mají příslušníci mnohých rodů bakterií (rod *Achromobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*), mikroskopických hub (*Penicillium*, *Aspergillus*) a aktinomycet.

Močovina, kyselina močová a kyselina hipurová patří mezi nejdůležitější sloučeniny nebílkovinného charakteru.

Přirozenými zdroji **močoviny** v půdě jsou konečné produkty dusíkového metabolismu živočichů a konečné produkty rozkladu purinových a pyrimidinových bází. Z dodávaných forem jsou to chlévský hnůj a močůvka a v poslední době kromě dusíkatého vápna i průmyslově vyráběná močovina aplikovaná jako koncentrované dusíkaté hnojivo. Chemicky je močovina diamid kyseliny uhličitě $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, obsahující 46 % N. V amidické formě je tento dusík pro rostliny nepřístupný, proto se musí v půdě činností mikroorganismů nejprve mineralizovat. Amonizace močoviny se začíná hydrolytickým štěpením enzymem **ureázou** na uhličitán amonný, který se v půdě rychle rozkládá na amoniak, oxid uhličitý a vodu:



Nejdůležitějšími mikroorganismy mineralizujícími močovinu jsou zástupci bakteriálních rodů *Bacillus*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Clostridium*, které souhrnně označujeme jako **urobakterie**. Močovina zapracovaná do půdy se rozkládá velmi rychle; podle podmínek prostředí se močovinný amidický dusík za 5 až 10 dní nachází již v amoniakální formě. Kyselina močová a kyselina hipurová poskytují mikroorganismům zdroj C a N. Rozkladem kyseliny močové vzniká kyselina vinná a močovina, kterou dále rozkládají urobakterie na NH_3 a CO_2 . Produkty rozkladu **kyseliny hipurové** jsou **glykokol** a **kyselina benzoová**. Glykokol se štěpí na **amoniak** a **kyselinu octovou**, kterou mohou některé organismy rozložit až na H_2O a CO_2 . Větší část amoniakálního dusíku uvolněného rozkladem organických dusíkatých látek odčerpají rostliny a půdní organismy na syntézu vlastní organické hmoty.

Určitá část se váže ve formě jednomocného kationtu NH_4 na jílovo-humusový sorpční komplex půdy. V dobře provzdušených půdách se amoniak činností nitrifikační mikroflóry oxiduje na dusičnany (nitrifikaci).

4.5.1.10 Rozklad ostatních látek

4.5.1.10.1 Acetogeneze a metanogeneze

Acetogenní a metanogenní bakterie jsou striktní anaerobové využívající CO_2 jako akceptor elektronů. Donorem je plynný vodík. Metanogenní bakterie rodů *Methanococcus*, *Methanobacterium* produkují za anaerobních podmínek ze sacharidů a organických kyselin metan. Energie uvolněná během reakce je využita k tvorbě protonového gradientu a ATP. Donorem elektronů acetogenních bakterií jsou kromě vodíku i cukry, alkoholy a aminokyseliny, které jsou cestou přes acetyl-CoA a za spotřeby CO_2 transformovány na kyselinu octovou.

Metanogenní prokaryota (*Archea*) využívají H_2 a CO_2 k produkci metanu. Tento proces je velmi složitý a zahrnuje několik komplexních kroků.

4.5.1.10.2 Denitrifikace

Hlavní proces, při kterém dochází k uvolňování dusíku ve formě oxidů dusíku či ve formě atomárního dusíku z půdy do atmosféry a kterým se uzavírá koloběh dusíku, se nazývá **denitrifikace**. Při denitrifikaci slouží jako akceptor vodíku odnímaného kyselině octové nebo glukóze dusičnany, které se redukují na N_2 . Jako denitrifikace se nejčastěji označuje redukce oxidovaných forem dusíku (NO_3^- a NO_2^-) na plynné sloučeniny N_2O a N_2 . V nejširším smyslu pojem denitrifikace znamená redukci oxidovaných sloučenin (nitrátů aj.) a tvorbu plynných sloučenin dusíku a to jak fyzikálně-chemickými reakcemi (**chemodenitrifikací**), tak biologickými procesy (**biologickou denitrifikací**). Za typickou biologickou denitrifikaci lze považovat **respirační denitrifikaci**. Denitrifikace probíhá jako sled dílčích enzymatických reakcí:



Často probíhá redukce nedokonale a tvoří se i značný podíl N_2O . Celkové množství i vzájemný poměr těchto plynných produktů přeměn N jsou velmi variabilní a závislé na mnoha faktorech. Pro vznik N_2O je limitující zejména rychlost poslední reakce - redukce N_2O na N_2 . Jestliže jsou NO_3^- a nitrity (NO_2^-) redukovány rychleji než N_2O , dochází k hromadění N_2O . V závislosti na typu bakterie proces redukce pokračuje až k plynnému molekulárnímu dusíku (např. *Pseudomonas stutzeri*).

Denitrifikační bakterie používají jako akceptor vodíku nitráty. Mohou používat jako akceptor vodíku i kyslík. Nitráty redukují pouze tehdy, když nemají k dispozici kyslík. Při snížené dostupnosti nebo za nepřítomnosti kyslíku nitráty či nitrity využívají jako konečný akceptor elektronů. Uvolněná energie se ukládá do molekul ATP. Klíčovým enzymem denitrifikace je **nitrátreduktáza**, která je snadno inhibována kyslíkem. Nitrity se nehromadí, ale jsou rychle redukovány přes NO na N₂O, jehož určitá část je dále redukována na N₂. Ubývá NO₃⁻ a přibývá N₂O + N₂. Některé druhy denitrifikačních bakterií redukují nitráty na plynný dusík, jiné na amonné soli nebo oxid dusný. Anaerobní respirace s využitím NO₃⁻ jako akceptoru elektronů je energeticky méně výhodná než aerobní respirace s využitím O₂.

Procesem denitrifikace vzniká řada plynných produktů, včetně molekulárního dusíku. Dusík tak uniká z životního prostředí mnoha organismů do atmosféry. Toto je výhodou např. při čištění odpadních vod, naopak způsobuje určitou ztrátu v zemědělství.

4.5.1.10.3 Desulfurikace

Současně s oxidací anorganických sloučenin síry (sulfurikací) mohou v půdě i ve vodě probíhat i redukční procesy známé pod názvem **desulfurikace**. Je to postupná redukce síranů a siřičitanů na H₂S působením **desulfurikačních** bakterií (např. *Desulfuromonas*). Tyto metabolizují jednoduché organické sloučeniny a využívají elementární síru jako terminální akceptor elektronů. energii potřebnou na chemosyntetickou asimilaci CO₂ získávají oxidací vodíku kyslíkem uvolněním redukcí síranů (anorganické oxidované sloučeniny síry jsou akceptory vodíku podobně jako nitráty při denitrifikaci). Anaerobní respiraci používají také bakterie rodu *Desulfovibrio*. Tyto bakterie používají jako akceptor vodíku sulfáty, které redukují na sulfity (desulfurikace). Donorem vodíku jsou obvykle organické látky: cukry, organické kyseliny, alkoholy. Někdy může být donorem i H₂. V tomto případě se však *Desulfovibrio desulfuricans* chová jako fakultativní autotrof. Sulfát je nejdříve aktivován ATP **sulfurylázou** na adenosinfosulfát (APS), ten redukován APS reduktázou na sulfit a ten redukován sulfit reduktázou na sulfan. Z APS je možné asimilační cestou přes meziproduct fosfoadenosinfosulfát (PAPS) vytvářet organické molekuly využitelné v metabolismu (cystein, methionin). Tyto bakterie jsou v biosféře velmi rozšířené. Jsou to pohyblivé, obligátní anaerobní tyčinky relativně citlivé na vyšší koncentraci iontů H⁺; v prostředích s pH nižším než 5,5 prakticky nerostou. To znamená, že v kyselých půdách je biologická redukce síranů silně omezená. Bakterie může rozkládat též pyruvát (nebo laktát), ale ten opět produkuje vodík využitý hydrogenázou. Vzniká protonový gradient a ATP. Typickým

produktem disimilační redukce sirných sloučenin je sirovodík H₂S. Tvorba H₂S v přírodě si zasluhuje pozornost ze dvou důvodů:

- (i) Ve vyšších koncentracích působí toxicky na půdní mikrofaunu a makrofaunu. Velmi významná je tato skutečnost v tekoucích vodách znečištěných organickými látkami. Zvýšená koncentrace H₂S působí potom toxicky nejen na plankton, ale i na ryby a rostliny.
- (ii) Je hlavní příčinou koroze kovových předmětů, hlavně železných vodovodních rour.

4.5.2 Katabolismus chemoautotrofních mikroorganismů

Chemoautotrofové získávají energii **oxidací anorganických látek**. Chemoautotrofie je známa pouze u bakterií. Chemoautotrofní bakterie jako zdroj uhlíku využívají CO₂, jehož přeměna na organické látky se uskutečňuje v Calvinově cyklu (stejně jako u fotosyntézy). Redukční ekvivalenty na redukci CO₂ poskytuje NADH₂. Z hlediska příjmu CO₂ jsou tyto bakterie **autotrofní**, ale v některých případech **mixotrofní**. Mixotrofie znamená možnost získání energie z anorganické látky a spotřeby organické látky za účelem získání uhlíku.

Zdrojem energie chemoautotrofů je tedy oxidace redukovaných anorganických sloučenin, která se uskutečňuje systémem dýchacího řetězce v cytoplasmatické membráně bakterií. Akceptorem vodíku je molekulový kyslík (aerobní dýchání) nebo kyslík z anorganických sloučenin ve vyšším oxidačním stupni (anaerobní dýchání, např. kyslík dusičnanů). Způsob získání ATP při oxidační fosforylaci je podobný chemoorganotrofům (chemoheterotrofům), donorem elektronů je však anorganická látka, která je v průběhu procesu oxidována. Oxidací anorganických sloučenin získává buňka chemoautotrofních bakterií méně energie než dýchající bakterie chemoheterotrofní. Menší energetický zisk nahrazují intenzivnější oxidací a s tím související tvorbou invaginací. Invaginace (lamelární nebo vezikulární) se vytvářejí v cytoplasmatické membráně a zvětšují její plochu a zároveň i aparát dýchacího řetězce.

Chemoautotrofních druhů bakterií je málo, ale jejich význam v přírodě je však nezastupitelný. Mezi chemoautotrofní bakterie patří **autotrofní nitrifikační bakterie, sirné bakterie, železité bakterie a vodíkové bakterie**.

4.5.2.1 Nitrifikace

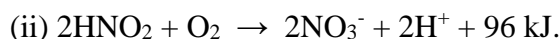
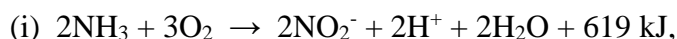
Obecnější definice popisuje **nitrifikaci** jako biologickou přeměnu (oxidaci) amonia a organických sloučenin dusíku z redukovaných forem na oxidovanější. Nitrifikační mikroorganismy, způsobující nitrifikaci procesy oxidace dusíku využívají k získání energie

pro své životní pochody. Nitrifikace je v mnoha půdách a ekosystémech klíčovým procesem, neboť přeměňuje málo pohyblivou formu dusíku (NH_4^+) na formu velmi pohyblivou (NO_3^-):



Autotrofní nitrifikace má rozhodující podíl na oxidaci redukovaných anorganických sloučenin dusíku. Tento typ nitrifikace uskutečňují specializované autotrofní, striktně aerobní nitrifikační bakterie. Jde o chemolitoautotrofní nitrifikaci, kdy mikroorganismy využívají jako zdroj energie chemické látky (chemo-), zdrojem protonů a elektronů je anorganická hmota (-lito-) a zdrojem uhlíku je CO_2 (-autotrofní). Fixace CO_2 probíhá podobně jako u rostlin v Calvinově cyklu. Hlavním zdrojem energie, protonů, elektronů pro nitrifikační bakterie je NH_4^+ , který je oxidován. Oxidují **amoniak** pocházející z mineralizace organických dusíkatých látek půdy, ale i amoniak aplikovaný ve formě průmyslových hnojiv (např. dusičnan amonný, síran amonný) nebo uvolňovaný z nich mineralizací (močovina).

Tato oxidace je prováděna ve dvou krocích: V prvním dochází k oxidaci amonných iontů na **nitrity** a v druhém jsou nitrity oxidovány na **nitráty**:



Uvedené reakce provádějí chemolitotrofní **nitrifikační bakterie**, pro něž jsou tyto reakce jediným zdrojem energie. První fázi nitrifikace – **nitritaci** – vykonávají **nitritační bakterie** rodů *Nitrosomonas*, *Nitrosocystis*, *Nitrospira*, *Nitrosoglea*, druhou fázi – **nitrataci** – **nitratační bakterie** rodu *Nitrobacter*, *Nitrospira* aj.

Klíčovými enzymy nitrifikačních bakterií je **ammonium monooxygenáza**, oxidující amoniak na hydroxylamin a **hydroxylamin oxidoreduktáza**, oxidující vznikající hydroxylamin na nitrit. Vzniklé elektrony jsou částečně využity terminální oxidázou k produkci protonového gradientu a redukci kyslíku na vodu. Klíčovým enzymem nitrátových bakterií je **nitrit oxidoreduktáza**, oxidující nitrit na nitrát. Elektrony uvolněné reakcí jsou dopraveny na terminální oxidázu a využity k tvorbě protonového gradientu a ATP.

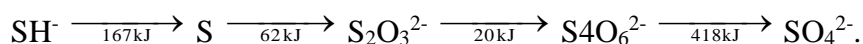
Vyšší energetický zisk je z první fáze. Efektivnost využívané energie není velká, v první fázi je to 5 až 14 %, v druhé fázi 5 až 10 % z celkového uvolněného množství. Poměr oxidovaného dusíku na získané energie k asimilovanému CO_2 je široký. *Nitrosomonas* musí oxidovat 35 až 70 molů amoniaku, *Nitrobacter* 100 molů nitritů, aby se mohl asimilovat 1 mol CO_2 . To vysvětluje velmi pomalý růst nitrifikačních bakterií, ale i velkou potenciální oxidační schopnost. V přírodních podmínkách to znamená, že když budou mít nitrifikační bakterie k dispozici dostatek amonných iontů a ostatní faktory prostředí nebudou limitující, vyprodukuje se rychle množství nitrátů.

V některých půdách nebo za určitých podmínek může nabýt na významu **nitrifikace heterotrofní**. Od autotrofní nitrifikace se liší tím, že je prováděna heterotrofními mikroorganismy, přičemž je třeba připomenout, že heterotrofie nesouvisí s nitrifikovaným substrátem, ten může být anorganický (NH_4^+) i organický (amidy, aminy), ale s tím, že mikroorganismy využívají jako zdroj uhlíku pro tvorbu své biomasy organické látky. Na rozdíl od chemoautotrofních nitrifikátorů jsou schopni aktivovat heterotrofní nitrifikátory i v anaerobních podmínkách a při nízkém pH. Heterotrofní nitrifikátory najdeme mezi bakteriemi (rody *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium* atd.) i mikromycetami rodu *Penicillium*, *Aspergillus*, *Candida*, *Fusarium* atd.

Některé nitrifikační bakterie mohou v anaerobních podmínkách oxidovat amoniak anoxygenní oxidací. V této reakci dochází k oxidaci amoniaku nitritem za vzniku plynného dusíku. Nitrifikací se dusík zpřístupňuje jako dobře využitelná živina a zároveň se vytvářejí předpoklady pro jeho vyplavování a denitrifikaci. Nitrifikace spotřebovává kyslík a okyseluje se při ní půdní prostředí, neboť vznikají protony H^+ .

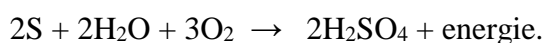
4.5.2.2 Sulfurikace

Sulfurikace je mikrobiální proces, při kterém se redukované formy síry postupně oxidují až na sírany. V průběhu tohoto procesu nastává postupné uvolňování energie:



Při tomto ději, který je analogický oxidaci amoniaku nitrifikací dochází k uvolňování vodíkových kationtů a tím i k okyselení okolního prostředí.

Mezi sulfurikační bakterie, které oxidují anorganické sloučeniny síry (ne H_2S), patří například chemolitoautotrofní bakterie rodu *Thiobacillus* – **tionové bakterie**. Bakterie *Thiobacillus thiooxidans* oxiduje elementární síru na kyselinu sírovou podle rovnice:



Tento organismus je schopen žít v extrémně kyselém prostředí (snáší velmi široké rozpětí pH 2 až 9), což vzhledem k tomu, že uvedená reakce je pro něho jediným způsobem získávání energie, není nic nepochopitelného. Oxidaci sirovodíku provádí jiná skupina sírných bakterií. Jejich zástupcem je *Beggiatoa mirabilis*. Sirovodík oxiduje podle rovnice:



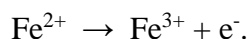
Dále jsou to fotoautotrofní mikroorganismy mezi které patří purpurové sírné bakterie (*Thiospirillum*, *Chromatium*) a zelené sírné bakterie (*Chlorobium limicola*). Tyto bakterie obsahují fotosyntetické pigmenty a jako zdroj uhlíku využívají CO_2 a donorem vodíku na jeho

redukci je H₂S, který se zároveň oxiduje. Sírné bakterie žijící ve vodě mohou snižovat obsah přítomného toxického sirovodíku.

Elementární síru a její redukované sloučeniny mohou oxidovat i **chemoorganoheterotrofní mikroorganismy** jako jsou bakterie z rodů *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus* atd.

4.5.2.3 Oxidace železnatých iontů

Železité bakterie získávají energii oxidací dvojmocného železa na železo trojmocné podle rovnice:

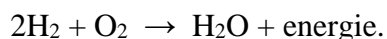


Oxidace dvojmocného železa na trojmocné je energeticky málo významná a musí být realizována ve velkém množství, aby vystačila k růstu bakterie.

Železitý iont je ukládán v podobě nerozpustného hydroxidu železitého. Uvedenou reakci provádí rod *Ferrobacillus* a celá řada dalších bakterií. Řada bakterií oxidujících železnaté ionty patří k obligátním acidofilům, neboť Fe²⁺ je stabilní v kyselém prostředí. Bakterie *Acidithiobacillus ferrooxidans* roste v prostředí s pH okolo 1 v důlních nádržích. V periplasmě bakterie oxiduje enzym rusticyanin Fe²⁺ na Fe³⁺ a odevzdává elektrony cytochromu c v cytoplasmatické membráně. Elektron je přenesen na cytochrom a a kyslík, který je redukován na vodu. Odejímané protony kompenzují případný pokles vnitřního pH, který vzniká při syntéze ATP. NADH pro Calvinův cyklus je tvořen zpětným elektronovým tokem z cytochromu c. Fe²⁺ je často zdrojem elektronu pro Calvinův cyklus anoxygenních fototrofů (fototrofních purpurových bakterií).

4.5.2.4 Oxidace vodíku

Existuje řada bakterií a archebakterií, které oxidují vodík kyslíkem, nitrátem, sulfátem atd. Skupinou bakterií schopných získávat si energii oxidací plynného vodíku nazýváme **vodíkovými bakteriemi**. Nejznámějším rodem bakterií této skupiny je *Hydrogenomonas*. Respirace probíhá podle rovnice:



Předpokladem reakce je aktivace vodíku, tj. jeho rozštěpení na dva atomy: $\text{H}_2 \leftrightarrow 2\text{H}$.

Membránový enzym hydrogenáza katalyzuje oxidaci vodíku a předává elektrony chinonovým přenašečům. Elektrony jsou přes řadu přenašečů dopraveny na kyslík (redukce na vodu). Výsledkem je tvorba protonového gradientu a ATP. Ve vodě rozpustná hydrogenáza vytváří NADH nutný k fixaci CO₂ Calvinovým cyklem.

Vodíkové bakterie nejsou striktními litotrofy. energii si mohou opatřovat také oxidací organických látek. Označujeme je proto za fakultativní litotrofy.

4.6 Anabolismus mikroorganismů

Anabolické procesy nebo také procesy biosyntetické představují soubory reakcí, které spotřebovávají energii na vytváření složitých makromolekul a jejich podjednotek potřebných pro tvorbu, udržení a reprodukci složitých buněčných struktur. Dochází tedy z **anorganických molekul** k tvorbě **jednodušších monomerů**, z nich se syntetizují **makromolekuly** (nukleové kyseliny, proteiny, polysacharidy atd.), z nichž se vytváří **supramolekulární útvary** (např. membrány), tyto se podílí na stavbě **buněčných struktur** (např. ribozomy, nukleoid, bičíky jádro atd.) tvořících dohromady **buňku**. Nejvýznamnější biosyntetické reakce jsou spojeny s tvorbou sacharidů, aminokyselin, bílkovin a nukleových kyselin, pro jejichž biosyntézu získává buňka látky z vnějšího prostředí.

4.6.1 Biosyntéza monosacharidů

Biosyntéza monosacharidů probíhá u autotrofních a heterotrofních mikroorganismů odlišně. Foto- i chemoautotrofní bakterie syntetizují monosacharidy za využití CO₂ přes **Calvinův cyklus**. V závislosti na původu ATP a NADH₂ rozdělujeme asimilaci CO₂ na fotosyntetickou (ATP a redukční ekvivalenty pochází z fotochemických reakcí asimilačních barviv, ze sluneční energie) a chemosyntetickou (ATP a redukční ekvivalenty pochází z oxidace redukovaných anorganických sloučenin, chemická energie).

Akceptorem asimilovaného CO₂ je v Calvinově cyklu ribulózo-1,5-bifosfát. Po rozštěpení vzniklého produktu na 2 molekuly kyseliny 3-fosfoglycerové je tato dále přeměňována redukcí s NADH₂ na triózafosfát (glyceraldehyd-3-fosfát a dihydroxyacetonfosfát) za současné spotřeby ATP. Triózafosfát je základním článkem biosyntézy monosacharidů. Současně se regeneruje ribulózo-5-fosfát a za další spotřeby ATP vzniká ribulózo-1,5-bifosfát, který se znovu zapojuje do cyklu s další molekulou CO₂. Takto je v cyklu vázána 1/6 molekuly hexózy.



Konečným produktem Calvinova cyklu je fruktózo-6-fosfát. Mnohé meziprodukty cyklu jsou využívány na syntézu buněčných složek. Fosfoglycerát je výchozí sloučeninou pro syntézu pyruvátu a acetyl-CoA, ribulóza-5-fosfát je využíván na syntézu nukleotidů a hexózofosfáty na tvorbu polymerů.

Heterotrofní mikroorganismy nedovedou syntetizovat monosacharidy de novo, ale jsou odkázány na jejich externí zdroje. Nejčastěji je získávají rozkladem polysacharidů. Výchozí látkou pro syntézu je pyruvát nebo jiné meziprodukty tvořící se v citrátovém cyklu, EMP dráze, příp. v jiných metabolických drahách. Biosyntéza di- a polysacharidů je podmíněna aktivací sacharidových jednotek jejich převodem na makroergické deriváty. Vytváří se přitom uridinofosfoglukóza (UDP-glukóza). Ta se vyznačuje schopností přesunout UDP skupiny na jiný sacharid. Tvorba disacharidů je výsledkem reakce mezi UDP-hexózou a další jednotkou, která musí být fosforylována. Za odštěpení UDP se vytváří glykosidická vazba mezi dvěma sacharidy, z nichž jeden zůstává fosforylován a může reagovat s další molekulou aktivovaného sacharidu.

4.6.2 Biosyntéza aminokyselin a proteosyntéza

Biosyntéza vychází z metabolismu sacharidů, při jejichž odbourávání vznikají metabolity sloužící jako uhlíkatá kostra pro syntézu aminokyselin. Jsou to např. kyselina 3-fosfoglycerová, fosfoenolpyrohroznová, pyrohroznová z EMP dráhy, kyselina jantarová, ketoglutarová, fumarová, oxaloctová z citrátového cyklu, ribulózo-5-fosfát z pentózového cyklu. Aminací těchto meziproduktů amoniakem vznikají základní aminokyseliny alanin, kyseliny glutamová a asparágová, které jsou výchozími metabolity pro syntézu dalších aminokyselin. Z aminokyselin se syntetizují bílkoviny, na biosyntéze se podílí buněčné součásti, organely, enzymy, faktory a další látky.

Základní etapy proteosyntézy jsou transkripce a translace. **Transkripce** je přepis příslušné genetické informace DNA na mediátorovou RNA (mRNA), která se potom navazuje na ribozomy, kde se uskutečňuje vlastní syntéza polypeptidu bílkovin. Při **translaci** se genetická informace pomocí mRNA, tRNA a ribozomů přepíše do pořadí aminokyselin v peptidovém řetězci. Podstatou proteosyntézy je tedy vazba mRNA na ribozomy, vznik komplexu, na který se postupně navazují molekuly tRNA přinášející jednotlivé aminokyseliny.

4.6.3 Asimilace anorganického dusíku – fixace vzdušného dusíku

Buňka přijímá anorganický dusík ve formě vzdušného N_2 (je redukován na NH_3) nebo jako kationt NH_4^+ , který má stejný oxidační stupeň jako v buňce organicky vázaný dusík a může se tak začlenit přímo do organických látek aminací organických kyselin. Dále je dusík přijímán v dusičnanové formě, která však má vysoký oxidační stupeň a musí se v procesu asimilační redukce dusičnanů přeměnit na NH_4^+ za pomoci enzymu nitrátoreduktázy.

Důležitým biosyntetickým procesem v rámci celoplanetárního koloběhu dusíku je **fixace vzdušného (molekulového) dusíku** některými bakteriemi a sinicemi (více v kapitole o koloběhu dusíku).

Fixace molekulárního dusíku je významným místem vstupu dusíku do biosféry. Schopnost fixovat N_2 mají pouze některá prokaryota. Řada z nich žije volně, valná část jako symbiont s vyššími rostlinami. Klíčovým enzymem je nitrogenáza, která katalyzuje redukci N_2 až na amoniak. Nitrogenáza se skládá z monomeru dinitrogenázy a dinitrogenázy-reduktázy. Katalytická doména enzymu obsahuje tzv. FeMo-co centrum, které se skládá z atomů železa a molybdenu. Pro velmi nízkou reaktivitu N_2 je k jeho redukci na NH_3 (6 elektronů) vyžadována vysoká spotřeba energie (16-24 ATP). Nitrogenáza je účinně inhibována kyslíkem a tak jeho přístupu je bráněno různými mechanismy např. tvorba heterocyst u sinice, tvorba nodů u rostlin, popř. existence speciálních proteinů odstraňujících kyslík z okolí nitrogenázy. U aerobních bakterií rodu *Azotobacter* je toho docíleno tak, že aerobní respirace probíhající na cytoplasmatické membráně spotřebuje kyslík a vytvoří uvnitř buňky anaerobiózu.

Biosyntézou vznikají i další mnohdy i technologicky významné látky patřící k sekundárním metabolitům, jsou to například různá barviva, antibiotika nebo toxiny.

5 GENETIKA MIKROORGANISMŮ

5.1 Co zkoumá genetika mikroorganismů

Genetika mikroorganismů je věda, jejímž cílem je porozumět organizaci a funkci genů mikroorganismů a to za pomoci alterací (defektů) v nukleových kyselinách (např. pomocí UV-záření) a následném sledování jejich efektu na organismu (fenotypu).

Pro viry slouží jako genetický materiál buď DNA nebo RNA, které jsou uloženy v bílkovinných obalech. **Genetika virů** je pro lepší přehlednost součástí kapitoly o virech.

Bakteriální genetika využívá některých vlastností bakterií, které jsou pro její studium výhodná. Díky **krátkému generačnímu času** je možné provést mnoho experimentů v krátkém čase. Bakterie jsou **haploidní** (mají pouze jednu kopii či alelu každého genu, s výjimkou tRNA a rDNA) a proto je snadné identifikovat buňku s konkrétní mutací. **Reprodukují se asexuálně**, díky čemuž je není nutno vzájemně křížit a po každém zásahu do genomu je mutace přítomna u celé populace. Jsou **snadno klonovatelné**, v každé kolonii jsou

geneticky a fyziologicky rovnocenné bakterie. Dají se **jednoduše selektovat** navozením takových podmínek, při kterých vyrostou pouze žádaní mutanty.

Mezi modelové mikroorganismy lze zařadit bakterii *Escherichia coli*. *E. coli* je neprostudovanějším organismem vůbec, genom této bakterie byl jako první kompletně sekvenován. Tato bakterie se také nejvíce používala a používá pro fyziologické, biochemické a genetické výzkumy.

Genetika Archae se oproti bakteriální genetice v mnohém odlišuje. *Archae* mají více příbuzných mechanismů s eukaryoty (struktura genů, replikace, transkripce, translace), jsou obtížněji kultivovatelné a nedají se na nich aplikovat zásady klasické genetiky, mají odlišnou buněčnou stavbu, což způsobuje problémy při genetických manipulacích.

5.2 Genetika prokaryotních mikroorganismů

Tak zvaná **genetická informace** je uložena v **bakteriálním chromosomu**. Dělení buňky je vázáno na **replikaci DNA**, jež zajišťuje předání veškeré informace do potomstva. Replikace je **semikonzervativní**, neboť každý z obou provazců se kopíruje do svého protějšku a vzniknou dvě stejné nové molekuly, z nichž každá obsahuje polovinu té původní.

Soubor genů uložených na chromosomu bakterie se označuje jako **genom**. **Gen** si lze představit jako lineární soubor nukleotidů určitým způsobem organizovaný, určuje, kóduje funkční bílkovinu nebo různé molekuly RNA. Geny se mohou koordinovaně exprimovat, tj. být aktivní ve skupině, jež se označuje jako **operon**, a tvořit tak jednu funkční jednotku.

5.2.1 Chromosom prokaryot

Prokaryotní chromosom je až na malé výjimky **kruhový** a v naprosté většině případů je pouze **jeden**, což má velký význam při reprodukci a replikaci. DNA je vždy **dvouřetězcová**.

Kromě chromosomální DNA se v buňce nachází **mimochromosomální DNA – plasmidy**, které často obsahují geny poskytující selekční výhody (např. rezistence k antibiotikům, těžkým kovům, determinanty virulence aj.). Plasmidy, které se v buňce replikují nezávisle na bakteriálním chromosomu nazýváme **replikony**. Ovšem existují i takové, jako např. F-plasmid u *E. coli*, které se mohou integrovat do chromosomu a následně se replikují spolu s ním. Těmto plasmidům říkáme **episomy**. *Archaea* na plasmidech většinou rezistentní markery nemají. Většinou vlastní plasmidy bez zvláštních nebo s nám neznámými funkcemi, tzv. **kryptické plasmidy**.

Chromosom prokaryot je **menší než u eukaryot**, ale velikost je velmi rozdílná (0,6 až 9 Mbp). Záleží na obsahu genů, kolik kóduje biosyntetických drah (symbionti mají menší chromosom než složité půdní bakterie). Bakterie nemají jádro, DNA je **volně** v cytoplazmě, je jednoduše přístupná a replikace, transkripce i translace probíhají dohromady. Neobsahuje histony, avšak na molekulu DNA jsou navázány čtyři druhy „histonům podobných“ (histone-like) proteinů a vytváří tak kompaktní komplex vyššího řádu, označovaný jako **nukleoid**. *Archae* vytvářejí **chromatin** (histony a alba proteiny). Bakteriální chromosom je napojen na vnitřní stranu cytoplasmatické membrány, většinou prostřednictvím **mesozomu**.

V buňce, která roste, je ve stejné době uskutečňován jak vlastní růst buňky, tak i replikace chromosomu. Protože replikace chromosomu předbíhá dělení buňky, může buňka obsahovat i čtyři chromosomy.

75 až 95 % genomu tvoří kódující sekvence. Geny jsou v **jedné kopii** (mimo rRNA a tRNA). Zastoupení **GC párů** je velice rozdílné mezi jednotlivými druhy a pro jednotlivé druhy charakteristické, díky čemuž je možné dohledávat různé horizontální přenosy DNA a zkoumat evoluční závislosti.

Prokaryota jsou **haploidní** (s nestabilní diploidní fází během reprodukčního cyklu a částečnou diploiditou při některých formách genetických změn – konjugace, transdukce).

Genetický materiál se vyznačuje velkou **plasticitou** a **proměnlivostí** (i přes absenci sexuální reprodukce).

5.2.2 Značení bakteriálního genotypu

Kmen, který je izolován z přírodních zdrojů se označuje jako **divoký kmen** (*wild type*). Bakteriální genotyp se vždy označuje třemi malými a koncovým velkým písmenem (např. hisC), které charakterizují genový produkt (např. protein HisC). Mutantní genotyp se dále označuje **číslicí** (hisC1).

5.2.3 Replikace

U chromosomálního typu replikace, který ale využívají také některé plasmidy, nasedají proteiny na replikon (úsek DNA, který je zdvojen v rámci jednoho cyklu replikace DNA), DNA je rozplétána a replikována do obou stran. Tohoto mechanismu se účastní cca 60 proteinů – kódovány chromosomálně a velmi specificky nasedají na DNA v místě *oriC*.

5.2.4 Struktura genomu

Z dvoušroubovice je vždy kódující pouze **jedno vlákno**, některé geny jsou přepisovány po směru replikace, jiné proti. Každý gen má promotorovou část (AT bohatá), na kterou nasedá **DNA polymeráza**, následuje začátek transkripce, přepisované strukturní místo a terminátor. mRNA je často nestabilní, proto nedochází k žádným posttranskripčním modifikacím.

Mimo částí kódující strukturní geny, genom bakterií obsahuje i části nekódující žádný metabolický produkt, ale čistě regulační sekvence. Ty ovlivňují například iniciaci transkripce. To je pro bakterie výhodné zejména z důvodu častých změn prostředí a nutnosti kódovat v genomu více metabolických drah a adaptaci na různé zdroje.

Archae mají jinou strukturu polymerázy. Musí vznikat preiniciační komplex, na který teprve potom nasedá polymeráza, struktura promotorů je také odlišná, podobnější eukaryotům. Regulace je bakteriím velmi podobná.

5.2.5 Plasticita prokaryotického genomu

Plasticita prokaryotického genomu není způsobena pouze **mutacemi** (bodové mutace, delece, inserce), ale z naprosté většiny **mobilními elementy** (delece, inserce, duplikace) a **horizontálním přenosem** (vzájemné sdílení mobilních elementů – transformace, konjugace, transdukce).

Po **přijetí cizí DNA** ji čekají čtyři možné osudy: (i) **homologní rekombinace** (záměna alel) a začlenění do chromosomu akceptora, (ii) vznik **parciálně diploidního klonu**, kdy je v buňce uchováván plasmid, který je schopen replikovat se nezávisle na chromosomu, (iii) vznik **parciálně diploidní buňky**, plasmid je uchováván pouze v jedné linii, nepředává se do dceřiných buněk, nedělí se, nepřepisuje se, čímž se procentuální zastoupení plasmidu v populaci se po určité době snižuje a (iv) **restrikce cizí DNA**, její rozštípání a degradace.

5.2.5.1 Mobilní genetické elementy

Variabilita mikroorganismů spočívá zejména v přítomnosti **mobilních elementů**. Ve většině případů zvýhodňují svého hostitele vůči selekčním tlakům, čímž se fixují v populaci. Jsou schopny nést různé geny, a to například geny rezistence proti antibiotikům, geny toxinů atp. Někdy mohou být geny faktorů patogenity přítomny v jediném místě na mobilním elementu. Takovéto sekvence nazýváme **ostrovy patogenity**. U bakterií sem patří např. některé geny zodpovědné za rezistenci k určitému antibiotiku nebo skupina takových genů, neboť někdy jsou součástí plasmidu, jindy součástí chromosomu.

Segmenty schopné přemisťovat se z jedné části genomu na druhou (v rámci chromosomu, z fága, z plasmidu) se označují jako tzv. **skákájící geny**. Mobilní elementy jsou řazeny do dvou skupin (i) **extrachromosomální**, kam patří plasmidy a fágy a (ii) **integrované mobilní elementy** (např. transpozony).

Mobilní elementy jsou v rámci genomu a mezi buňkami přenášeny enzymem **transpozázou** (transponázou). Od epizomů i ostatních plasmidů se však liší tím, že se nemohou replikovat samy, neboť neobsahují úsek zajišťující autonomní replikaci. Mohou se tedy replikovat pouze jako součást chromosomu nebo některého plasmidu. Jsou součástí všech prokaryot (*Bacteria* i *Archea*), ale i eukaryot (lidský genom je ze 40 % transpozomálního původu). U každé této skupiny však došlo k vlastní evoluci a proto se od sebe liší.

5.2.5.2 Horizontální přenos

S horizontálním přenosem souvisí **genetická rekombinace**, fyzická výměna mezi genetickými elementy, záměna částí genomů dvou organismů velkého rozsahu. U eukaryot k rekombinaci dochází při každém dělení buňky, u prokaryot je zcela náhodná a dochází k ní pouze (a skoro vždy) při objevení homologu v dsDNA, a to zvláště u **rychle rostoucích buněk** (v buňce se mohou vyskytovat až tři chromosomy najednou), během **horizontálního transportu** a jako **postreplikační rekombinace**, ke které dochází při opravě poškozené DNA.

Díky horizontálnímu transportu jsou bakterie schopny získávat výhodné vlastnosti, například rezistenci, zvláštní typy metabolismů aj. Přenos těchto elementů je umožněn pouze jedním směrem, z **donorové buňky** se přenáší pouze část jejího genetického materiálu do **buňky recipientní**. Pokud buňka již tento element má, nepřijímá žádný další. Donor nikdy neposkytuje celý chromosom. Původní genom se označuje jako **endogenot** a přenášená část DNA donorové buňky jako **exogenot**.

Homologní rekombinace, tedy výměna homologních sekvencí DNA, probíhající v několika krocích: nastřížení donorové DNA, vmezeření homologní sekvence do recipientní DNA, výměna homologních sekvencí, vznik heteroduplexu. Vniká neúplná zygota, **merozygota**. Merozygota není stabilním stavem, krátce po jejím vytvoření dochází ke **crossing-overu** (štěpení dvou vláken DNA a jejich výměna) mezi homologickými úseky endogenota a exogenota za vzniku rekombinantního chromosomu s následným vyštěpením rekombinantní buňky (**rekombinanta**).

Donorová DNA se do bakterie může dostat třemi způsoby: konjugací, transformací nebo transdukci.

Přenos genetického materiálu cestou přímého kontaktu mezi oběma buňkami se označuje jako konjugace (**spájení**), která je vázaná na plasmidy schopné se replikovat a přenášet z buňky do buňky. Dochází k jednosměrnému přechodu genetického materiálu z jedné buňky do druhé. Konjugace umožňuje získat ze dvou kmenů bakterie jedince, kteří obsahují některé geny jednoho rodiče a jiné druhého rodiče, čehož se využívá při šlechtění bakteriálních kmenů. Aby mohla být konjugace uskutečněna, musí být konjugační buňky „opačné polarity“. Ta je dána specifickým faktorem – **fertilitním faktorem (F faktor)**. F faktor je cirkulární dvouřetězcová DNA s autonomní replikací. Jde tedy o konjugativní plasmid, který nese specifické geny zodpovědné za proces konjugace a také geny determinující specifické struktury povrchu buňky (např. pili), které jsou nezbytné pro konjugaci. Pili umožňují vzájemný kontakt mezi buňkami a sexuální pili jsou potom zodpovědné za vlastní přenos DNA prostřednictvím konjugačního můstku. Buňky nesoucí fertilitní faktor jsou označovány jako **F⁺** a vystupují jako **buňky donorové**. Při konjugaci se odvine jeden řetězec DNA z chromosomu donorové buňky a přechází do **recipientní buňky F⁻** (neobsahuje F faktor). Tento proces je jednosměrný. Buňky, které vlastnosti přenášejí (F⁺), nejsou schopny je přijímat, a buňky, které přijímají (F⁻), nejsou schopny předávat. Geny se přenášejí do recipientní buňky po fyzickém kontaktu konjugací. plasmid F faktor může nést rozličné geny určující syntézu enzymů, rezistenci k různým látkám, k antibiotikům anebo geny s jinými funkcemi. Vedle chromosomální DNA přechází do F⁻ buňky při konjugaci také F faktor a buňka se mění na F⁺, která může konjugovat s další F⁻ buňkou. Recipientní buňka, která přijala DNA z donorové buňky, se nazývá **transkonjugant**. Získaný znak se po několika generacích „vytrácí“.

Transformace je vázaná na schopnost buněk akceptovat volné DNA elementy z prostředí. Ty se přichytí na buněčnou stěnu přijímající buňky, aktivně pronikají do buňky a rekombinují se s DNA přijímající buňky. Chromosomální DNA donora a recipienta musí být homologní s přibližně stejnou sekvencí nukleotidů. Rekombinantní transformanti tedy vznikají přenosem DNA kmenů stejného nebo velice příbuzného druhu, aby mohlo dojít ke crossing-overu mezi homologními úseky DNA. Přenos plasmidové DNA je možné uskutečnit mezi různými druhy nebo i různými rody bakterií. Rozlišuje se přirozená a navozená. Transformace se využívá při genových manipulacích v genovém inženýrství. Rekombinantní buňka se označuje jako **transformant**.

Transdukce je přenesení jednoho až tří genů z jedné bakteriální buňky do druhé prostřednictvím bakteriofága. DNA je přenášena v kapsidě bakteriofágů a to buď díky přeskočení mobilního elementu, nebo při chybách v pakování genetické informace bakteriofágu. Transdukující fágy jsou defektní, protože jejich genom není tvořen výhradně fágovou DNA a ztrácejí schopnost lyzovat buňku. Fág ale musí být schopen přejít z virulentní fáze, v níž se rozloží genom donorové buňky do mírné fáze, ve které infikuje recipientní buňku a současně jí předá část genomu donorové buňky. Jsou popisovány tři typy transdukce: (i) **generální** (obecná), (ii) **abortivní** (přenesená část chromosomu se nezabuduje do chromosomu recipientní buňky a nereplikuje se, je ovlivněna jen recipientní buňka, vlastnosti se nedědí), (iii) **specializovaná** (přenos pouze určitých genů). Nejčastěji využívaným bakteriofágem v molekulární biologii je **fág lambda** bakterie *E. coli*. Buňka, která přijala DNA přenesenou bakteriofágem se označuje jako **transduktant**.

5.2.5.3 Mutace u prokaryot

Mutace je změna genetické informace kódované DNA, většinou malého rozsahu. **Mutant** je organismus nesoucí příslušnou mutaci. Vytváření **mutant** je základním předpokladem pro jakoukoliv genetickou studii.

Nespecifické mutace jsou vytvořeny v celé populaci a následnou selekcí se vybírá defektní v žádaném znaku (např. pomocí mutagenních látek jako UV záření nebo inserce transpozonů). **Specifické mutace** vznikají cílenou změnou konkrétního genu a následně sledujeme její vliv na fenotyp. Předpokladem je však nutná znalost příslušného genu i jeho okolí. Využívá se zejména rekombinantních metod.

Spontánní (samovolné) mutace bez známých vnějších příčin jako důsledek náhodných chyb při replikaci DNA vznikají velmi zřídka (10^{-7} až 10^{-10}), působením chemických nebo fyzikálních mutagenů na DNA je možno tuto pravděpodobnost zvýšit (10^{-3} až 10^{-5}) a vyvolat **mutace indukované**.

U prokaryot může docházet k tzv. **genovým (bodovým) mutacím**, většinou se mění jediná báze dvouřetězcové DNA, ale při její replikaci se proti změněné bázi napojí její příslušná párovací báze a tak dojde ke změně páru bází. Bodové mutace mají několik podob. **Tranzice** je výměna jediné purinové báze za jinou a výměna jedné pyrimidinové báze za jinou. **Transverze** je výměna jedné purinové báze za pyrimidinovou a naopak. Mutageny jsou analogy purinových a pyrimidinových bází, alkylační činidla, hydroxylamin. Dalšími typy mutací jsou **inzerce** – vsunutí nové báze a **delece** – ztráta jedné báze z řetězce DNA. Fenotypovým projevem je tzv. **mutace beze smyslu** (nonsens-mutace), objeví se kodon, který

nekóduje aminokyselinu a syntéza bílkovin se přeruší, vznikne jen krátký peptidový řetězec. U **mutace s chybným smyslem (missense-mutace)** vzniklé tanzicí nebo transverzí se tvoří bílkovina, lišící se od standardní bílkoviny jedinou aminokyselinou, ale obvykle mívá zachovanou původní aktivitu.

5.2.5.3.1 Fenotypový projev mutací

Mutanty se obvykle dělí podle toho, který gen byl mutací zasažen na: (i) **morfologické mutanty**, které je možné detekovat mikroskopicky – mutované buňky mají např. výrazně protáhlý tvar, mutací se rovněž mění i tvar a struktura kolonií, (ii) **fyziologické mutanty** lišící se od divokých typů citlivostí k antibiotikům, teplotě, bakteriofágům, ve schopnosti konjugace, sporulace a (iii) **biochemické mutanty**, pro něž je charakteristická změna metabolické dráhy, např. ztráta schopnosti syntetizovat některé důležité faktory (auxotrofní mutanty). Toto rozdělení je ovšem subjektivní, protože jak změny morfologické, tak i fyziologické jsou ve své podstatě odrazem změn biochemických. Vzniklý fenotyp je výsledkem vyvolané změny metabolismu.

Auxotrofní mutant je takový organismus, který mutací ztratil schopnost syntetizovat růstový faktor (vitamin, aminokyselinu, puriny nebo pyrimidiny). Tito mutanti rostou pouze na kompletních půdách obsahujících látku, kterou sami nejsou schopni syntetizovat.

5.3 Genetika eukaryotních mikroorganismů

5.3.1 Chromosom eukaryot

Chromosom eukaryotických mikroorganismů, tj. kvasinek a mikromycet, má charakteristickou strukturu eukaryotického chromosomu. Eukaryotická DNA má daleko **složitější vyšší struktury**, velmi charakteristické a jednotné v celé této obrovské skupině organismů.

Dvoušroubovice DNA je navinuta na proteinová tělíška z osmi molekul bazických proteinů **histonů**, molekula DNA spolu s histony vytváří tzv. **nukleozomy**. Asi 150bp je na tělísku v necelých dvou otáčkách a 50bp v mezeře. Vlákno je podobné korálkům na šňůrce, asi 10 nm široké a DNA v něm délkově kondenzuje 6x. 10 nm vlákno se hustě šroubovitě stáčí do tzv. **solenoidu** (vlákno 30 nm široké, kondenzace 40x) a ten se napojuje na **nehistonové proteiny**, které jej složí do smyček vlákna 300 nm (kondenzace 1000x). V tomto stavu existuje DNA *in vivo* v interfázi; při mitotické kondenzaci chromosomů se zkrátí 300 nm vlákno složitým způsobem ještě asi 10x.

5.3.2 Proměnlivost eukaryotického genomu

Kromě **mutací** způsobuje změnu genotypu také výměna genetického materiálu, která je umožněna tzv. **rekombinacemi**; probíhá jednak při pohlavním rozmnožování, při tzv. **parasexuálních cyklech plísní**, dále při přenosu genetického materiálu pomocí speciálních **přenašečů (vektorů)** a velmi vzácně i při **mitotickém dělení jádra**.

Pohlavní rozmnožování je největším zdrojem proměnlivosti u eukaryotických mikroorganismů.

5.3.2.1 Mutace u eukaryot

Podle rozsahu změny genetického materiálu dělíme mutace na **genové** (viz kapitola o mutacích u prokaryot), **chromosomové** a **genomové**.

5.3.2.1.1 Chromosomové mutace

Chromosomové mutace jsou provázené změnou několika genů, které vzniknou zlomem jednoho nebo více chromosomů a jejich chybným znovuspojením. Chromosomové mutace jsou známy pouze u eukaryotických organismů.

Těchto mutací je několik typů a mezi nejvýznamnější patří: **koncová deficience** (ztráta na koncové části chromosomu), **interkalární delece** (ztráta na vnitřní části chromosomu), **inverze** (převrácení části chromosomu), **translokace** (přemístění části chromosomu na jiný chromosom), **duplikace** (zdvojení totožné části chromosomu).

Hlavní účinek těchto mutací spočívá v tom, že působí rušivě při meióze ve stadiu párování chromosomů, čímž se snižuje sporulační schopnost a vznikají neživotné spory.

5.3.2.1.2 Genomové mutace

Genomové mutace spočívají ve změně počtu chromosomů. Početní změny celistvých chromosomových sad se označují jako **polyploidie**. V jádře je až 6 sad chromosomů. Setkáváme se s ní u kvasinek. Jako **aneuploidie** se označuje ztráta nebo nadbytečná přítomnost některých jednotlivých chromosomů v jaderné sadě.

Genomové mutace vznikají u eukaryot působením **mitotických jedů** během mitózy diploidních jader.

5.3.3 Genetika kvasinek

Druhým významným modelovým mikroorganismem po *E. coli* je *Saccharomyces cerevisiae*. Tato kvasinka je prvním eukaryotickým organismem, u kterého byla zjištěna celá

sekvence nukleotidů v genomové DNA. Zároveň tento mikroorganismus může existovat v haploidním stavu, což umožňuje snadnou přípravu nejrůznějších mutantních kmenů. Haploidní formy kvasinek lze křížit, získávat tak diploidní kultury, jejichž sporulací získané haploidní potomstvo lze podrobovat klasické genetické analýze. *Saccharomyces cerevisiae* obsahuje přirozený jaderný plasmid, který se stal základem pro přípravu kvasinkových vektorů, používaných v genovém inženýrství. Význam této kvasinky jako modelového organismu vzrostl dále poté, co se ukázalo, že řada jejích životních dějů má analogii v obdobných procesech v savčí buňce.

5.3.3.1 Chromosomální dědičnost kvasinek

Křížením dvou jedinců lišících se ve dvou genech vznikají spory o dvou různých genotypech, přičemž dva jsou rodičovského typu.

Meióza je charakteristická redukčním dělením a párováním homologních chromosomů, synapsí probíhající před redukčním dělením. Při synapsi je každý chromosom již podélně rozdělen na dvě chromatidy spojené centromerou. Během redukčního dělení jeden chromosom z daného páru putuje k jednomu pólu jádra a druhý ke druhému pólu zcela nezávisle na tom, od kterého z rodičů pocházel. V tomto případě se uplatňuje volná kombinovatelnost platící pouze pro geny umístěné na nehomologních chromosomech. Při synapsi však může docházet k překřížení (crossing-overu) chromatid různých centromer. To vede k výměně úseku chromosomů, důsledkem čehož je vznik **rekombinovaných genotypů**. Potom bude mít každá spora jiný genotyp a jsou označovány jako **tetratypové (TT)**. V závislosti na zmenšující se vzdálenosti genů od centromery klesá i frekvence TT, ale zůstává zachován součet rodičovských a rekombinovaných genotypů ($AB + ab = Ab + aB$).

Rekombinovaný genotyp vzniká i tehdy, jsou-li oba studované geny na témže chromosomu. Charakteristické pro toto křížení je, že součet spor rodičovských genotypů je vyšší než součet genotypů rekombinovaných. Frekvence rekombinací je určována z počtu tetratypů a vzdálenosti mezi danými znaky jako polovina procenta tetratypů.

Ke stanovení štěpných poměrů křížení u mikroorganismů je využívána tzv. **tetrádová analýza**. Ta však předpokládá vytváření 4 spor ve vřecku. Z tohoto důvodu je pohlavní rozmnožování z genetického hlediska prostudováno jen u některých askomycet, např. u *S. cerevisiae* nebo *Schizosaccharomyces pombe*. Jde o mikroorganismy, v jejichž asku jsou vytvářeny vždy 4 spory. Tetrádovou analýzou je možné zjistit vazbu genů, vazbu mezi genem a centromerou apod.

5.3.3.2 Plasmidy kvasinek

Nízkomolekulární dvouřetězcová DNA kruhové struktury byla zjištěna u některých kvasinek, např. *Saccharomyces cerevisiae* nebo *Schizosaccharomyces pombe*. Nejlépe byl prostudován plasmid *S. cerevisiae*, nazývaný podle délky své molekuly DNA 2 μ m DNA. Vyskytuje se v jádře v 60 až 100 kopiích na diploidní buňku. Replikace tohoto plasmidu probíhá obdobným způsobem jako replikace chromosomální DNA a vyžaduje také stejné enzymy. Zahájení replikace plasmidu 2 μ m probíhá synchronně s replikací DNA chromosomální. Plasmid 2 μ m, podobně jako další kvasinkové plasmidy, se využívá v genovém inženýrství pro klonování (pomnožení) a expresi živočišných genů v buňkách *S. cerevisiae*.

5.3.3.3 Mitochondriální dědičnost kvasinek

Mitochondriální dědičnost byla nejlépe prostudována u kvasinek. Jejimi hlavními znaky jsou mitotická segregace a nemendelovské segregáční poměry při meióze.

Nejčastější **mitochondriální mutací** u kvasinek je ztráta schopnosti dýchání, tj. schopnosti spotřebovat plynný kyslík a využívat necukerné zdroje energie. Takové mutanty získávají energii pouze zkvašováním cukrů a rozmnožují se i na cukerných médiích pomaleji než standardní kmeny (tvoří menší kolonie). Respiračně deficitní mutanty kvasinek mají negativní význam v kvasném průmyslu, neboť jsou méně výkonné (také anaerobní glykolýza je u nich pomalejší než u standardních typů).

5.3.4 Parasexuální cyklus mikroskopických hub

Některé mikroskopické houby nejsou schopny tvořit pohlavní spory. Jestliže naočkujeme takovéto dva kmeny odlišných genotypů (hlavně aspergily a penicilia), může dojít k fúzi, čili **anastomoze** jejich hyf a vzniká **heterokaryotní mycelium**. Z tohoto mycelia vyrůstají jednobuněčné konidie s genotypem jednoho z rodičů. Výskyt různých typů konidií se nazývá **dislokace heterokaryota**. Velmi vzácně (asi s frekvencí 10^{-7}) se v myceliu spájejí dvě sousední jádra (**karyogamie**) a objevuje se třetí typ konidií. V diploidním jádře může během mitózy nastat **crossing-over**. Frekvence crossing-overu je řádově 10^{-3} . Mitotické rekombinace probíhají i při vegetativním rozmnožování kvasinek a jsou hlavní příčinou proměnlivosti průmyslově vyráběných kmenů kvasinek.

6 ZAŘAZENÍ MIKROORGANISMŮ V SYSTÉMU ORGANISMŮ

Po objevení mikroorganismů byla zřejmá snaha je zařadit do systému známých organismů. Organismy byly řazeny do společných jednotek dle fenotypových vlastností, především dle morfologické, případně fyziologické podobnosti. Poznatky o mikroorganismech však byly velmi kusé a tak, když švédský botanik **Carl Linné** (1707 až 1778), který vytvořil v podstatě dodnes používaný systém klasifikace, zařadil mikroorganismy v rámci širší skupiny červi (*Vermes*) do užší kategorie *Chaos*, což jistě dostatečně svědčí o tehdejších poznatcích o této skupině organismů. Jako samostatnou říši vyčlenil mikroorganismy až v roce 1866 německý přírodovědec **Ernst Haeckel** a kterou nazval *Protista* (z latiny – znamená jednobuněčný organismus mikroskopických rozměrů).

Ještě donedávna platilo dělení organismů do pěti říší: **Monera**, kam byly řazeny mikroorganismy s prokaryotickou stavbou buňky (bakterie, sinice a aktinomycety), **Protista**, kam patřily jednobuněčné mikroskopické eukaryotické organismy (kvasinky, prvoci a jednobuněčné řasy), **Fungi**, tedy houby a dále **Plantae**, tj. rostliny a **Animalia**, kam se řadili živočichové. Příslušníci těchto pěti říší byli rozděleni na **prokaryotní** organismy (*Monera*) a **eukaryotní** z důvodu chybějící či přítomné jaderné membrány. Tyto dvě kategorie byly považovány za nezávislé s tím, že většina genetické biodiverzity se nachází ve skupině eukaryot, zvláště pak jejich mnohobuněčných forem.

Většina biologů považovala, či ještě považuje prokaryota za primitivní, jednoduché a relativně uniformní v jejich vlastnostech. Avšak v poslední době vědci, zabývající se molekulární fylogenezí, zrevidovali obecný pohled na evoluci a na diverzitu života. Tu můžeme určit porovnáním řazení všech nukleotidů v jejich odpovídajících genomech. Vzhledem k praktičnosti a menší ekonomické náročnosti a také k nepatrné rychlosti evolučních změn malých podjednotek genových sekvencí, byla pro schémata fylogenetické příbuznosti vybrána analýza sekvence genů přepisovaných do molekul tzv. **16S rRNA** prokaryotických organismů nebo **18S rRNA** eukaryotických organismů. Sekvence genů rRNA malých ribozomových podjednotek je důležitým translačním faktorem. Je spjata s evolucí translace a jako taková patří mezi nejstarší biologické makromolekuly. Je funkčně konstantní a vyskytuje se všech organismech. Proto jsou tedy porovnávány tyto charakteristické, homologní („pradávné“, „konzervativní“) geny z rozdílných organismů a je porovnáván a hodnocen počet rozdílů v jejich sekvencích nukleotidů. Část sekvenčních rozdílů v souboru sekvencí, tedy evoluční vzdálenost, je využita k vytvoření **trojdoménového**

fylogenetického stromu života, tedy k mapám evoluční diverzity. Všechny známé buněčné organismy jsou zde rozděleny do tří domén:

1. doména *Archaea*,
2. doména *Bacteria* (bakterie, sinice),
3. doména *Eukarya* (prvoci, houby, rostliny, živočichové).

Dle těchto nových poznatků se prokaryotní a eukaryotní organismy pravděpodobně vyvinuly z hypotetického společného předka, jemuž mohla předcházet ještě nějaká jednodušší živá soustava nazývaná **progenot**, jehož vznik se předpokládá v období 3,8 až 4,2 miliardy let. Prapůvodní eukaryotní větev je zhruba stejně stará jako prapůvodní prokaryotní větev. Obecně uznávaná myšlenka, že se eukaryotická buňka vyvinula před 1 až 1,5 miliardou let fúzí dvou buněk prokaryotních, se tak nyní jeví jako nesprávná. Nalezený velký vývojový rozdíl mezi *Archaea* a *Bacteria* rozbíjí hluboce zakořeněný názor o evoluční jednotě uvnitř prokaryotních organismů řazených dosud do společné domény. Vycházíme-li tedy z toho, že nynější organismy se vyvinuly z progenota, nejdříve se oddělila větev domény bakterie a druhou větví byla jedna společná pro archebakterie a eukaryotní organismy. Z této druhé, zpočátku společné větve, se v průběhu fylogeneze o něco později oddělila větev pro archebakterie a dále postupoval samostatně vývoj eukaryot až k jejich diferenciaci na jednotlivé skupiny (rostliny, prvoci atd.). Z hlediska různorodosti rRNA představují však mnohobuněčné formy života, tedy živočichové, rostliny a houby homogennější skupinu než se nám jeví. Ve skutečnosti jsou na této škále člověk a myš stěží rozlišitelní, kdežto pro nás na první pohled podobné skupiny bakterií jsou geneticky velice vzdáleny. Trojdoménový strom života poskytuje tedy nový pohled na biodiverzitu, podtrhujíc, že většina genetické bohatosti a diverzity je právě mikrobiálního původu a to jak prokaryotních, tak eukaryotních mikroorganismů.

Názvosloví mikroorganismů je binomické, stejně jako u rostlin a živočichů. Základní taxonomickou jednotkou je druh, který se skládá ze dvou slov: podstatného jména, které určuje rod a přídavného jména, které určuje druh (např. *Lactococcus lactis*). U druhu můžeme u eukaryotických mikroorganismů rozlišovat ještě několik odrůd (lat. *varietas*), které se mohou odlišovat ještě nějakou méně významnou vlastností. U bakterií se používá jako taxon též poddruh (lat. *subspecies*), lišící se určitou fyziologickou vlastností. Kmen (lat. *typus*) označuje klon pocházející z jedné buňky udržovaný v laboratorních podmínkách se specifickými vlastnostmi odlišujících ho od jiných kmenů téhož druhu. Někdy ho označujeme jako biotyp (biovar), jestliže má specifické fyziologické vlastnosti, serotyp (serovar) má antigenní vlastnosti, pathotyp (pathovar) má patogenní vlastnost pro určitého hostitele,

monotyp (morfovar) se specifickými morfologickými vlastnostmi, fagotyp (fagovar) se schopností být hostitelem určitého viru (fága).

Zde je třeba podotknout, že do těchto systémů třídění mikroorganismů (starších i novějších) nejsou zařazeny zvláštní typy „mikroorganismů“ bez buněčné struktury (především viry), které nesplňují základní atributy živých systémů schopných samostatné existence, především rozmnožování bez pomoci metabolismu hostitelské buňky.

6.1 Mikroorganismy bez buněčné struktury

Nebuněčné organismy nejsou zařazeny do systému „trojdoménového stromu života“. Mezi nebuněčné organismy patří systémy, ve kterých nelze rozlišit jakékoli spolupracující struktury či orgány tvořící buňku a které nesplňují řadu ze základních charakteristik živého organismu, tou je schopnost transformace energie, ale především nejsou schopny autoreprodukce. A vyvstává zde tedy otázka, zda je lze nazývat organismy v pravém smyslu slova, jsou na hranici živé hmoty. Jedná se tedy o submikroskopické „mikroorganismy“, které nejsou schopny samostatné existence, které se neumí množit, ale jsou pomnožovány buněčným aparátem jejich hostitelů. Patří sem **viry**, viroidy, virusoidy a **priony**. Velikost těchto „mikroorganismů“ se pohybuje v rozmezí desítek až stovek nanometrů.

6.1.1 Viry

Viry jsou nebuněčné částice, nejmenší „organismy“ o velikosti zhruba 15 až 450 nm. Reprezentují předbuněčnou úroveň života, to znamená, že u nich nenajdeme žádné útvary či orgány, které najdeme v buňce. Viry tím pádem nemají vlastní metabolismus, nedochází u nich k transformaci energie a nedovedou se samy rozmnožovat. Jsou tak plně odkázány na metabolismus hostitelské buňky, kterou také nezbytně potřebují ke svému rozmnožování. Jedná se tedy o obligátní intracelulární parazity, patogeny. Jestliže nesplňují základní atributy příslušející živým systémům, především schopnost autoreprodukce, diskutovalo se dlouho po jejich objevu o tom, zda je tedy považovat za živé či neživé systémy. Jsou to tedy **nejmenší „organismy“** na hranici živé hmoty. Tento spor o to zda zařadit viry mezi živé či neživé ukončil významný francouzský parazitolog a virolog, nositel Nobelovy ceny André Lwoff lakonickým konstatováním vystihujícím plně svébytnost virů: „virus je virus“.

Virus mimo hostitelskou buňku je chápán jako neživý (neprojevuje žádné známky a vlastnosti života). Lze s nimi zacházet způsobem, který by živé organismy zahubil – můžeme je rozložit a složit, aniž by utrpěla schopnost infikovat hostitele. Všechny životní

funkce provádí v závislosti na translačním systému hostitelské buňky, informace uložená v DNA nebo RNA viru se překládá do jejich bílkovin na ribozomech hostitelské buňky.

Slovo „virus“ pocházející z latiny znamená „jed“ a jako první ho použil anglický lékař **Edward Jenner** (1749 až 1823), který provedl první očkování proti pravým neštovicím živou vakcínou získanou z kravských neštovic, ačkoliv o existenci virů nemohl ještě vědět.

6.1.1.1 Složení a struktura virů

Zakladní částicí viru je nukleová kyselina, na rozdíl od buněčných organismů, které obsahují obě, virová částice obsahuje vždy jen **jeden typ nukleové kyseliny** (buď DNA nebo RNA) fungující jako genom. Nukleová kyselina je chráněna před okolními vlivy proteinovým pláštěm – **kapsidou**, která je složena z jednotlivých bílkovinných podjednotek zvaných **kapsomery**. Funkcí kapsidy je též adsorpce, tedy navázání na hostitelskou buňku. Počet kapsomer tvořících kapsidu je charakteristický pro jednotlivé druhy virů. Například kapsida viru tabákové mozaiky je vytvořena z 2 100 kapsomer, virus způsobující virovou mozaiku rajčat má pouze 60 kapsomer. Proteiny a kapsida je kódována geny nukleové kyseliny patřičného viru a syntetizovány na ribosomech hostitelské buňky. Komplex nukleové kyseliny spolu s kapsidou se označuje jako **nukleokapsida**.

Viry můžeme dělit podle celé řady kritérií. Základním orientačním kritériem rozdělení je, jakou obsahují nukleovou kyselinu a podle toho je označujeme jako:

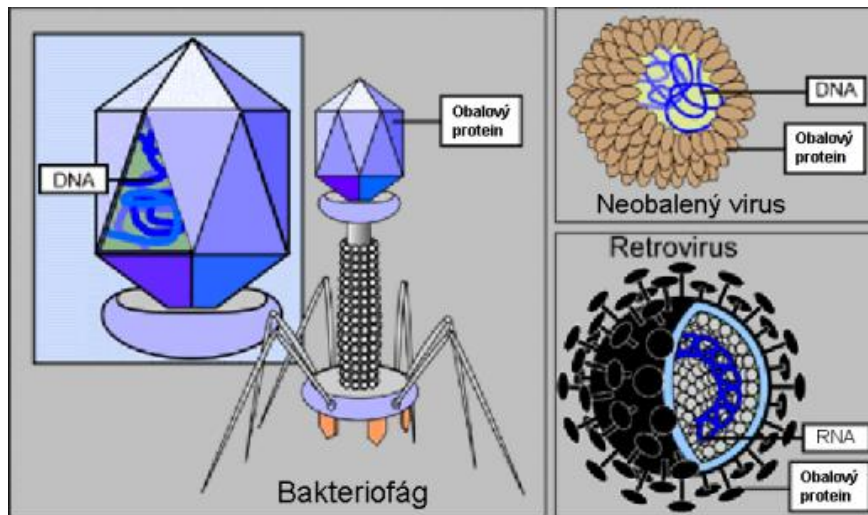
- (i) **DNA viry**,
- (ii) **RNA viry**.

Dále můžeme dělit oba tyto základní typy na:

- (i) viry obsahující nukleovou kyselinu **jednořetězcovou (ss typ)**,
- (ii) viry obsahující nukleovou kyselinu **dvořetězcovou (ds typ)**.

ss RNA viry můžeme ještě rozdělit na:

- (i) RNA viry s **řetězcem** – (negativní polarita), kdy tyto slouží v hostitelské buňce jako mRNA,
- (ii) RNA viry s **řetězcem** + (pozitivní polarita), který se musí kopírovat.

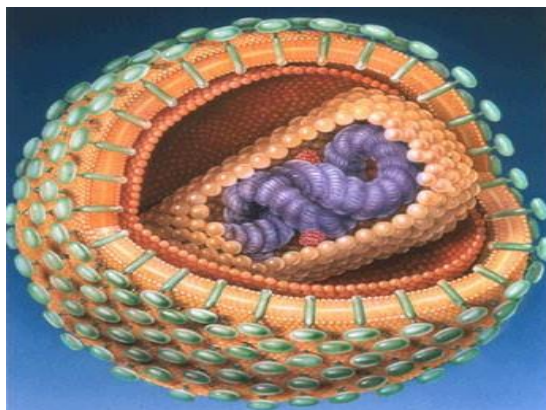


Obr. 1 Různé typy virů (<http://viry-bakterie.wz.cz/Virus-types3.png>)

Podle vztahu k hostiteli rozlišujeme (i) viry napadající živočichy – **zoofágy**, (ii) rostliny – **fytofágy**, (iii) houby a kvasinky – **mykofágy**, (iv) řasy – **algofágy**, (v) bakterie – **bakteriofágy** (obr. 1) a (vi) viry napadající sinice – **cyanofágy**. Viry jsou pro svého hostitele velmi specifické, to znamená, že bakteriofág nemůže nakazit člověka a naopak například virus chřipky nemůže napadnout bakterie či jablono, ale množí se jen v lidských buňkách.

Dle struktury, tvaru a symetrie kapsidy můžeme viry rozdělit na (i) viry s **helikální** neboli závitnicovou symetrií a (ii) viry se **symetrií polyhedrální**. Typickým virem s helikální symetrií je virus tabákové mozaiky, kde se kapsomery přiřazují na nukleové kyselině periodicky v její ose jako závit šroubu. Nejčastější formou polyhedrální symetrie je ikosaedr, tedy pravidelný dvacetistěn. Stěny mají tvar rovnostranných trojúhelníků, které se protínají ve 30 hranách a 12 vrcholech. Nukleová kyselina je uvnitř takto sestavené kapsidy. Složenou strukturu mají viry, které jsou složeny z obou geometrických tvarů. Příkladem je bakteriofág, který je složen z hlavičky s ikosaedrickou symetrií, ve které je nukleová kyselina a tzv. těla s bičíkem se závitnicovou symetrií.

Dalším kritériem dělení virů je složitost jejich struktury, kdy můžeme dělit viry na (i) **jednoduché** neobalené (holé) a na (ii) složitější viry **obalené** (obr. 2). Tyto viry jsou složitější stavby a mají kromě kapsidy lipidový obal, který je prokán glykoproteiny, tvořícími trnité výběžky zvané **peplomery**, sloužící k přichycení viru k povrchovým receptorům hostitelské buňky. Tyto vnější obaly pocházejí z **jaderné membrány** nebo **cytoplasmatické membrány** hostitelské buňky, kterou na sebe nabalují při opouštění buňky a při následné infekci další buňky ztěžují identifikaci viru jako cizího agens.



Obr. 2 *Obalený virus; uprostřed je nukleokapsid, který je obalen lipoproteinovým obalem pocházejícím z hostitelské buňky*
(https://www.natur.cuni.cz/fakulta/aktuality/HIV.jpg/image_preview)

6.1.1.2 Replikace virů

Rozmnožovací cyklus virů závisí na typu nukleové kyseliny a na tom, zda se jedná o jedno- či dvouřetězcovou kyselinu atd. Nukleová kyselina se v hostitelské buňce replikuje a je zároveň genetickou informací pro syntézu virových bílkovin probíhající na ribozomech hostitelské buňky. Reprodukční cyklus v případě rostlin, živočichů či mikroorganismů má vždy určitá specifika. Rozdílné jsou především způsoby infekce (průniku) viru do hostitelské buňky. Zatímco v případě bakteriofágů proniká do nitra hostitelské buňky jen nukleová kyselina, u rostlinných a živočišných virů proniká dovnitř většinou celý virus. Celý reprodukční cyklus však probíhá v krocích, které jsou společné všem virům:

1. Při **adsorpci viru** se virus naváže na povrch hostitelské buňky reakcí mezi glykoproteinovým nebo bílkovinným antireceptorem na povrchu viru a receptorem na povrchu buňky. Tato reakce je specifická a je tak určen tropismus viru. To znamená, že například určitý virus se může vázat jen na určitý druh živočicha, ale třeba i jen na určitý typ buňky jednoho orgánu, například játra – orgánový tropismus.
2. **Penetrací** virus proniká do buňky bezprostředně po adsorpci endocytózou, přímým průnikem cytoplasmatickou membránou nebo fúzí. Při endocytóze se virus dostává do buňky vchlípením buněčné membrány podobným fagocytóze. Viry se nahromadí v endozomu, tedy vezikule obsahující virové částice. Neobalené viry pronikají přímo cytoplasmatickou membránou (translokace). Obalené viry pronikají splynutím obalu (fúze) obalu a buněčné membrány, obal zůstává v membráně a do buňky se dostává již jen nukleokapsida.

3. Aby se genom mohl exprimovat, musí být **odstraněny obaly a kapsida**, které jsou mechanickou překážkou přístupu k němu. Fyzicky se od nukleové kyseliny oddělí buď spontánně nebo pomocí buněčných enzymů a virová DNA pronikne póry do jádra.
4. Po zpřístupnění může již dojít k **aktivaci genomu**, který exprimuje kódované funkce pro syntézu virů směřující k produkci virů. Informace nesená genomem virů zajišťuje replikaci genomu, složení viru z jednotlivých komponent a případné strukturální a funkční změny hostitelské buňky. Nejdříve se musí syntetizovat funkční bílkoviny – enzymy, jejichž úkolem je replikovat virovou nukleovou kyselinu (časné bílkoviny) a později již strukturální bílkoviny (pozdní bílkoviny), které jsou zabudovány do virů – kapsomery a kapsida. Jistý problém je však v různých formách nukleových kyselin. Proto jsou také cesty k replikaci rozdílné a různě složité. DNA viry musí využít systém buňky k syntéze mRNA, její translaci k syntéze bílkovin. Viry s dvouřetězcovou DNA kódují vlastní DNA-polymerázu a bílkoviny, jež sestavují kapsidu. DNA-polymeráza je při replikaci genomu závislá na bílkovinách hostitele. Strategii replikace RNA-virů určuje primárně struktura RNA. U virů s + provazcem má virová RNA stejný smysl primární struktury jako mRNA a proto může ihned jako mRNA fungovat, to jest navázat se na ribosomy a být využita k proteosyntéze. RNA virus s –provazcem je komplementární s mRNA a proto se musí napřed její kopie syntetizovat jako mRNA (+ provazec). Pak se teprve syntetizují bílkoviny, mezi nimi i RNA-polymeráza. Enzym je přítomen ve viru a přenáší se do buňky. Genom viru kóduje tento enzym, který se posléze ukládá do viru. Některé RNA-viry jsou dvouřetězcové, jejich nukleová kyselina nemůže fungovat jako mRNA. Proto mají RNA-polymerázu kódovanou genomem. **Retroviry** jsou zvláštní skupinou virů, kde se informace přepisuje zpětně z RNA na DNA hostitelské buňky. Příkladem je HIV-virus způsobující AIDS. Enzym reverzní transkriptáza transkribuje genomovou RNA do DNA.
5. Poslední fází je **syntéza a uvolnění virů**. Po dokončení syntézy virových bílkovin a virové nukleové kyseliny se jednotlivé složky skládají do nukleokapsidy, probíhá tzv. maturace virů. Tvar kapsidy je určován sledem aminokyselin v bílkovinném řetězci kaspomer. Morfogeneze je tím ukončena. Viry se dostávají z buňky prostou lyzí hostitelské buňky. Obalené viry prostupují cytoplasmatickou membránou. Tento způsob uvolňování virů se přiléhavě nazývá pučení. Buňka může v tomto případě přežít. Pučení probíhá tak, že virové glykoproteiny se začlení do cytoplasmatické membrány a pak se protlačuje nukleokapsida, navléká přitom na sebe přilehlý,

glykoproteiny modifikovaný úsek cytoplasmatické membrány a dostává se z buňky ven. Glykoproteiny na virovém obalu jsou specifické antigeny pro virový druh.

Délka růstového cyklu (do objevení prvních nových infekčních virionů) je různá u různých druhů virů, například rychle se množí pikornaviry (3 hodiny po infekci, rozpad buňky nastane za 6 hodin), u chřipky 6 až 12 hodin, dlouhá je u retrovirů, trvá až dny. **Výtěžek růstového cyklu** (počet vytvořených virionů, tedy nejmenších jednotek virů schopných infekce, v jedné buňce) může být například u pikornavirů 1 000 infekčních virionů, u chřipky 100 infekčních virionů. Avšak počet fyzikálních částic, tj. všech virionů, jak infekčních, tak inkompletních (defektních) je vyšší až 100 krát.

6.1.1.3 Dopady virové infekce (lytický a lyzogenní cyklus virů)

Osud hostitelské buňky infikované virem může být různý. Buňka po namnožení virů při tzv. **produktivní letální infekci** většinou uhynie vyčerpáním buněčného aparátu a zdrojů energie. Dojde k destrukci – **lýzi buňky** a k uvolnění virových partikulí, jedná se o **lytický cyklus viru**.

V případě, že nedojde k odumření hostitelské buňky, hovoříme o **lyzogenním cyklu** s několika možnostmi dopadu infekce na hostitelskou buňku. Při **produktivní neletální infekci** replikace viru neporuší ireverzibilně buňku a virus se postupně uvolňuje **pučením**. Buňka přežívá a namnožený virus je infekční, jde o **perzistentní infekci**. Nebo se při tzv. **latentní infekci** virový genom začlení do genomu hostitelské buňky v některém z chromosomů a stává se její součástí nebo zůstává neintegrováný samostatně v cytoplasmě a nemusí se replikovat. Po reaktivaci fyzikálněchemickými vlivy (např. UV záření) působícími na chromosom, díky jiné infekci nebo hormonálně může přejít infekce do produktivní fáze, to znamená, že může přejít i do fáze lytické. Další možností je, že virus může ovlivnit základní funkce buňky a může buňku **transformovat**, např. u živočichů na buňku **tumorovou** (rakovinnou).

6.1.1.4 Taxonomie virů

Dle celé řady znaků (např. typ a polarita nukleové kyseliny, druh hostitele atd.) zavedla v roce 1995 Mezinárodní komise pro taxonomii virů universální klasifikační systém, podle něhož rozlišujeme zhruba 3 600 virů, které se dělí do 71 čeledí či skupin virů.

6.1.1.4.1 Mikrobiální viry

Z mikrobiálních virů jsou nejvíce prozkoumány **bakteriofágy** rozdělené do 12 čeledí, které napadají bakterie a jsou schopny v nich realizovat svůj rozmnožovací lyzogenní nebo lytický

cyklus. Fágy jsou většinou striktně specifické na určitý druh bakterií, výjimkou jsou aktinofágy (fágy aktinomycet), které mohou infikovat i více druhů aktinomycet. Bakteriofágy jsou typy virů, u kterých neproniká do hostitelské buňky celá nukleokapsida, nýbrž pouze nukleová kyselina.

Bakteriofágy jsou důležité z hlediska udržení určité rovnováhy bakteriálních biocenóz v ekosystému. Mohou se využívat v humánní medicíně k léčbě některých bakteriálních infekcí a v molekulární biologii a genetice bakterií. Bakteriofágy jsou využívány jako vektory vnosu cizorodých (nepůvodních) genů při genetických manipulacích. Mohou působit problémy (úbytek) při využívání kulturní mikroflory v potravinářském průmyslu i jinde (např. u čisté mlékařské kultury).

6.1.1.4.2 Mykoviry

Mykoviry (viry hub a plísní) byly objeveny v 60. letech. Většinou se jedná o dsRNA viry a méně ssRNA viry. Mykoviry jsou většinou latentní a hostitelské buňky nejsou většinou lyzované. Mykofágy se hromadí hlavně ve starších buňkách, kde tvoří shluky. Do vnějšího prostředí se uvolňují až po odumření starých hostitelských buněk. Nicméně mykoviry ovlivňují metabolismus plísní, tzn., že mohou zvyšovat nebo snižovat produkci sekundárních metabolitů – mykotoxinů, antibiotik, zpomalují syntézu plísňových bílkovin.

6.1.1.4.3 Rostlinné viry

Rostlinné viry jsou především neobalené viry s jednořetězcovou nebo dvouřetězcovou RNA, řidčeji s DNA. Rostlinné viry řazené do 36 čeledí jsou velice pestré z hlediska tvaru a rozměru.

Viry způsobují choroby rostlin (virózy) a to i včetně zahradnický pěstovaných. Největší škody způsobují především u vegetativně rozmnožovaných a vytrvalých rostlin (ovocné stromy, zelenina, jahodník, tabák, réva vinná, okrasné, ale i divoké rostliny). V našich podmínkách jsou viry původcem asi jedné desetiny rostlinných chorob. Příznaky napadení jsou velice variabilní jak podle druhu virů, ale i podle druhů napadených rostlin. Nejčastěji se projevují jako změny zabarvení na listech, květech a plodech (tečkovitost, mozaiky, kroužkovitost, bronzovitost, pestrobarevnost atd.), morfologickými deformacemi (metlovitost stromů, drobnolistost, kadeřavost nebo svinování listů, rýhy, prolákliny, zakrslosti) nebo jinými změnami (snížení výnosu a kvality sklizně, vyšší náchylnost k jiným chorobám aj.). Přesná diagnostika je z důvodů této pestrosti příznaků často problematická, neboť může snadno dojít k záměně s jinými chorobami nebo abiotickými poruchami. K přesné diagnóze se

proto používají laboratorní biologické, imunologické a v poslední době především molekulární metody (PCR nebo ELISA test).

Prakticky všechny viry se rozšiřují vegetativně, tzn. rouby, řízky, cibulemi a hlízkami. Velmi častý je přenos šťávou rostlin při mechanickém poranění při řezu nožem nebo pilkou nebo i třeba rukama při vylamování a vyštipování částí rostlin (tzv. zelené práce). Zdrojem virů mohou být plevele, kulturní rostliny, půda, hmyz a roztoči. Z praktického hlediska je důležitý přenos přenašeči neboli vektory. Jimi mohou být členovci, háďátka, parazitické houby, parazitické rostliny (kokotice), ale nejčastějšími vektory jsou však různí zástupci hmyzu, především hmyz s bodavě savým ústrojím (mšice, křísi, třásněnky, mery, molice a červci). Při přenosu vektory hovoříme o **perzistentním přenosu**, kdy doba od nasátí do schopnosti přenést virus je sice delší jak 3 hodiny, ale infikovaný hmyz je infekční po celý svůj život, případně i jeho potomci. Při **neperzistentním přenosu** je vektor schopen přenést virus okamžitě po nasátí, ale schopnost přenést vir je časově omezena.

Nejúčinnější praktickou ochranou proti virózám rostlin je prevence: legislativní (karanténa, certifikace sadbového materiálu), prognóza výskytu (připravuje pěstitele na možnou invazi viru), agrotechnika (výběr lokality, osevnické postupy atd.), boj proti přenašečům, ničení napadených rostlin – zdroje nákazy, ozdravování množitelského materiálu množeného vegetativně (termoterapie, meristémové kultury), výběr a šlechtění odolných nebo rezistentních odrůd.

Příklady chorob zahradnický pěstovaných rostlin způsobených viry jsou virová mozaika rajčete, virová svinutka révy vinné, roncet révy vinné atd. Příkladem ekonomicky významného rostlinného viru může být také **virová šárka švestek** (nověji virové neštovice slivoní), kterou způsobuje **Plum pox virus (PPV)**, která je nejvýznamnější virovou chorobou peckovin, mezi které patří švestky, broskvoně, slivoně, meruňky, méně višně a třešně. Nejtypičtějším příznakem jsou světlé chlorotické kroužky (skvrny) na listech a plodech. Plody nemocných stromů, pokud předčasně neopadnou a dozrají, jsou deformované, tvrdé, nemají dobrou chuť a snižuje se obsah cukru, takže se nedají využít ani pro výrobu destilátů. Choroba byla poprvé popsána v roce 1917 v Bulharsku. U nás byla šárka prokázána v roce 1952, v Čechách a na Moravě se však vyskytovala dávno předtím. Dnes je kromě severovýchodních států v celé Evropě a objevila se už i v severní Africe, Jižní a Severní Americe i v Číně. Celosvětové náklady na zvládnutí šarky v posledních 30 letech byly odhadnuty na více než 10 miliard EUR. V Evropě PPV zničil přes 100 miliónů stromů. PPV se neomezuje jen na pěstované druhy peckovin. Je známo více než 30 druhů rodu *Prunus* náchylných k tomuto viru. Ochrana proti šarce je založena na používání viru prostého výsadbového materiálu pro

nové sady, karanténních opatření, kontrole přenašečů insekticidy a pokácení napadených stromů. Je snaha vyšlechtit odolné či rezistentní odrůdy peckovin. Úplná rezistence může být založena na tzv. hypersenzitivitě, kdy buňky odrůdy jsou tak citlivé na virus, že rychle odumírají a tím se vlastně zabrání namnožení a šíření viru do dalších buněk a tkání rostliny.

6.1.1.4.4 Živočišné viry

Jsou v současné době prozkoumány více než viry rostlinné nebo mikrobiální. Živočišné viry můžeme rozdělit na viry bezobratlých a obratlovců a z těchto druhů jsou jen některé významné pro člověka a z nich pak jen některé jsou důležité pro obyvatele našeho podnebného pásma. Virové onemocnění se rozvíjí v několika fázích a v kterékoliv fázi se může zastavit. Přítomnost živočišných virů může být lokalizována v okolí místa primární infekce (kašel, bolení krku, průjem) anebo se jejich přítomnost vůbec neprojeví. I bez patologických příznaků můžeme v těle hostitele zjistit specifické protilátky – bílkovinné složky viru. Některé viry mají afinitu k určitým orgánům, např. slinné žlázy, mozkové buňky, játra. Existují tři způsoby vniknutí viru do organismu a lokalizace v orgánu a to sliznicí dýchacího nebo trávicího traktu s následnou infekcí v místě vstupu, sliznicí s následným šířením krevním oběhem k cílovému orgánu, např. hepatitida A a B, krví po vpichu infikované jehly nebo kousnutím hmyzu a následným rozšířením do cílových orgánů, např. hepatitida B, klíšťová encefalitida.

Příklady lidských chorob způsobených viry jsou: virová meningitida, zánět mozkových blan (encefalitida), hepatitida (žloutenka) typu A, B, C, doposud smrtelný syndrom získané humánní imunodeficiencie AIDS způsobený virem HIV, chřipka, hemoragická horečka způsobená virem Ebola. Některé, tzv. onkogenní viry mohou zapříčinit některé nádorové onemocnění.

6.1.1.4.5 Viroidy

Viroidy jsou charakterizovány jako samostatné jednořetězcové do kruhu uzavřené molekuly RNA, které nemají bílkovinný obal jako viry a ani žádný jiný protein není jejich součástí. Jsou to molekuly velmi malé, menší než nejmenší viry, délka nukleové kyseliny je asi 300 nukleotidů. Viroidy jsou molekuly infekční a patogenní způsobující choroby některých rostlin.

6.1.1.4.6 Virusoidy

Virusoidy jsou nukleové kyseliny (DNA nebo RNA) s vlastní genetickou kontinuitou, uzavřené v kapsidě některých virů vedle jejich vlastní nukleové kyseliny. Nukleová kyselina

virusoidu je vždy stejná jako genomová nukleová kyselina viru. Nekódují žádné proteiny, replikují se jen v buňkách infikovaných virem a jsou přenášeny v jeho kapsidě. Přítomnost virusoidu u virů může symptomy infekce zesílit.

6.1.1.5 Vlivy prostředí na viry a boj proti virům

Viry jsou většinou citlivé vůči nízkému pH, vyšším teplotám a UV-záření (sluneční záření) a většinou jsou na vnější prostředí citlivější než bakterie. Odolné vůči nízkému pH v trávicím traktu jsou zejména bezobalové viry, jako např. reoviry, picornaviry, adenoviry a parvoviry. Virus hepatitidy A snáší průchod zažívacím traktem, přežívá týdny v odpadních vodách i bazénech. Výraznou ochranu před zevními vlivy poskytuje virům prostředí s bílkovinami a tuky, např. virus hepatitidy B v krevním séru, virus vztekliny a klíšťové encefalitidy v infikovaných tkáních. Vysycháním ztrácí viry infekčnost. K likvidaci virů lze použít UV-záření a oxidačních a alkylačních prostředků jako je kyselina peroctová (Persteril), chlor a jeho deriváty (chloramin, chlornan sodný), manganistan draselný a jod, formalin, etylenoxid, silné kyseliny, louhy, alkohol. Nespolehlivé jsou lyzol, ortosan, chloroform. Při pokojové teplotě či teplotě chladničky mohou většinou viry přežít několik dní, při teplotě 37 °C několik minut, při teplotě 56 °C několik sekund, některé viry jsou však docela rezistentní. Důkladná tepelná úprava při kulinární úpravě je spolehlivým prostředkem k likvidaci potravinami přenášených virů. V boji proti virovým onemocněním je účinné ochranné očkování oslabenými viry (obrna, spalničky) nebo podání antiséra (vzteklina).

6.1.1.6 Pozitivní význam virů

Viry nemají pro člověka jen negativní význam. Bakteriofágy jsou modelovým organismem pro studium změn genetického materiálu. Jejich nukleová kyselina se používá jako vektor přenosu vkládaných genů v genovém inženýrství, stejně tak i enzymy virů kódované jejich nukleovou kyselinou. Bakteriofágy lze využít v boji proti patogenním mikroorganismům (*Schigella*, *Salmonella*). V USA jsou některé viry hmyzu používány jako tzv. virální pesticidy v boji proti škůdcům.

6.1.2 Priony

Až do roku 1982 se považovalo za absolutně platné, že infekční nemoci může způsobovat pouze infekční agens, obsahující nukleovou kyselinu nesoucí genetickou informaci. Toto se změnilo objevem tzv. **prionů**, tedy proteinových molekul schopných vyvolat onemocnění,

kteří objevil a popsal **S. Prusiner**. Do tohoto objevu se považovali za původce prionových onemocnění nekonvenční nebo tzv. pomalé viry.

Priony jsou nejmenšími známými částicemi, jež mohou vyvolat onemocnění a skládají se pouze z proteinové molekuly kódované buněčným strukturálním genem hostitele, kdy pravděpodobně fungují jenom jako regulační signály. Neobsahují tedy nukleovou kyselinu jako viry. Protein tvořící prion je znám jako tzv. prionový protein. Nervové buňky savců přirozeně obsahují prionové bílkoviny (v angl. literatuře je častá zkratka **PrP**, případně **PrP^C** pro zdravou buněčnou bílkovinu). Má se za to, že tyto prionové bílkoviny hrají významnou úlohu při odpočinku a spánku. Defektní infekční prion označovaný jako **PrP^{SC}** (označení podle scrapu ovcí) je schopen transformace PrP^C proteinu do infekční izoformy. PrP^C, normální, buněčný prionový protein se vyznačuje spirálovitou strukturou (šroubovice), nazvanou **α -helix**, ale nový, přeměněný protein je tvořen zejména konformací (prostorovým uspořádáním) s plošně rozšířenou kostrou těsně skládaných listů – tzv. **β -struktura**. Tato změna v sekundární struktuře iniciuje řetězovou reakci a nově transformované priony přemění ostatní proteiny, se kterými přijdou do styku. Důsledkem této změny konformace je mimořádná odolnost vůči různým fyzikálně-chemickým vlivům, prakticky absolutní odolnost proti štěpným enzymům odklízejícím vadné bílkoviny v tkáních zdravých jedinců a schopnost navazovat se na zdravé formy prionových bílkovin a konvertovat je na svoji vadnou formu.

Následkem je, že se v buňce hromadí rostoucí chuchvalce propojených vadných molekul prionové bílkoviny PrP^{SC}, kterých se nervová buňka nedokáže zbavit, posléze je zcela zaplněna a uhynie. Proteiny prionů způsobují v mozkové tkáni lidí a zvířat ostrůvkovité povlaky či chuchvalce a mozek nabývá houbovitého neboli spongiformního charakteru. Nemoci vyvolané priony se tedy označují jako **spongiformní encefalopatie**.

Priony zapříčiňují mnoho degenerativních neurologických onemocnění savců, které mohou být infekčního, zděděného nebo nahodilého původu. Příčina **nahodilých forem** je neznámá; **zděděné formy** jsou zapříčiněné mutacemi lidského genu pro tvorbu PrP a **infekční formy** jsou přenosné kontaktem nebo pozřením infikované tkáně (možný přenos z dobytka na člověka při konzumaci nakažených tkání). Známa jsou prionová onemocnění zvířat zahrnující scrapie (u ovcí a koz), bovinní spongiformní encefalopatii (BSE, zvaná nemoc šílených krav), přenosnou encefalopatii norků, CWD u jelenů a losů, kočičí spongiformní encefalopatii atd. Dosud známá lidská prionová onemocnění zahrnují: Creutzfeldt-Jakobovu nemoc, nemoc kuru, která se vyskytovala u domorodců z Nové Guiney a přenášela se rituálním pojídáním mozků zabitých nepřátel, dále Gerstman-Sträussler-Scheinker syndrom a fatální dědičnou

nespavost. U lidí se tyto choroby projevují jako progresivní degenerace centrálního systému vedoucí ke smrti. Dosavadními lékařskými postupy je choroba neléčitelná.

Priony, ovšem bez prokázané patogenity, byly objeveny u některých mikromycet (např. *Saccharomyces*). Kvasinky obsahující priony jsou prý dokonce zvýhodněny oproti ostatním při přežívání v nepříznivém prostředí.

V nedávné době byla také vyslovena hypotéza, že viry mohou přispívat k přenosu prionů. Viry namnožené a uvolněné z infikované buňky mohou unášet sebou priony a spolu s nimi mohou napadat další dosud neinfikované buňky, tedy viry jsou využívány jako dopravní prostředek.

Pozoruhodná je odolnost prionů, vůči denaturaci vlivem různých fyzikálních a chemických vlivů. Jsou například odolné celé řadě dezinfekčních prostředků a uvádí se, že zůstanou infekční i po jedné minutě působící teploty 240 °C.

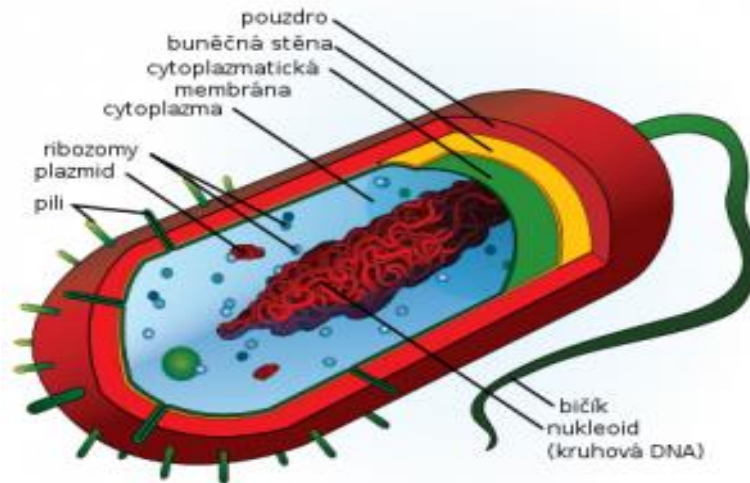
6.2 Mikroorganismy s prokaryotickou buňkou

6.2.1 Stavba prokaryotické buňky

Prokaryota (někdy označované jako *Monera*) zahrnují domény *Archaea* a *Bacteria*. Nemají jadernou membránu, prokaryotická buňka je haploidní, neprobíhá u ní mitotické dělení jádra, probíhá pouze nepohlavní dělení a proto je jejich **přizpůsobivost** odkázána pouze na spontánní mutace, předávání plasmidů a rekombinace cizorodé DNA. Ovšem jejich jednoduchost jim umožňuje rychlé množení (jeden cyklus může trvat jen 20 minut).

Jsou to mikroskopické, jednobuněčné organismy, nemají tedy jádro v obvyklém cytologicko-morfologickém významu, genetický materiál je uspořádán v nukleoidu (1 cyklický chromosom) a plasmidech. Chybí i ostatní membránové struktury uvnitř buňky, tedy organely v pravém slova smyslu (mitochondrie, chloroplasty apod.). Funkce enzymatické a syntetizující u nich plní cytoplasmatická membrána. Ribozomy prokaryotických buněk se liší od ribozomů eukaryotických buněk v celé řadě funkčních a stavebních rysů.

Prokaryotické buňky jsou zhruba desetkrát menší než buňky eukaryotické, mají ovšem velký aktivní povrch těla vzhledem k objemu. Živiny jsou přijímány celým tělem.



Obr. 3 Stavba prokaryotické buňky (http://www.bizule.estranky.cz/img/picture/11/440px-average_prokaryote_cell_cs_svg.png)

U prokaryot rozeznáváme základní buněčné struktury, které jsou až na výjimky společné všem prokaryotickým buňkám (obr. 3). Jedná se o buněčnou stěnu, cytoplasmatickou membránu, cytoplasmu, ribozomy a jadernou hmotu (nukleoid). Vedle těchto základních složek mohou bakterie a archeobakterie mít některé doplňující struktury jako jsou plasmidy, fimbrie, bičík, pouzdro, mesozomy či endospory.

6.2.1.1 Buněčná stěna

Jako jediný pevný útvar plní u prokaryot buněčná stěna funkci buněčného skeletu, určuje její tvar a slouží jako mechanická ochrana buňky. Pevnost a malá ohebnost buněčné stěny je dána přítomností heteropolysacharidu typického pro prokaryota – **peptidoglykanu** (jinak též mureinu či mukopeptidu), u archeí pseudopeptidoglykanu. Bakteriální buněčná stěna obsahuje kromě peptidoglykanu ještě i další polymery. Peptidoglykanový skelet, nejdůležitější složky, tvoří vrstvy polysacharidových řetězců pospojovaných napříč krátkými peptidy. Polysacharidový řetězec je tvořen dvěma cukry (aminosacharidy), střídají se zde jednotky **N-acetylglukózoaminu a kyseliny N-acetylmuramové** spojené vazbami β -(1→4). Na laktylovou skupinu kyseliny N-acetylmuramové navazuje oligopeptid a boční oligopeptidové řetězce se spojují příčnými vazbami, díky čemuž vytváří peptidoglykan kolem celé buňky pevný plášť. V peptidoglykanovém komplexu je glykanová složka relativně stálá na rozdíl od peptidové (**D alanin, D glutamová kyselina, asparágová kyselina** atd.), která je velmi proměnlivá a charakteristická pro jednotlivé druhy či systematické skupiny mikroorganismů. V buněčné stěně eukaryot peptidoglykan chybí.

Dle výrazně odlišné struktury buněčné stěny se bakterie dělí na dvě skupiny. Již v roce 1884 odlišil Christian Gram vlastní metodou diferenciačního barvení dvě velké skupiny bakterií. Podle toho, zda jsou bakterie schopny zadržet použité barvivo (např. krystalovou violet) i po promytí preparátu organickým rozpouštědlem (např. etanolem) rozlišil **G⁺ bakterie (grampozitivní) a G⁻ bakterie (gramnegativní)**, které barvivo neudrží a jestliže se bakterie odbarví musí se později dobarvit (např. safraninem). Právě rozdílnost stavby buněčné stěny zapříčiňuje schopnost buněčné stěny barvivo zadržet či nikoli. Rozdílná stavba buněčné stěny u těchto druhů bakterií určuje také různou odolnost vůči různým vlivům vnějšího prostředí nebo boje proti nim, což má význam např. v lékařské či potravinářské mikrobiologii a tak se toto rozdělení doposud využívá i v taxonomii bakterií.

6.2.1.1.1 Buněčná stěna gramnegativních bakterií

Buněčná stěna gramnegativních bakterií je stavěna dosti složitě, ale je dosti tenká, asi 10 až 15 nm, obsahuje značný podíl lipidů (10 až 20 %) a jen 15 až 20 % polysacharidů. Gramnegativní bakterie mají peptidoglykanovou vrstvu obalenou vnější fosfolipidovou membránou obsahující fosfolipidy, lipopolysacharidy a proteiny, která na tuto vrstvu navazuje prostřednictvím hydrofobního proteinu s velkým počtem aminokyselinových podjednotek. Samotný peptidoglykanový polymer je jednovrstevný a tvoří pouze 10 až 12 % sušiny buněčné stěny. Kromě hydrofobního proteinu obsahuje vrstva mezi vnější membránou a peptidoglykanovou vrstvou ještě hlavní stěnový protein, ovlivňující pevnost buněk tyčinkovitého tvaru a najdeme zde kanálky, jež jsou tvořeny trimery bílkovin – **poriny**, které umožňují průchod malých molekul a rozpuštěných látek přes vnější membránu. Mezi cytoplasmatickou membránou a vnější fosfolipidovou membránou je lokalizován kromě tenké peptidoglykanové vrstvy také tzv. periplasmový prostor, obsahující různé enzymy (hlavně hydrolytické), různé živiny a metabolity. Vnější povrch vnější membrány gramnegativních bakterií pokrývá lipopolysacharid (LPS), jehož složení není stejné a závisí na druhu nebo i kmenu bakterie. Většinou jde o oligomer složený z několika monomerních jednotek. Tyto jednotky tvoří tři části: lipid A, základní a specifický polysacharid. Lipid A je společný pro všechny LPS a je lokalizován v jeho vnitřní části. Je toxický pro živočišné buňky a je zodpovědný za endotoxickou vlastnost gramnegativních bakterií, u lidí vyvolává endotoxinový šok. Specifické polysacharidy, jejichž složení je vysoce specifické pro jednotlivé druhy bakterií, vyčnívají kolmo do prostředí nad povrch buňky a jsou zodpovědné za somatickou antigenní specifitu G⁻ bakterií (označován jako 0-antigen). Základní polysacharid představující střední část molekuly LPS je složený z více než 10 lineárně i bočně

vázaných cukrů. Jeho struktura je zhruba stejná u většiny gramnegativních bakterií. Lipopolysacharid (LPS) určitého složení vyvolává u savců syntézu specifických protilátek vedoucích k odolnosti vůči tomuto LPS – dochází ke vzniku imunity. Rozdíly ve složení LPS vedou ke vzniku velkého množství tzv. **sérovarů** (např. *Salmonella enterica* má přes 2 000 antigenních typů – sérovarů).

Ke G^- bakteriím patří rody *Acetobacter*, *Azotobacter*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella* atd.

6.2.1.1.2 Buněčná stěna grampozitivních bakterií

Buněčná stěna grampozitivních bakterií je jednodušší a je tvořena především peptidoglykanovou vrstvou (až z 90 %) obsahující na rozdíl od G^- bakterií lineární řetězce kyseliny teikoové, které se skládají ze dvou hlavních podjednotek – glukóza-ribitol-fosfát-alanin (fosforylovaný polyalkohol) nebo alanin-(glukóza)-glycerol-alanin (kyselina lipoteikoová). Kyselina teikoová, tvoří až 50 % sušiny buněčné stěny některých G^+ bakterií. Právě na peptidoglykanovou vrstvu se váže při barvení krystalová violet. Kromě kyseliny teikoové jsou na peptidoglykan vázány ještě polysacharidy tvořené glukózou, galaktózou, manózou a dalšími monosacharidy. Jejich specifické složení u různých skupin bakterií je zodpovědné za imunochemické reakce (specifické antigenní vlastnosti jednotlivých skupin bakterií). Peptidoglykanový polymer je vícevrstevný a buněčná stěna G^+ bakterií je silnější, zhruba od 15 nm (*Staphylococcus aureus*) až do 80 nm (*Lactobacillus acidophyllus*). Má nižší obsah lipidů (0 až 2 %) a vyšší obsah polysacharidů (35 až 60 %).

Díky rozdílné stavbě buněčné stěny výše zmíněných druhů bakterií musíme používat proti nim například rozdílné druhy antibiotik. G^+ bakterie mohou být odolnější díky silnější buněčné stěně vůči vnějším vlivům např. mechanickému poškození či vysychání.

Ke G^+ bakteriím patří například rody *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces* atd.. Většina archeí má buněčnou stěnu, která se strukturálně podobá buněčné stěně grampozitivních bakterií a postrádají až na výjimky periplasmatický prostor.

Některé bakterie podobně jako někteří příslušníci domény *Archaea* mají často povrch buněk chráněn poměrně kompaktní tzv. **S-vrstvou**, tvořenou povrchovými proteiny nebo glykoproteiny. Tato vrstva zajišťuje ochranu před nebezpečnými enzymy, toxiny nebo odchylkami v pH. Zároveň může chránit před vlastními parazity nebo naopak u patogenů před imunitním systémem hostitele (např. fagocytózou) a napomáhá k přichycení.

6.2.1.2 Cytoplasmatická membrána

Cytoplasmatická membrána je tenký semipermeabilní obal ohraničující vnitřek buňky od vnějšího prostředí a kontrolující pohyb látek do buňky a ven z buňky. U prokaryot je to jediná vnitřní biologická membrána, jsou na ní lokalizovány všechny základní funkce buňky, které nemohou probíhat v cytoplasmě, ale jen na membráně. Prokaryotická buňka je tedy na rozdíl od eukaryotní buňky jediným, jinými membránami neděleným prostorem. Cytoplasmatická membrána bakterií je silná asi 8 nanometrů a představuje zhruba 10 až 26 % hmotnosti sušiny bakterie. Skládá se z **lipidové dvouvrstvy**, která udává plasmatické membráně základní strukturu a charakteristické vlastnosti. V ní jsou vnořeny, či po jejím povrchu volně plovou bílkoviny. Podle modelu fluidní mozaiky mohou být biologické membrány považovány za dvojdimenzionální tekutinu, ve které všechny molekuly lipidů a proteinů více či méně snadno difundují. Bílkovina v membráně tvoří asi 70 % a lipidy 30 % hmotnosti. Z lipidů jsou to především fosfolipidy.

Cytoplasmatická membrána je polyfunkční systém, na kterém je lokalizována celá řada enzymatických aktivit. Primárně udržuje osmotickou rovnováhu buňky, semipermeabilní bariéra zabraňuje „vypuštění“ buňky a funguje jako vstupní brána pro transport látek (živin) dovnitř a ven z buňky. Živá buňka je tak díky tomu systém vyměňující si s okolím hmotu, energii a informace. Jen některé jednoduché molekuly (voda, kyslík) se dostanou do buňky ve směru koncentračního spádu buď pasívní difuzí nebo pomocí bílkovinného nosiče. Především proteinová výztuž membrány, což jsou specifické transportní proteiny (transferázy), se podílí na transportech většiny látek skrz membránu z vnějšího prostředí do cytoplasmy, ale i opačně za pomoci vynaložené energie (aktivní transport). Na cytoplasmatické membráně je lokalizována celá řada enzymů zabezpečujících především dýchání, oxidační fotofosforylaci, syntézu a hydrolýzu fosfolipidů, sekreci bakteriálních toxinů a konečné fáze syntézy buněčné stěny a pouzdrových obalů.

Důležitou životní úlohou membrány je transformace energie. U fotosyntetických bakterií probíhá na membráně ve zvláštních strukturách (membránové váčky) obsahujících **bakteriochlorofyl** transformace světelné energie na energii protonového gradientu – vzniká protonmotivní síla (tj. rozdíl v elektrochemické aktivitě vodíkových iontů na obou stranách membrány). Podobně u chemotrofních bakterií, které získávají energii především oxidací redukované organické látky kyslíkem, je nositelem enzymů respiračního řetězce také cytoplasmatická membrána.

V membráně jsou také zakotveny bílkoviny, jež jsou součástí „rotoru“ umožňující rotační pohyb bakteriálních bičíků. Další důležitou funkcí cytoplasmatické membrány je recepce (vnímání) signálů z okolního prostředí, které řídí chování buňky.

6.2.1.2.1 Mesozomy

U celé řady prokaryot vybíhají z cytoplasmatické membrány do cytoplasmy různé vchlípeniny. Tyto invaginace s celou řadou funkcí se nazývají **mesozomy**. Tyto mají význam při replikaci bakteriální DNA (chromosomu), tvorbě příčného septa při dělení buněk nebo bakteriální sporulaci. Přítomné funkční proteiny pravděpodobně zabezpečují dýchací procesy některých bakterií (např. nitrifikační a fotosyntetizující purpurové sírné bakterie).

6.2.1.3 Doplnkové vnější buněčné struktury

Doplnkové buněčné struktury nenajdeme u všech druhů prokaryot a nejsou nezbytné k životu.

6.2.1.3.1 Bičíky (flagella)

Bičíky jsou buněčné struktury, které mají některé bakterie jako svůj lokomoční orgán, přičemž bakterie může mít i více bičíků. Aktivní pohyb je typický především pro mladé buňky, starší často o bičík přijdou, přestávají se aktivně pohybovat, ale neztrácí svoji životaschopnost.

Bičík se skládá ze tří podstatných částí. Vlastní vlákno je složeno z globulární bílkoviny flagelinu, jehož aminokyseliny se u jednotlivých druhů a tím i jeho antigenost liší (tzv. H-antigen). Tloušťka vlákna je od 10 až 20 nm, délka bývá často výrazně delší než vlastní bakterie a může dosahovat i 20 μm . Poměrně složité bazální tělíčko se skládá z několika prstenců upevňující bičík v cytoplasmatické membráně a v buněčné stěně. U G^- bakterií je tvořeno čtyřmi kroužky (označení L, P, S a M), u G^+ bakterií najdeme pouze prstence M a S. Prsteneček M funguje jako rotor, prsteneček S jako stator bílkovinného elektromotoru, kdy rotor roztáčí proud protonů či iontů sodíku procházejících do buňky. Rotační pohyb se přenáší na vlákno přes ohebnou spojku zvanou hák. Vlákno bičíku se tedy nehýbe jako bič, ale pohybuje se šroubovitou rotací po celé délce. Rotační pohyb vykonává vlákno směrem doleva, který se může na chvíli změnit opačně a tím způsobit změnu směru. Rychlost rotace může být i 18 000 otáček za minutu a toto posunuje bakterii určitým směrem rychlostí 1 až 100 $\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$.

Počet bičíků a jejich umístění je charakteristickým taxonomickým znakem (1 až 100). Můžeme tak rozdělit bakterie do několika skupin. (i) **Monotricha** mají jedno vlákno, které umožňuje pohyb dopředu s malými odchylkami na obě strany. (ii) **Lofotricha** mají několik

bičků ve svazku na jednom pólu buňky a umožňují pohyb vlnovitý a to buď dopředu nebo dozadu. (iii) Bičky skupiny **amfitricha** jsou na obou pólech buňky a umožňují přímočarý pohyb dopředu i dozadu. (iv) **Peritricha** mají bičky rozmístěny po celém povrchu buňky a mohou se tak pohybovat v libovolném směru (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*). (v) **Atricha** jsou druhy zcela bez bičků.

Pohyblivost je pro bakterie důležitá, zejména při hledání a kolonizaci vhodných substrátů. Umožňuje větší přísun živin pomocí **chemotaxe**, tj. směřování buňky na místa vhodné pro rozmnožování anebo naopak opouštění nevhodných podmínek. Bakterie se pohybují směrem k vyšší koncentraci rozpuštěných živin – **pozitivní chemotaxe**, anebo směrem od místa se škodlivými látkami – **negativní chemotaxe**. Podobná reakce aerobů a anaerobů na kyslík se nazývá **aerotaxe**.

Flagelární pohyb bakterií se může uskutečňovat jen v tekutém prostředí. Prokaryota se často pohybují jen v tenké kapilární vrstvě na živém nebo neživém pevném povrchu.

Zvláštní způsob pohybu (rotační, vývrtkovitý) mají spirochéty, které tvoří dlouhé ohebné buňky tvaru nepravidelné šroubovice. Pohybují se pomocí jednoho nebo více axiálních vláken ukotvených na pólech buňky. Vlákna se zkracují nebo prodlužují a tak uvádějí buňku do pohybu. Klouzavý pohyb bez pohybových struktur mají mykobakterie, které nemají zvláštní pohybové útvary, ale vylučují sliz, po němž pomalu kloužou po pevném substrátu, příp. po hladině kapaliny. Vlákňité bakterie rodu *Beggiatoa* a příbuzných rodů se pohybují ohybem svých vláken. *Mycoplasma mobile*, jejímiž útvary pohybu jsou dva bílkovinné výrůstky na povrchu buňky, se jedním z nich opře o povrch a druhým se odstrčí s určitou energií umožňující posun až o 4 mikrometry.

Archea mají poměrně často také bičík. Ten pracuje na podobném principu jako bičík bakteriální, tzn. díky rotaci struktury na bázi bičíku, poháněné protonovým gradientem. Přesto vykazuje archeální bičík odlišnosti ve stavbě a vývoji, který má podle nedávné studie svůj prapůvod spíše v určitém typu bakteriálního pilusu. Zajímavostí je, že u bakterií přirůstá bičík do délky na konci, kdežto u archeí dochází k prodlužování bičíku na bázi.

6.2.1.3.2 Fimbrie (pili)

Fimbrie (*fimbria* – třáseň) neboli pili (*pilus* – vlas) jsou četná krátká pevná dutá vlákna, vyčnívající z povrchu některých gramnegativních bakterií, trčící do prostoru všemi směry. Jejich počty mohou dosáhnout desítek i stovek na jedné buňce. Pro svou křehkost se snadno odlamují. Jsou tvořeny bílkovinami uspořádanými do závitnice. Usnadňují adhezi buněk bakterií na různých površích. U parazitických a patogenních bakterií napomáhají přichycení

na buňky napadaných tkání, například fimbrie na povrchu enterobakterií se vážou na glykoproteinové receptory buněk sliznice. Adherence je prvním stupněm infekce. Dá se říci, že bakterie s fimbriemi jsou virulentnější. Naopak fimbrie mohou být místem, na kterém dochází k adsorpci bakteriofágů.

Fimbrie jiného typu mohou adorovat i jiné bakterie, jsou relativně dlouhé a mohou se smrštít a přitáhnout si buňku, na kterou se navázaly. Tyto tzv. **sex pili** či **sex fimbrie** v procesu konjugace tvoří mezi donorovou a recipientní buňkou dutý můstek, kterým prochází plasmidová DNA. Většinou je na buňce pouze jeden sex pilus.

6.2.1.3.3 Slizový obal a pouzdra

Pouzdro najdeme u některých druhů bakterií nad buněčnou stěnou a je tvořeno slizovitými látkami polysacharidového charakteru (*Streptococcus pneumoniae*) nebo polypeptidové povahy (*Bacillus anthracis*). Tento obal zvyšuje odolnost buňky proti nepříznivým podmínkám (např. sucho), ale i proti fagocytóze, vlastní buňky patogenů však mohou být virulentnější. Složení pouzdra je ovlivněno především prostředím.

Pokud slizový obal tvoří souvislou, od vnějšího prostředí ostře ohraničenou vrstvu nazývá se **pouzdro** či **kapsule**, tato má i antigenní vlastnosti. Její tloušťka je asi 1 μm , pakliže nepřesahuje 0,2 nm nazývá se mikrokapsule. Některé bakterie produkují velká množství volného **slizu** (polymer vysoké viskozity, nemá tvar ani strukturu), který může spojovat více buněk a tvořit tzv. **zooglea**. Polymerní hmota produkovaná za určitých podmínek a tvořící síťovinu jednotlivých polysacharidových vláken se nazývá **glykokalix**. Tento je nástrojem přilnutí k pevnému povrchu a ke vzniku biofilmu. Glykokalix umožňuje například původci zápalu plic *Streptococcus pneumoniae* „přilepení“ na buňky plicních sklípků. U mnoha bakterií se nachází plochá pravidelná dvojrozměrná vrstva pseudosíťoviny, tvořená zpravidla jediným druhově specifickým glykoproteinem. Nazývá se **S-vrstva** a pravděpodobně zpevňuje buněčnou stěnu, na kterou se váže a může chránit před fagocytózou.

6.2.1.4 Cytoplasma a struktury v ní uložené

Cytoplasma vyplňující buňku je chráněna vnějšími buněčnými obaly a obsahuje důležité buněčné struktury, především jadernou hmotu a ribozomy, kterým zabezpečuje příznivé prostředí pro jejich funkce.

Jedná se o amorfni, bezstrukturní, koloidní roztok tvořený proteiny, lipidy, ribonukleovými kyselinami, aminokyselinami, nukleotidy, solemi organických kyselin, intermediálními produkty metabolismu atd. Obsahuje více jak 50 % všech proteinů buňky

a většina z nich jsou enzymy, jejichž základní funkce jsou především katalýza syntézy aminokyselin (na ribosomech), nukleotidů, nukleových kyselin a polysacharidů, částečná degradace proteinů a uvolňování energie anaerobní glykolýzou. Základní cytoplasma je acidofilní, zatímco jádro a jiné struktury mají zásaditou reakci.

6.2.1.4.1 Ribozomy

Velmi důležité struktury lokalizované v cytoplasmě prokaryotických buněk jsou ribozomy, neboť zde dochází k realizaci genomu buňky, k syntéze bílkovin, tedy k proteosyntéze. Na ribosomech probíhá podle kódu na **mediátorové RNA (mRNA) translace**, což je řazení aminokyselin do peptidového (bílkovinného) řetězce, kdy pořadí aminokyselin určuje primární strukturu jednotlivých bílkovin. Aminokyseliny přináší na ribozom, kde je již navázána mRNA, **transferová molekula ribonukleové kyseliny (tRNA)**. Každá tRNA je pro danou aminokyselinu specifická a přináší jenom ji. Tak řídí geny syntézu bílkoviny, kterou určují.

ribozomy jsou elipsovité tělíska o velikosti zhruba 20 nm, která se skládají ze dvou podjednotek s rozdílnou molekulovou hmotností. Velká podjednotka tvoří asi 2/3 hmotnosti a malá 1/3 hmoty ribozomu. Z chemického hlediska jsou tvořeny **ribozomální ribonukleovou kyselinou (rRNA)** a bílkoviny.

Jestliže jsou ribozomy navázány na jedno vlákno nukleové kyseliny ve větším množství hovoříme o **polyzomech**. Ribozomy (i polyzomy) jsou volně v cytoplasmě, především v blízkosti nukleoidu (asi 60 %) nebo jsou vázány na cytoplasmatickou membránu, kde dochází k syntéze proteinů určených pro membránu nebo na export.

Ribozomy jsou částice, které jsou v buňkách nejhojněji zastoupené. U bakterie *Escherichia coli* je průměrně 15 000 ribozomů (tvoří 1/4 hmotnosti buňky). Jejich vysoký počet umožňuje bakteriím velkou rychlost syntézy buněčné hmoty (hmotnost se může zdvojnásobit v optimálních podmínkách již za 15 až 20 minut).

6.2.1.4.2 Jaderná hmota (nukleoid)

Prokaryota nemají pravé jádro oddělené od cytoplasmy jadernou membránou (karyotékou). Genom je obsažen v makromolekule **dvouřetězcové DNA** a lokalizované v **jednom cyklickém chromosomu**. Vzhledem k vlastní délce buňky je relativně dlouhý a v nataženém stavu měří 1 mm. Tato genetická výbava se u prokaryot nazývá **nukleoid**. Tento tvoří asi 10 až 15 % objemu buňky, ale jenom 3 až 4 % hmotnosti sušiny.

Chromosom obsahuje genetickou informaci tj. informaci pro stavbu a činnost buňky (u bakterie *E. coli* až $5 \cdot 10^6$ párů bází tj. 3 500 genů). DNA určuje přímo transkripci – přepis

určitého úseku DNA na mRNA. V buňce bakterií se může v určitém okamžiku nacházet více chromosomů, stává se to při dělení buňky a je způsobeno jeho rychlejším dělením než je rychlost dělení buňky (replikace DNA neprobíhá totiž současně s buněčným dělením). Bakteriální chromosom se replikuje z jednoho bodu, tzv. **iniciačního bodu**, počátku replikace určeného specifickou sekvencí DNA. Replikace postupuje z tohoto bodu na obě strany kruhové makromolekuly a končí v bodě, který je protilehlý počátku replikace. U archeí je tento proces podobný více replikaci DNA eukaryot. Na tento proces pak navazuje buněčné dělení. Většina prokaryot se dělí příčně za vzniku dvou zhruba stejných dceřiných buněk.

U některých prokaryot se může zhruba 1 až 3 % DNA nacházet mimo chromosomální jadernou hmotu – v **plasmidech**.

6.2.1.4.3 Plasmidy

Plasmidy jsou lokalizované v cytoplasmě prokaryotických buněk a jsou to krátké (asi stokrát menší než chromosom) úseky extrachromosomální DNA ve formě kruhových molekul. V buňce jich může být až 100.

Tato dodatková DNA není pro život buňky nutná, ale může dotyčnou buňku zvýhodňovat při přežívání za různých situací. Plasmidy mohou kódovat například rezistenci na antibiotika a chemoterapeutika, odolnost vůči těžkým kovům, produkci antibiotik, produkci toxinů působících i na jiné bakterie, látky způsobující degradaci a oxidaci biologicky inertních nebo toxických organických látek, jako je ropa, toluen, benzaldehyd, tvorbu fimbrií, které zvyšují virulenci patogenů, ale i schopnost symbiózy hlízovitých bakterií s bobovitými rostlinami.

Replikace plasmidů probíhá autonomně, ale souběžně s replikací DNA. Tzv. episomový plasmid může být integrován do DNA. Jiné plasmidy, tzv. konjugativní, mají schopnost přecházet z jedné buňky (donor) do buňky druhé (recipient), přičemž se může jednat o jedince zcela jiného druhu. K tomuto dochází při konjugaci pomocí tzv. sex pilů. Nekonjugativní plasmidy mohou být přeneseny do druhé buňky pomocí bakteriofágů (v hlavičce se omylem uzavře místo fágové DNA ta plasmidová) při tzv. transdukci.

6.2.1.4.4 Inkluze, zásobní látky, vakuoly

V cytoplasmě bakteriálních buněk se vyskytuje řada rezervních látek ve formě kapének nebo granulí (**inkluze**), využívaných jako zdroj energie či potřebných živin. U bakterií nenajdeme zásobní látky na bázi neutrálních tuků jako je tomu u eukaryot, ani rezervní dusíkaté látky. Naopak **kyselina poly- β -hydroxymáselná** je rezervním materiálem typickým pro bakterie, kde je zdrojem energie a uhlíku a může tvořit až 60 % sušiny bakterie. Další rezervní látkou je **glykogen**, tedy nerozpustný polymer glukózy a **volutin**, což je polyfosfát

sloužící jako zdroj fosforu a volné, biochemicky využitelné energie. Některé sírné bakterie (např. *Thiobacillus*) ukládají v cytoplasmě zrníčka síry jako rezervní zdroj energie. Ve fototrofních a purpurových sírných bakteriích, ale i v některých jiných bakteriích se vyskytují **plynové vakuoly**. Jednoduchá membrána proteinové povahy je pevná, nepropouští vodu, ale pouze plyny

Některá inkusní tělíska jsou membránové váčky nebo inkluze do cytoplasmy, které obsahují fotosyntetické pigmenty a enzymy. V cytoplasmě některých bakterií se nachází různá barviva, převážně karotenoidy zbarvující buňky nebo celé kolonie žlutě, oranžově, růžově až červeně. Jiné bakterie obsahují černá melanoidní barviva nebo fenazinová barviva (modrá, červená).

6.2.2 Doména *Archaea*

Poslední poznatky ukazují, že nynější organismy se vyvinuly z progenota a nejdříve se oddělila větev domény bakterie, druhou větví byla jedna společná pro archebakterie a eukaryotní organismy. Z této druhé, zpočátku společné větve se v průběhu fylogeneze brzy oddělila větev pro archebakterie a dále postupoval samostatně vývoj eukaryot.

Archebakterie mají některé znaky společné s eukaryotickými organismy, některé s bakteriemi. S bakteriemi mají společnou prokaryotickou organizaci buňky, genetický materiál je uspořádán v nukleoidu (1 cyklický chromosom) a plasmidech, základní tvary buněk jsou podobné tvarům buněk bakterií, ale od bakterií se odlišují celou řadou vlastností. V porovnání s ostatními organismy včetně bakterií mají značně odlišný genom, kdy až 15 % bílkovin kódovaných v genomu je zcela unikátních a nevyskytujících se u jiných organismů. Geny přepisované do tRNA a rRNA obsahují introny podobně jako eukaryota. Buněčná stěna je podobná té, které mají grampozitivní bakterie, avšak je tvořena pseudopeptidoglykanem a neobsahují v ní kyselinu muramovou, často mají ve stěně tzv. S-vrstvu, tvořenou povrchovými proteiny. Tato vrstva zajišťuje ochranu před chemickými i mechanickými vlivy. Stavbou buněčné stěny se liší i od eukaryot, podobně jako složením cytoplasmatické membrány, jejíž stavba je poměrně unikátní a liší se od membrán ostatních forem života, tedy bakterií a eukaryot. U všech tří skupin se sice buněčné membrány skládají z lipidů, které se skládají z hydrofilní a hydrofobní části, ale lipidy archeí jsou v několika směrech neobvyklé. U většiny organismů jsou membrány složeny z fosfolipidové dvojvrstvy s rovným řetězcem, u archeí je díky jiné chemické konfiguraci membrána tvořena jednou vrstvou fosfolipidů s větveným řetězcem. Zatímco bakterie a eukaryota mají v membráně především glycerol-esterlipidy, fosfolipidy archeí jsou složeny z glycerol-eterlipidů, které se u ostatních

organismů nevyskytují. Eterové vazby archeí jsou stabilnější, což může přispívat ke skutečnosti, že archea jsou schopna přežívat v podmínkách extrémních teplot a v kyselých i zásaditých prostředích.

Archea se rozmnožují výhradně nepohlavně a to binárním dělením, fragmentací či pučením. Všichni potomci jedné archeobakterie mají tedy víceméně stejný genetický materiál (meióza neprobíhá). Detaily buněčného cyklu jsou na základě studií rodu *Sulfolobus* podobné jak bakteriálním, tak eukaryotním obdobám. Ve srovnání s bakteriemi, u nichž replikace probíhá jen z jednoho místa, u archeí je těchto tzv. replikačních počátků zpravidla více. Replikace, transkripce a translace tedy probíhá podobně jako u eukaryot. Příslušné DNA polymerázy jsou tak podobné spíše eukaryotním DNA polymerázám.

6.2.2.1 Ekologie a význam zástupců domény *Archaea*

Výživa u archeí je chemoautotrofní i chemoheterotrofní. U archeí se objevuje fototrofie, při níž se k získávání energie využívá sluneční záření. Tento proces je však vždy tzv. anoxygenní, tedy na rozdíl od fotosyntézy u něj nevzniká kyslík. V doméně *Archaea* nejsou známy žádné pravé fotosyntetizující organismy, které by nejen přeměňovaly sluneční energii na energii chemickou, ale rovněž ji využívaly k fixaci uhlíku a tím ji ukládaly pro pozdější použití. Fototrofní archea pomocí světelné energie vyrábějí makroergické sloučeniny (s vysokým obsahem naakumulované energie), jako je ATP, určené k okamžité spotřebě.

Příslušníci domény *Archaea* jsou adaptováni k životu na různých stanovištích. Kdysi byli považováni výlučně za obyvatele extrémních stanovišť (extrémofilové), dnes je však známo velké množství mezofilních druhů, které žijí například v mokřadech, odpadních vodách, oceánech, v půdě a při kořenech rostlin. Tato dřívější neznalost byla způsobena těžkou kultivovatelností většiny archeí, takže na živných půdách v laboratorních podmínkách z odebraných vzorků mořské vody, půdy a jiných zdrojů většinou nic nenarostlo. Přesto se dnes odhaduje, že tvoří až 20 % celkové biomasy organismů na Zemi. Ve světovém oceánu jsou archea významnou složkou planktonu a mohou zde činit až 40 % veškeré mikrobiální biomasy.

Příslušníky domény archea lze rozdělit dle fylogenetického hlediska na tři evoluční linie (říše) a podle fyziologického pojetí do několika základních fyziologických skupin: Jsou to halofilové (výskyt ve slané vodě), termofilové (život ve vysoké teplotě), alkalofilové (výskyt v zásaditém prostředí), acidofilové (život v kyselém prostředí) a skupina metanogenních archaea. Tyto skupiny však dnes již primárně neslouží ke klasifikaci archeí do taxonomických skupin, neboť některá archea lze zařadit do několika těchto skupin zároveň.

Halofilní druhy archeí, jako je rod *Halobacterium*, žijí v extrémně slaném prostředí (NaCl) a to zejména tehdy, přesahuje-li salinita 20 až 25 %, dokonce i 30 % což je nasycený roztok. Patří často k chemoheterotrofům a aerobům či fakultativním anaerobům.

Termofilní nebo **hypertermofilní** archea jsou aerobní, fakultativně anaerobní či striktně anaerobní. Nejlépe se množí v teplotách od 45 °C do 110 °C, jichž bývá dosaženo například v horkých pramenech a vřídlech, hypertermofilové mají optimum v teplotách okolo 80 °C. Avšak archeon označovaná jako Strain 121 se dělí ještě při teplotách kolem 121 °C, podobně také druh *Methanopyrus kandleri*. Za aerobních podmínek oxidují H₂S nebo síru na H₂SO₄ a za anaerobních podmínek redukují elementární síru na H₂S. Na druhé straně však existují také **psychrofilní** archaea, která vyhledávají velmi nízké teploty, například na dně chladných moří včetně těch v okolí Antarktidy.

Metanogenní archea jsou striktně anaerobní a dokáží přeměňovat CO₂, CO, molekuly s metylovou skupinou aj. na metan. Najdeme je v bahně, stojatých vodách, vyhnívacích nádržích, ale též v bachoru přežvýkavců (rod *Methanobacterium*, *Methanosarcina* aj.). Důležitým a specifickým enzymem v procesu tvorby metanu je metylkoenzym-M-reduktaza. Metanogenní mikroorganismy můžeme rozdělit na:

- (i) mikroorganismy využívající vodík: $4\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$,
- (ii) mikroorganismy využívající kyselinu octovou: $\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$.

Další archea, **alkalofilové a acidofilové**, rostou v prostředí s extrémním pH. Jedním z nejvýraznějších příkladů acidofilie je *Picrophilus torridus*, který žije v pH okolo 0, tedy v podobném pH, jaké má 1,2 molární roztok kyseliny sírové.

Na základě vlastností těchto různorodých extremofilních organismů se spekulovalo o existenci mimozemského života, například na Marsu. Dokonce se uvažuje o tom, že by mohly mikroorganismy podobného typu být mezi planetami přenášeny pomocí meteoritů.

Z hlediska cyklů prvků a látek mají archea význam například v koloběhu dusíku, kde se archea zapojují nejen do rozkladných procesů, které zpravidla dusík z ekosystému odstraňují (například denitrifikace či respirace za pomoci dusičnanů), ale i do procesů, které dusík živým organismům zpřístupňují (fixace dusíku a asimilace dusičnanů). V oceánech i v půdě se archea účastní také oxidace amoniaku. Do koloběhu síry se zapojují archea, která oxidují sloučeniny síry a uvolňují ji tak z hornin. Tak se tento prvek stává dostupným jiným organismům. Někdy však mohou archea (jako např. rod *Sulfolobus*) svými metabolickými pochody ovlivnit životní prostředí tím, že jako odpadní produkt vylučují kyselinu sírovou. V koloběhu uhlíku hrají zásadní roli metanogenní archea, tedy producenti metanu. Schopnost těchto archeí odstraňovat vodík z organických látek v sedimentech, mokřadech a čistírnách

odpadních vod je důležitá pro rozklad těchto látek. Druhou stranou mince je skutečnost, že metan je významný skleníkový plyn, zodpovědný z 18 % za skleníkový efekt. Celou řadu archeí lze nalézt v trávicím traktu živočichů, včetně člověka.

Mikroorganismy z domény *Archaea* lze využívat i v různých technologiích a průmyslu. Mnohá extrémofilní archea jsou například zdrojem enzymů, které umí pracovat i v drsných podmínkách prostředí, k nimž jsou právě tato archea přizpůsobena. Příkladem užití enzymů je archeální DNA polymeráza, jíž se používá jako katalyzátoru v procesu polymerázové řetězové reakce (způsob jak namnožit DNA). Takzvaná **Taq DNA polymeráza** byla poprvé získána z archebakterie *Thermus aquaticus* a byla výhodná pro PCR, kde se pracuje při vysokých teplotách a enzymy včetně normální DNA polymerázy by denaturovaly, čímž výrazně přispěla k rozvoji technologie PCR. V potravinářském průmyslu našly své místo enzymy amylázy, galaktosidázy aj. izolované z archeí rodu *Pyrococcus*, které i při teplotě přesahující bod varu si stále zachovávají svou katalytickou funkci a mohou se tak použít k výrobě potravin (např. mléka a syrovátky s nízkým obsahem cukru laktózy). Tyto enzymy mohou být odolné také vůči organickým rozpouštědlům a díky tomu se mohou používat i v průmyslu chemickém. Metanogenní archea se dají využívat pro biologické odbourávání látek při čištění odpadních vod jako součást technologického procesu anaerobní digesce. Zde mohou právě archea sloužit k produkci bioplynu.

Dle současných poznatků nezná věda žádný parazitický či patogenní druh řazený k doméně *Archaea*, ačkoli se takový objev v budoucnu nedá vyloučit.

Přes rychle se prohlubující poznatky jsou znalosti o morfologii, fyziologii a ekologické roli archeí jen útržkovité a mohou do budoucna přinést zajímavé a překvapivé poznatky.

6.2.3 Doména *Bacteria*

Tato doména zahrnuje jednobuněčné prokaryotické organismy – bakterie a sinice. Mezi organismy této domény se setkáváme se všemi hlavními typy získávání energie a zdroji uhlíkaté výživy – heterotrofní i autotrofní. Největší skupinou jsou chemoheterotrofové. U bakterií je běžná anaerobióza jak striktní, tak i fakultativní.

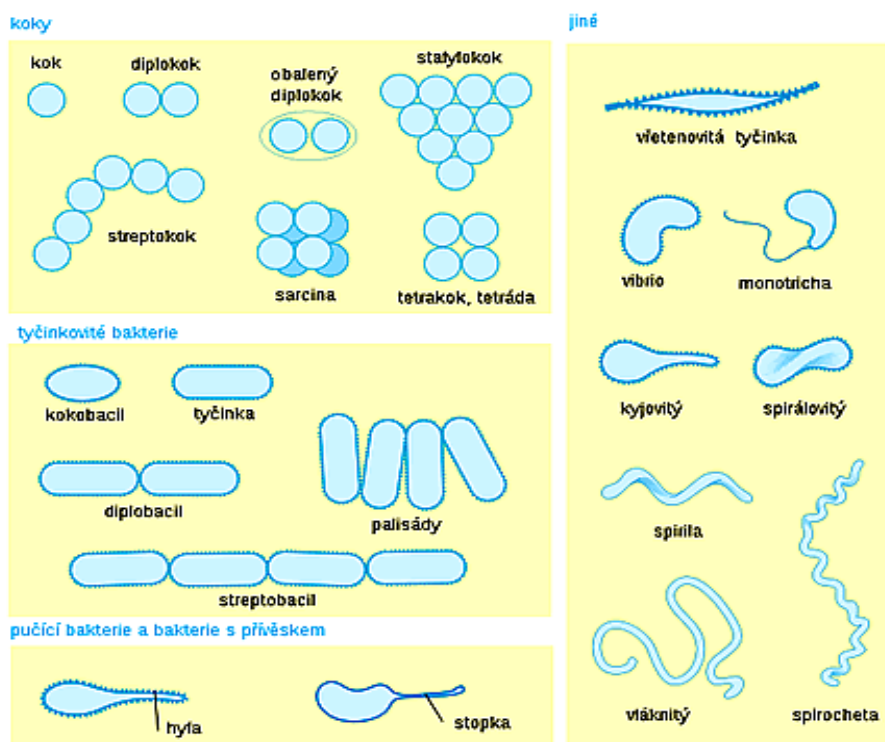
Geny bakterií na rozdíl od eukaryot i archea neobsahují intróny. Jedině u některých příslušníků prokaryot najdeme jeden z nejdůležitějších procesů v rámci koloběhů prvků, a to je schopnost fixovat vzdušný dusík a zpřístupnit tento biogenní prvek pro ostatní organismy této planety. Buněčná stěna obsahuje typické polymery – peptidoglykany.

6.2.3.1 Velikost a tvar bakterií

Nejmenší bakterie jsou stěží pozorovatelné běžným optickým mikroskopem a obecně můžeme říci, že buňky bakterií jsou zhruba desetkrát menší než buňky eukaryotní. Velikost bakterií se udává v μm a rozměry většiny bakterií leží v rozmezí od 0,5 do 10 μm .

Mezi nejběžnějšími a základními tvary bakterií i archeí najdeme tvary protáhlých válců zvané tyčinky a tvary kulovité, zvané koky, od kterých jsou odvozeny další.

Nejčastěji se vyskytujícím tvarem jsou **tyčinky** (obr. 4). Latinsky *bacillus*, stejně jako *bacterium* (z řec. *bakterion* – hůlka) rovněž značí tyčinku. Tyčinky mohou být rovné (většina bakterií, např. *Bacillus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*), krátké tyčinky se označují jako kokobacily nebo kokobakterie (např. *Acinetobacter calcoaceticus*), dlouhá větvcí se vlákna tvoří aktinomycety. Štíhlé tyčinky tvoří *Clostridium tetani*, robustní *Lactobacillus* a *Clostridium perfringens*, zakřivené tyčinky (rohličkovité) tvoří *Vibrio cholerae*, kyjovité tyčinky tvoří *Corinebacterium*, rozštěpené *Bifidobacterium*, mohou být i tyčinky vřetenovité. Tyčinky mohou mít i spirálovitý tvar (starší kultury *Campilobacter*), silnější spirály tvoří *Spirillum*, nepravidelné *Borrelia*, jemné pravidelné spirály *Treponema palidum* a velmi jemné spirály se zahnutými konci tvoří *Leptospira*. Tyčinky mohou být uspořádány jednotlivě, ve dvou označované jako diplobacily (např. *Moraxella*), v řetězcích (většina bakterií, např. *Bacillus*, *Lactobacillus*) nebo v palisádách (*Corinebacterium*).



Obr. 4 Tvary některých bakteriálních buněk (<http://katastrofy.info/foto/bakterie-tvary.gif>)

Když se bakterie dělí, mohou zůstat jedna ke druhé přichyceny a velmi časté je to právě u koků. Uspořádání, které pak vznikne, závisí na rovině buněčného dělení. **Koky** (řec. *kokkos* – jádro) dělicí se ve stejné rovině mohou vytvářet dvojice zvané **diplokoky** (*Leuconostoc*) nebo řetízky **streptokoky** (*Streptococcus salivarius*). Koky, které se dělí ve dvou rovinách, jsou uspořádány ve čtvercích neboli tetrádách (*Micrococcus luteus*). Koky dělicí se ve třech rovinách tvoří **sarciny** nebo pakety. Koky, jež se dělí nepravidelně a vytvářejí shluky, označujeme jako **stafylokoky** (řec. *stafylé* – hrozny), příkladem může být *Staphylococcus aureus*. Koky nemusí být pravidelné, mohou být zploštělé nebo na koncích zašpičatělé.

Některé bakterie mohou být **pleomorfní** (mnohotvárné, tedy nemající stálý tvar) a přecházet od koků k dlouhým vláknům v závislosti na stáří kultury a podmínkách růstu.

6.2.3.2 Systematické členění bakterií

Určení a vymezení jednotlivých druhů prokaryot a jejich zařazení do taxonomického systému mikroorganismů je mnohem složitější než u rostlinných či živočišných druhů. Pojetí druhu nelze přesně stanovit například proto, že u genetické výbavy prokaryot dochází k rychlé výměně genů při tzv. horizontálním genetickém přenosu. Systematika mikroorganismů vychází z posuzování fenotypových a genotypových vlastností cílem rozdělení do skupin na základě vzájemné podobnosti. Existuje vícero přístupů podle důrazu na výběr základních charakteristik rozhodujících o systematickém zařazení konkrétního druhu. V poslední době se začíná prosazovat dělení dle fylogenetických znaků získaných ze sekvencí vybraných ribonukleových kyselin. Na základě analýzy sekvencí 16S rRNA byl sestaven fylogenetický strom bakterií, ve kterém se rozlišuje 12 hlavních linií: Proteobakterie, Cyanobakterie, Grampozitivní bakterie, Chlamydie, *Planctomyces*, *Bacteroides/Flavobacterium/Cytophaga*, zelené sírné bakterie, spirochéty, *Deinococcus*, zelené nesírné bakterie (*Chloroflexus*), *Thermotoga* a *Aquifex/Hydrogenobacter*.

Nicméně zatím převládá klasický způsob dělení bakterií na základě složení buněčné stěny (na **gram negativní bakterie a gram pozitivní bakterie**), morfologického tvaru, typu rozmnožování, buněčného cyklu a fenotypových vlastností. Na základě těchto klasických taxonomických systémů můžeme vyčlenit z bakterií tyto specifické skupiny aktinomycety, myxobakterie, mykoplazmy, chlamydie, rickettsie a sinice.

6.2.3.2.1 Aktinomycety

Aktinomycety neboli **vláknité bakterie**, tvoří dlouhá tenká vlákna o průměru zhruba 1 mikrometr a délce až několik milimetrů. Vlákna (**pseudohyfy**) nemají přehrádky, je to jediná větvcí se buňka. Hyfy tvoří mycelium, které se podobně jako u vláknitých mikromycet formuje jako **substrátové** (zajišťuje výživu) a **vzdušné**. Na vzdušeném myceliu se tvoří specifické hyfy – **sporofory** se **sporami**, kterými se aktinomycety rozmnožují. Tvar sporoforu a uspořádání spor je pro daný druh typický a tohoto znaku se využívá v taxonomii aktinomycet.

Aktinomycety jsou grampozitivní, fakultativně anaerobní, ale především aerobní bakterie. Řada druhů aktinomycet produkuje antibiotika. Produkují rovněž barviva, tvoří barevné mycelium – červené, modré, fialové, růžové, zelené, žluté, šedé i bílé. Jsou to saprofyty, rozkládají organické látky v přírodě, především v půdě. Půdní aktinomycety jsou důležitými dekompozitory, najdeme je hlavně v neutrálních nebo zásaditých půdách. V jednom gramu můžeme najít až 10^8 jedinců. Optimální teplota růstu je pro většinou z nich 15 °C, jiné jsou termofilní. Řada druhů může být patogenních pro rostliny, živočichy i člověka.

Z význačných zástupců aktinomycet můžeme jmenovat např. rod *Streptomyces*, patří k nejčastěji se vyskytujícím aktinomycetám v půdě, najdeme ho ale i v jiných prostředích. Produkují antibiotika (antibakteriální, antifungální), z nichž některá se i průmyslově vyrábějí (streptomycin, cykloheximid, tetracyklin, polyenová antibiotika). Některé druhy mohou produkovat i více antibiotik s různým spektrem účinku.

Patogenní *Streptomyces scabies* způsobuje strupovitost bramborových hlíz, *Streptomyces olivaceus* se využívá k výrobě vitamínu B₁₂. *Sterpomyces griseus* produkuje antibiotikum streptomycin (inhibice syntézy bílkovin u jiných bakterií) a cykloheximid (inhibice syntézy bílkovin u eukaryotních organismů, též u kvasinek a plísní), *Streptomyces aureofaciens* produkuje antibiotikum chlortetracyklin a vitamín B₁₂. Po pomnožení na otrubách se využívá jako přísada do krmiv jatečných zvířat (podání vitamínů a antibiotika v jednom).

Do rodu *Frankia* patří aerobní nebo mikroaerofilní, mezofilní, chemoorganotrofní grampozitivní vláknité bakterie. Žijí v symbiotickém vztahu na kořenech olší nebo hlošín a jsou to fixátoři vzdušného dusíku. Rod *Thermoactinomyces* je termofilní rod s optimální teplotou růstu při 60 °C. Je důležitou složkou kompostu, produkuje řadu enzymů (proteázy, lipázy, amylázy).

6.2.3.2.2 Myxobakterie

Označují se také jako klouzavé bakterie, protože se pohybují pomocí vylučovaného slizu. Jsou to gramnegativní chemoheterotrofní, striktně aerobní bezbičíkaté tyčinkovité bakterie. Často přecházejí po agregaci do tvaru plodniček (různá seskupení co do tvaru i barvy, makroskopicky viditelná), ve kterých se mění na klidové formy – **myxospory**, které mají tvar koků nebo tyčinek. Z plodnice se opět dostávají a za vhodných podmínek vyklíčí do vegetativní formy.

Jsou to typické půdní mikroorganismy, účastní se rozkladu hůře rozložitelné organické hmoty v půdě (např. celulóza). Někdy mohou znehodnocovat potravinářské suroviny a potraviny rostlinného původu, ale i poškozovat některé obalové materiály. Zástupcem je například rod *Myxococcus polyangium*.

6.2.3.2.3 Mykoplasmy, chlamydie a rickettsie

Skupiny bakterií: mykoplasmy, chlamydie a rickettsie mají několik společných rysů. Mají pleomorfní tvar, neboť s výjimkou rickettsií nemají buněčnou stěnu. Jsou to vnitrobuněční parazité, životní cyklus mimo hostitelskou buňku nebyl většinou prokázán.

Mykoplasmy je skupina bakterií, jejíž příslušníci mají pleomorfní (proměnlivý) tvar, tvoří sférické buňky a štíhlá větvená vlákna, jsou fakultativně anaerobní a obvykle nepohyblivé. Postrádají buněčnou stěnu, mají jen cytoplasmatickou membránu. Jsou chemoheterotrofní. Jsou to parazité a patogeny savců a ptáků, způsobují infekce urogenitálního a respiračního traktu (např. *Mykoplasma hominis*, *M. pneumoniae*). Zařazují se sem i fytoplasmy (nyní někdy řazeny do samostatné skupiny) způsobující choroby rostlin. Žijí pouze v rostlinných sítkovicích nebo v tkáních hmyzích přenašečů (vektorů). Nejsou kultivovatelné v umělých podmínkách *in vitro*.

Rod *Chlamydia* tvoří kokovité buňky, které nejsou schopné syntetizovat ATP, jsou to vnitrobuněční parazité množící se ve vakuolách savčích a ptačích buněk, jejich buněčná stěna neobsahuje kyselinu muramovou (peptidoglykan tak chybí, stěna je z proteinů). Ze zástupců lze jmenovat *Ch. trachomatis*, která je jako patogen původce závažných pohlavně přenosných, očních a urogenitálních onemocnění, přirozeným hostitelem je člověk. Rod *Chlamydochlamydia* se zástupcem např. *Ch. psittaci* je patogenní, je původcem psitakózy (papouščí nemoc); jde o zoonózu – ornitózu, jenž může mít chřipkovou, plicní nebo tyfoidní formu. *Ch. pneumoniae* je primární patogen respiračního traktu člověka.

Rod *Rickettsia* tvoří krátké, gramnegativní tyčinky často ve dvojicích. Jsou to vnitrobuněční parazité, reprodukcují se v cytoplasmě eukaryotických buněk, mají

peptidoglykanovou vrstvou, výskyt v přírodě je spjat s členovci (klíšťata, roztoči, blechy, vši a jiný hmyz) a přirozený cyklus zahrnuje jako hostitele obratlovce i bezobratlé. *R. prowazekii* (pojmenovaná podle doktora S. Prowazka, rodáka z Jindřichova Hradce) je původcem epidemického tyfu (skvrnivky), neléčené onemocnění je až z 50 % smrtelné, přenašečem je veš šatní.

6.2.3.2.4 Cyanobakterie (sinice)

Sinice jsou gramnegativní bakterie, které mají v tylakoidech asimilační barviva jako chlorofyl **a** a fykobiliny (např. fykocyanin, fykoeritruin), ale obsahují též karotenoidy (beta karoten, zeaxantin atd.). Buňky jsou v důsledku převládajících pigmentů fykocyaninu a fykoeritruinu modrozelené, hnědozelené, růžové až červené. Využívají světlo jako jediný zdroj energie, v průběhu fotosyntézy uvolňují O₂ podobně jako rostliny. Produktem fotosyntézy je většinou glykogen.

Morfologie sinic je poměrně jednoduchá. Tvar jednobuněčných nebo v koloniích žijících sinic je kulovitý, oválný, válcovitý, paličkovitý, ojediněle větvenitý. Jednobuněčné cyanobakterie jsou často seskupeny do vláknitých útvarů. Mohou se pohybovat trhavým pohybem způsobeným početnými a hustými řadami mikrofibril. Mnohé sinice jsou schopné klouzavého nebo plazivého pohybu. Specifickými buňkami některých vláknitých sinic jsou heterocysty a akinety, které se odlišují od vegetativních buněk tvarem a často i zbarvením. **Heterocysty** mají význam při poutání vzdušného dusíku, obsahují enzym nitrogenázu. **Akinety** slouží k přetrvávání za nepříznivých podmínek.

Sinice jsou všeobecně rozšířené v přírodě. Vyskytují se v nejrůznějších biotopech, nejčastěji ve sladkých vodách, půdě, vlhkém dřevě, ale i slané mořské vodě. Ve stojatých a mírně tekoucích vodách tvoří sinice důležitou složku fytoplanktonu a fyto Bentosu. Planktonové druhy způsobují při masovém rozvoji tzv. **vodní květ**. Tento vodní květ se tvoří díky zvýšenému obsahu organických a anorganických živin (eutrofizace vod), především dusíku a fosforu. Ve vodárenských nádržích je hromadný rozvoj sinic nežádoucí, neboť negativně ovlivňuje biologickou jakost vody. Některé druhy sinic tvoří toxické látky (**cyanotoxiny**), které brzdí rozvoj jiných vodních organismů. V průběhu rozvoje vodního květu může být koncentrace toxických látek tak vysoká, že může zapříčinit úhyn ptáků a malých hospodářských zvířat. Cyanotoxiny inhibují cholin-esterázovou aktivitu a vyvolávají křeče svalstva vedoucí k dušení, selhání jater, ledvin, srdce, u ryb záber a někdy mohou toxiny iniciovat nádorová bujení. Na konci vegetační sezony odumírá značná část naprodukované biomasy sinic a kyslíkový deficit ve vodě způsobený spotřebou O₂

dekompozitory této biomasy a kumulace toxických produktů anaerobního rozkladu (např. amoniak) jsou příčinou úhynu vodních živočichů. Proti sinicím se používají různé přípravky, jako perspektivní se jeví biologický způsob boje, např. použití virů ze skupiny cyanofágů a bakterií rodu *Cytophaga*.

Některé sinice jsou schopné žít symbioticky s některými eukaryoty (rozsivky nebo houby) a vytvářet útvary podobné rostlinám, lišejníkům.

6.2.3.3 Spory bakterií a sporulace

Některé grampozitivní tyčinkovité bakterie, hlavně rody *Bacillus* a *Clostridium* mohou v nepříznivých podmínkách pro jejich růst a rozmnožování proměnit svoji vegetativní a fyziologicky aktivní buňku na buňku klidovou neboli dormantní. Tato je charakterizována téměř nulovým metabolismem, ale zato extrémní odolností vůči vnějším vlivům. Mezi dormantní formy bakterií zařazujeme **endospory** (bakterie), **chlamydospory** (aktinomycety) a **cysty** (např. *Azotobacter chroococcum*).

Endospory bakterií tvořící se uvnitř buňky (vždy jen jedna) patří k termorezistentním a nejodolnějším formám spor. Sporulovat začíná buňka například tehdy, když ubývá živin nebo dochází k vysychání v bezprostředním okolí. Tvorba spor je pro buňku velmi energeticky náročná a trvá asi 5 až 10 hodin. Výsledkem procesu sporulace je buňka se stejným genomem jako měla buňka před sporulací, ale se zcela rozdílnou morfologií i celou molekulární stavbou. Proces sporulace můžeme rozlišit do sedmi morfologických fází (obr. 5). Jako nulové stádium se označuje původní vegetativní buňka. Ve fázi I se mění morfologie bakteriálního chromatinového vlákna. Fáze II je charakterizována rozdělením DNA, což je následováno rozdělením buňky přehrádkou (septem) z dvojité cytoplasmatické membrány na dvě nestejně části, budoucí sporu a původní vegetativní buňku. Tento proces podobný běžnému buněčnému dělení, kdy každá z obou buněk má úplný genom, však čeká různý vývoj a obě buňky jsou různě velké. V průběhu fáze III putuje menší polovina původní buňky, budoucí prespora, dovnitř mateřské, přičemž původní septum roste směrem k pólům tak, že na konci tohoto stádium uvnitř mateřské buňky vzniká samostatná, dvojitou membránou obalená specifická buňka – prespora (předspora). Po vzniku prespory je proces sporulace už nevratný, sporulace dospěje ke konci bez ohledu na případnou změnu podmínek prostředí. Ve fázi IV se tvoří v prostoru mezi vnitřní a vnější membránou prespory tzv. kortex, což je peptidoglykanová vrstva specifické stavby, která je nositelem extrémní odolnosti spory proti mechanickým a jiným poškozujícím účinkům prostředí. Nejdříve se tvoří jeho nejvnitřnější vrstva, která je stavbou srovnatelná s peptidoglykanem buněčné stěny vegetativní buňky.

Následně se vytvoří silnější vrstva specifického sporového peptidoglykanu kortexu. V tomto stádiu se také začíná syntetizovat kyselina dipikolinová a spora začíná hromadit vápník, což napomáhá ke ztrátě vody s konečným důsledkem snížení metabolismu a vzniku termorezistence. Ve fázi V nad vnější membránou vzniknou bílkovinné vrstvy tvořící dohromady plášť spory. Pokračuje tvorba kyseliny dipikolinové a hromadění Ca^{2+} . Ve fázi VI, kdy se odehrává vlastní maturace (zrání) spory, má tato už typické a definitivní vlastnosti, jako je nízký obsah vody a odolnost proti nepříznivým chemickým a fyzikálním vlivům. Jako fáze VII je označována lýze mateřské buňky a uvolnění spory. Spory některých bakteriálních druhů mají jako nejsvrchnější vrstvu ještě víceméně volný, tenký a jemný obal nazvaný exosporium, který se ovšem začíná tvořit už ve třetí fázi sporulace. Morfologické změny probíhající při sporulaci provází změny fyziologické a biochemické, tzn. tvorba kyseliny dipikolinové, tvorba bílkovinného pláště, zvýšení aktivity Krebsova cyklu, zvýšení aktivity proteáz a amyláz, produkce antibiotik atd. Bakteriální protoplast obalený novými vrstvami tvoří hotovou dormantní endosporu. Protoplast sám obsahuje kromě úplného genomu malé množství úplného proteosyntetického aparátu vč. ribozomu, tRNA, přídavných enzymů a bílkovinných faktorů. energii potřebnou na syntézu struktur spory získává buňka oxidací zásobní nitrobenčonné poly-beta-hydroxymásečné kyseliny.

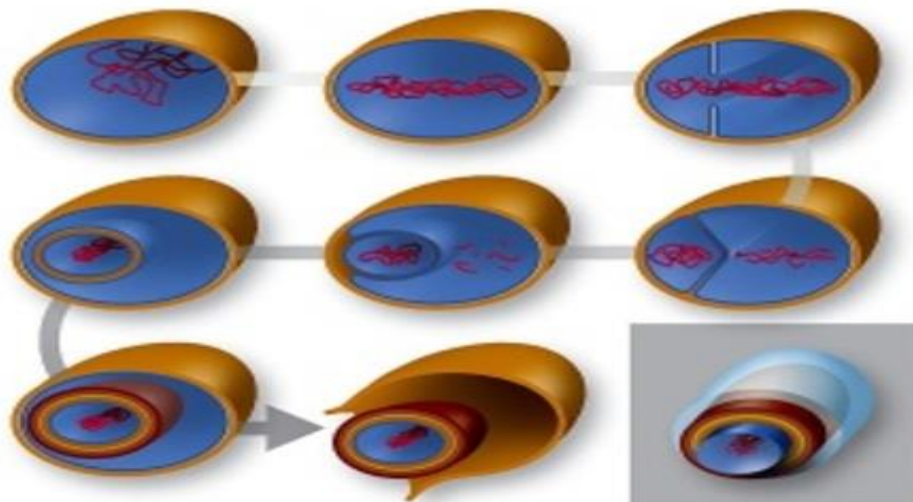
Mezi nejdůležitější fyziologické vlastnosti bakteriálních endospor patří: rezistence vůči vysychání v důsledku nízkého, téměř nulového obsahu volné vody (**dehydratace**) a s tím související vysoká světlostlupnost spory a nízká aktivita přítomných enzymů a **termorezistence**, při které jsou schopny přežít 15 až 30 minut 115 až 120 °C a která je způsobena nejen nízkým obsahem vody, ale především přítomností dipikolinátu vápenatého a vysokého obsahu lipidů v obalových vrstvách endospory. Zničí je jen autoklavování, tedy var za zvýšeného tlaku (20 min při tlaku 0,2 MPa). Termorezistenci ovlivňuje například pH, kyselé prostředí zpravidla snižuje termorezistenci spor, na druhé straně přítomnost lipidů, bílkovin a vyšších koncentrací cukrů ji zvyšuje. Jestliže tedy konzervujeme potraviny v kyselém prostředí pod pH 4, stačí použít teploty pod 100 °C, protože kyselé prostředí nedovolí sporám vyklíčit a vzniknout vegetativním buňkám. Odolnost vůči toxickým látkám způsobuje nepropustnost obalových vrstev endospory. Radiorezistence je způsobená přítomností aminokyselin obsahujících síru v obalových vrstvách.

V buňce se většinou tvoří jedna kulatá nebo oválná spora, která může být umístěna centrálně, terminálně, tedy na konci buňky nebo subterminálně mezi středem a koncem buňky. Spory mohou, ale nemusí, deformovat původní tvar buňky. K deformacím dochází zejména u rodu *Clostridium*, u něhož se tvoří typické útvary (vřetenovité klostridium

a kyjovité plektridium). Deformace buněk sporami se vyskytuje i u rodu *Bacillus*. Tvar, umístění spory a případná deformace buňky jsou důležitými taxonomickými znaky.

V podobě spor mohou bakterie přežívat v anabióze několik měsíců až několik set let. I když má bakteriální endospora v podstatě zastavený metabolismus může se zpětně klíčením (**germinací**) přeměnit na rostoucí a množící se vegetativní buňku. Impulzem k tomu se stávají příznivé životní podmínky pro růst a rozmnožování. Hlavním iniciátorem klíčení je voda, kterou spora absorbuje a nabobtnává. Aktivuje se a zintenzivňuje se metabolismus za nárůstu aktivity enzymů přítomných v protoplasmě spory. Současně se vylučují vápenaté soli kyseliny dipikolinové, spora ztrácí světlolomnost a termorezistenci. Rozpustí se kortex a později i vnější obal spory, přes který proniká klíček. Klíčení spory je proces metabolický a nevratný. Vyvíjecí se nová vegetativní buňka naroste do normální velikosti a začíná se dělit. Aktivitu klíčení některých spor zvyšuje krátkodobé zahřátí do teploty 65 °C. Přeměna endospory na vegetativní buňku je relativně krátká a trvá 30 až 60 minut.

U archeí tvorba spor v bakteriologickém slova smyslu nebyla prozatím objevena, přesto některá *Haloarchaea* střídají několik rozdílných morfologických typů buněk, včetně tlustostěnných struktur, které odolávají vysokému osmotickému tlaku na halofilních stanovištích.



Obr. 5 Fáze bakteriální sporulace (<http://fineartamerica.com/featured/bacterial-endospore-formation-diagram-art-for-science.html>)

6.2.3.4 Ekologie a význam bakterií

Bakterie jsou velice důležitou součástí půdní biocenózy. Jsou nejdynamičtější a nejpočetnější, fyziologicky velmi aktivní skupinou edafonu. V jednom gramu půdy může žít 10^7 až 10^{11} bakterií. Mezi různými druhy bakterií najdeme všechny existující formy metabolismu, jsou tak velmi důležitou složkou v koloběžích živin a energie. V půdě najdeme celou řadu autotrofních bakterií, které jako zdroje C využívají CO_2 a zdrojem energií může být sluneční energie (sinice a fototrofní bakterie), chemolitorofní bakterie pak získávají energii z chemických oxidací redukovaných anorganických sloučenin, např. amoniaku (nitrifikační bakterie), síry (sírné bakterie) nebo železa (železité bakterie). Zdrojem uhlíku pro heterotrofní bakterie jsou rozličné organické látky nacházející se v bohaté míře v půdě v podobě odumřelých částí organismů. Těchto bakterií (saprotrofové) je v půdě většina a sehrávají obrovskou roli v trofických řetězcích jako dekompozitoři, kteří uvolňují živiny potřebné pro primární producenty, především rostliny. Některé druhy bakterií (biotrofové) získávají uhlík a energii z buněk živých organismů, které nepoškozují, ale naopak žijí v mutualistické symbióze (hlízkotvorné bakterie fixující vzdušný dusík). Více o úloze bakterií v půdě se píše v dalších kapitolách o půdě a koloběžích živin.

Podobný význam mají bakterie ve vodních ekosystémech. Najdeme zde jak bakterie autotrofní, tak bakterie heterotrofní napomáhající rozkladu ve vodě se nacházejících organických látek. Ve vodě se vyskytují bakterie autochtonní, ale i alochtonní pocházející z jiných prostředí, například z půdy a vzduchu nebo se zde objevují vlivem antropogenní činnosti. K těmto patří například druhy indukující všeobecnou nebo fekální kontaminaci vody (nebezpečné především u pitných vod). Jsou to především tzv. koliformní bakterie a bakterie ze skupiny enterokoků, které mohou po požití způsobovat zdravotní problémy.

Vzduch není přirozeným prostředím pro bakterie z důvodů nedostatečné vlhkosti a nedostatku některých základních živin. Vzduch slouží především jako přechováváč a přenašeč bakterií, kam se dostávají především z vody a půdy unášené na prachových či vodních částicích. Přesto je ve vzduchu dost mikroorganismů mající hygienický význam. Zastoupení a množství bakterií ovlivňuje podnebí, nadmořská výška, činnost člověka atd. Ve vlhkém vzduchu je více bakterií než v suchém a daleko více bakterií najdeme ve znečištěném vzduchu v průmyslových oblastech oproti venkovským oblastem. Více bakterií najdeme také v uzavřených místnostech a to včetně patogenních.

Bakterie tvoří také velice důležitou složku lidské mikroflory; můžeme je nalézt na povrchu těla, v různých dutinách (uši, horní cesty dýchací atd.), jsou velice důležité v našem

trávicím traktu, kde nám pomáhají trávit potravu, syntetizují některé vitamíny atd. Pomáhají nás chránit před patogeny. Více v kapitole o biofilmu.

Bakterie díky výrazné metabolické aktivitě jsou ve velkém využívány v potravinářském, farmaceutickém, i jiném průmyslu. V současné době zažívá průmyslová mikrobiologie revoluci v biotechnologii. Jsou vyhledávány a selektovány nejvýkonnější druhy a kmeny bakterií. Díky genovému inženýrství a používání rekombinantní DNA se posilují či nově vkládají dispozice pro produkci látek, které bakterie nikdy neprodukovaly (lidské hormony apod.). Výstupem průmyslové mikrobiologie jsou buď vlastní buňky nebo jsou tyto organismy používány jako biokonvertory určitých substrátů na žádané produkty. Tyto produkty mohou být například enzymy, antibiotika, potravinové doplňky, alkohol, konzervační látky. K výrobě mléčných výrobků (jogurty, sýry atd.) se využívají tzv. bakterie mléčného kvašení (např. *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii*), k výrobě octa je využíván acetobacter, k výrobě aminokyselin (hlavně kyselina glutamová, metionin, lysin) se využívá např. *Corynebacterium glutamicum*. Ve farmaceutickém průmyslu, kde se zpracovávají mikroby naprodukované steroidy, vakcíny, lidské hormony, interferon apod., se využívá často geneticky modifikovaných bakterií.

Aktivít bakterií se využívá při čištění pitných i odpadních vod, ze kterých odstraňují organické látky, minerální látky (nitráty, fosfáty apod.) i toxické látky z vod v aerobních či anaerobních podmínkách. Schopnosti rozkladu rozličných látek se využívá při bioremediacích, tedy procesech odstraňování cizorodých škodlivých látek, často antropogenního původu, z prostředí pomocí bakterií. Například odstraňování ropného znečištění, degradace PCB látek, různých odpadů z průmyslu atd. Bakterií lze využít i k biologickému loužení rud. Užívá se tam, kde se vytěží klasicky ruda určitého kovu a odpad obsahuje nějaký vzácný kov. Ten se z něj získává hlavně díky bakteriím. Např. měď díky *Thiobacillus ferrooxidans*.

Schopnosti některých patogenních bakterií inkorporovat plasmidy do DNA hostitele se využívá v genetickém inženýrství, zejména *Agrobacterium tumefaciens* je používán při cílené přípravě geneticky modifikovaných rostlin. Princip je založen na průniku části DNA bakterie (Ti-plasmidu, tzv. T-DNA) do rostlinné buňky a její polonáhodné začlenění do genomu rostliny.

Některých druhů bakterií se využívá také při **biologické ochraně zemědělských a zahradních plodin**, např. insekticidy obsahující bakterie *Bacillus thuringiensis*, dále se používá *Bacillus popilliae* nebo *Serratia marcescens*. *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* vykazuje toxické účinky vůči larvám moskytů, což by mohlo pomoci potlačovat přenašeče

malárie. Druh *Pseudomonas fluorescens* je využíván proti některým chorobám obilnin nebo tabáku, *Bacillus subtilis* proti fuzariózám kukuřice.

V boji proti patogenním bakteriím by se mohl využít mikrob *Bdellovibrio bacteriovorus* nejmenší světový predátor (0,2 až 0,5 μm x 0,5 až 1,4 μm). Jméno *Bdellovibrio* pochází z latiny (*bdella* znamená rozpouštění a *vibrio* je výraz pro tvar této bakterie. *Bdellovibrio* má dvoufázový životní cyklus: nerostoucí pohyblivou predační fázi a nepohyblivou intracelulární reprodukční fázi. V predační fázi jsou buňky velmi rychle pohyblivé (trhavý pohyb směrem ke kořisti), kdy se řídí změnou koncentrace charakteristických látek vylučovaných do prostředí z buněk kořisti (chemotaxe). *Bdellovibrio* se pohybuje díky jedinému flagelu a je schopno se pohybovat neuvěřitelnou rychlostí 100 buněčných délek za sekundu, díky které urazí vzdálenost 1 m za pouhé dvě hodiny!

S negativním působením bakterií je spojen parazitický způsob existence některých bakterií a jejich patogenita. Choroby způsobené mikroorganismy včetně bakterií (**bakteriízy**), byly ostatně na počátku zájmu o mikroorganismy. Mezi bakteriemi najdeme celou řadu obligátních nebo fakultativních parazitů hub, rostlin, živočichů i člověka. Přestože některé bakterie mohou být patogeny na samotném povrchu těla daného organismu, značné množství jich vstupuje dovnitř různými tělními otvory, například u rostlin průduchy, skrz sliznice živočichů, ranami, případně přes kůži. V místě, kde se uchytlí a začnou množit, mohou způsobit zánětlivá hnisavá ložiska, ničit tkáň či pletiva (např. nekróza) či škodit svými vlastními toxiny.

Z patogenních bakterií způsobujících choroby lidí lze vyjmenovat například *Streptococcus pyogenes* způsobující velmi časté angíny, ale třeba i spálu. Další bakterií přenášenou vzduchem (kapénková infekce) je *S. pneumoniae*, která způsobuje záněty horních i dolních cest dýchacích, podobně jako *Staphylococcus aureus*. Záněty plic mohou dále způsobovat *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae* a v poslední době často *Chlamidia pneumoniae*. Takzvanou legionářskou nemoc – pneumonii vyvolává *Legionella pneumophila*. Tuberkulózu plic způsobuje *Mycobacterium tuberculosis*, v roce 2002 jí byly podle WHO infikovány dvě miliardy lidí a ročně na ní umíraly dva miliony lidí. Záškrt zapříčiňuje *Corynebacterium diphtheriae*.

Záněty mozkových blan – meningitidy vyvolávají různé bakterie, jsou to například *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, různí zástupci rodu *Nocardia* atd. a u kojenců a starých lidí *Listeria monocytogenes*.

Infekce měkkých tkání po poranění nebo po operacích (nozokomiální infekce) způsobují např. *Staphylococcus epidermidis* nebo *Staphylococcus aureus*, zvláště nebezpečný je jeho

k antibiotikům odolný multirezistentní kmen zvaný MRSA. Velice nebezpečná je tetanová infekce způsobená bakterií *Clostridium tetani*, plynatou sněť zase iniciuje *Clostridium perfringens*, lepru *Mycobacter leprae*.

K bakteriálním nemocem přenášeným pohlavním stykem patří syfilis vedoucí ve své poslední fázi k těžkému poškození nervové soustavy, rozpadu osobnosti a až ke smrti, kterou způsobuje *Treponema pallidum*. Kapavku, která může být zdrojem sterility, vyvolává *Neisseria gonorrhoeae*, u které roste počet kmenů resistantních na penicilin.

V trávicím traktu může probíhat celá řada bakteriálních onemocnění. Např. shigelóza, která je spojena se špatnou hygienou, proniká do hlenu tenkého střeva, kde vyvolává lokální abscesy, vedoucí až k těžkému poškození sliznice. Taky inhibuje absorpci živin ve střevě. Salmonelóza nebo břišní tyfus (*Salmonella typhi*) se projevuje při nejmírnější formě onemocnění těžkými průjmy. V horší nastává horečka a může vyvolat endotoxický šok. Ještě horší je septická varianta, kdy se nákaza roznáší do důležitých orgánů. *Vibrio cholerae*, způsobující cholera, se běžně vyskytuje ve vodě. Způsobuje úporné průjmy a produkuje toxin cholera toxin, který vyvolává poruchu iontové rovnováhy v buňkách, dochází k dehydrataci organismu. Velice nebezpečný je botulismus, jehož původce je půdní sporující bakterie *Clostridium botulinum*. Do trávicího traktu se mohou dostat z půdy neomytou zeleninou, po nedokonalé tepelné úpravě spory lehce přežívají. Botulotoxin, který tyto bakterie produkují je nejúčinnější jed na světě, 1 mg této látky může zabít až 1 000 lidí. Prvotním příznakem infekce je dvojité vidění.

Celá řada nebezpečných bakteriálních chorob je přenášena hmyzem. Například bakterie *Yersinia pestis* způsobující dýmějový mor je přenášena blechami z hlodavců (krys); do Evropy se dostala z Asie hedvábnou cestou. Lymeská borelióza, jejímž původcem je spirochéta *Borrelia burgdorferi*, bývá přenášena klíštětem, dospělcem i larvami. Pozdní fáze této choroby vede k imobilitě, neboť poškozuje klouby, svaly a může přejít až do nervového stádia, kdy napadá centrální nervový systém. Bakterie *Rickettsia prowazekii*, způsobující skvrnitý tyfus, je přenášena vši šatní.

Mezi bakteriemi najdeme i původce chorob rostlin. Mezi jednoduchými bakteriemi bez buněčné stěny (mykoplasmy) najdeme celou řadu rostlinných patogenů, kterým říkáme fytoplasmy. Žijí pouze v rostlinných sítkovicích (floém) nebo v tkáních hmyzích přenašečů (vektorů). Jsou tedy přenášeny hmyzem nebo vegetativním množením. Příznaky jsou podobné virovým chorobám. Jsou citlivé na antibiotikum tetracyklin, avšak praktická léčba antibiotiky není proveditelná. Ochrana proti nim je podobná opatřením proti virovým chorobám (především prevence). Hospodářsky významných mykoplasmóz v našich podmínkách je asi

50 druhů. Nejvýznamnější je proliferace jabloní (*Phytoplasma mali*), jejímiž symptomy jsou rýhovaná kůra, výhony jsou slabé a metlovité, narostlé v ostrém úhlu k terminálu, později kvetou, plody jsou malé, méně chutné, napadený strom je častěji napadán padlím. Významný je i tzv. stolbur brambor, vyskytuje se i stolbur rajčete, papriky, celeru, révy vinné, ale i třeba plevelů, jako je svlačec, z nichž se může šířit na kulturní rostliny. Rozšířená je fytoplasmová žloutenka nebo zelenokvětost aster. V poslední době se stále častěji objevuje evropská žloutenka peckovin napadající především broskve a meruňky. Fytoplasmového původu je i nebezpečná a rozšiřující se zakrslost neboli metlovitost maliníku.

Klasických bakterióz je ze zhruba 400 známých a z toho na našem území rozšířeno asi čtvrtina. Některé jsou polyfágní a mohou napadat celou řadu rostlinných druhů, jako například *Erwinia carotovora*, která je původcem měkkých hnilob u brambor, kořenové zeleniny a celé řady rostlin. *Agrobacterium tumefaciens* je příčinou nádorovitosti (především kořenů) více jak 600 druhů rostlin, hlavně dřevin. Většina původců bakterióz je však úzce vázána jen na jeden nebo několik blízkých příbuzných druhů rostlin. Patří sem například *Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii* vyvolávající skvrnitost a vadnutí muškátů nebo aktinomyceta *Streptomyces scabies* způsobující strupovitost bramboru. Na závažnou spálu růžovitých způsobenou bakterií *Erwinia amylovora* se dokonce vztahují speciální fytosanitární opatření.

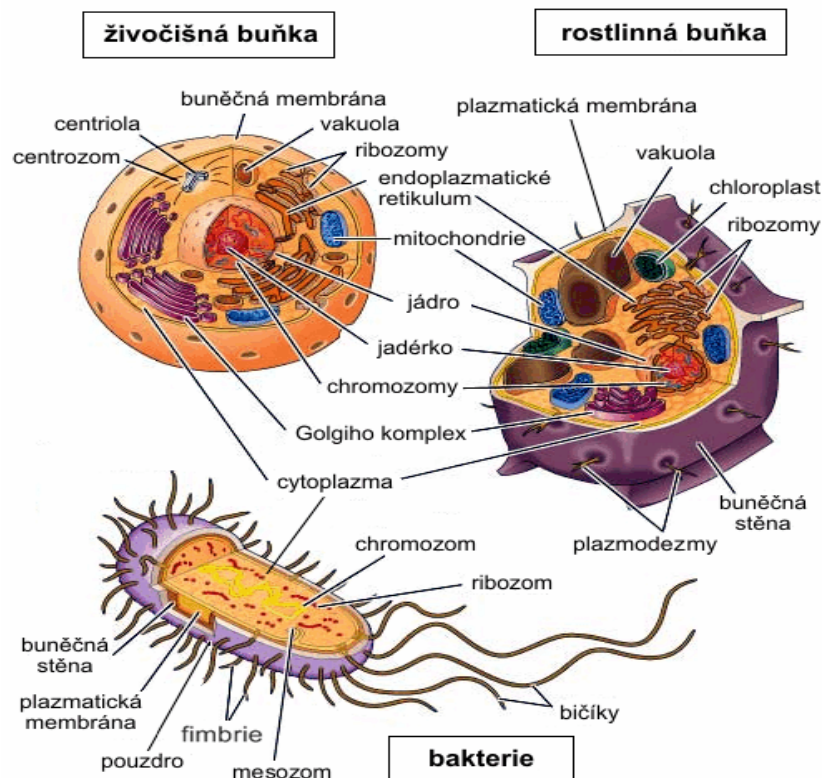
6.3 Mikroorganismy s eukaryotickou buňkou

Do domény *Eukarya* zahrnujeme 5 říší organismů, kam patří *Protozoa*, *Chromista*, *Fungi*, *Plantae* a *Animalia*. Mezi organismy těchto říší najdeme organismy jednobuněčné i vícebuněčné. Mezi vícebuněčné mikroorganismy můžeme zařadit mnohobuněčné řasy a mnohé houby, jednobuněčné jsou prvoci, některé řasy a část mikroskopických hub.

6.3.1 Stavba eukaryotické buňky

Buňka eukaryotických organismů má oproti prokaryotické buňce vyšší stupeň vnitřní diference a organizace, kromě cytoplasmatické membrány má i další membrány tvořící základ většiny organel (obr. 6). Strukturálním základem organel je tedy **biomembrána**. Složitou strukturální organizaci eukaryotických mikroorganismů vytváří soubor **specializovaných organel** v cytoplasmě. Nejdůležitější organely jsou cytoplasmatická membrána, jádro, endoplasmatické retikulum s ribozomy, mitochondrie, Golgiho aparát, lysosomy, chloroplasty a vakuoly. Jednotlivé organely se odlišují jednak prostorovým

vytvářením membrány, jednak spektrem membránových proteinů. Biomembrána všech organel je selektivně propustná, v důsledku čehož se uvnitř organely vytváří ohraničený prostor s celkem jiným složením než obklopující základní cytoplasma. Buňka je tak rozdělená na ohraničené reakční prostory, které všeobecně nazýváme **kompartmenty**. Kompartimentace buňky umožňuje především diferencovanou metabolickou funkci organel a současně koordinaci jednotlivých procesů ve složitém metabolismu buňky. Do membránového systému buňky jsou soustředěny všechny základní funkce buňky.



Obr. 6 Srovnání prokaryotické a eukaryotické živočišné a rostlinné buňky (<http://media-2.web.britannica.com/eb-media/85/78585-004-A63E1F47.jpg>)

6.3.1.1 Jádru (karyon, nucleus)

Jádru, nesoucí v sobě genetickou informaci, je ohraničené dvouvrstevnou **jadernou membránou (karyotékou)**. Jadernou hmotu, tzv. **karyoplasmu** tvoří chromatin, složený z dvouřetězcových lineárních molekul DNA spojených histony a nehistonovými proteiny. Navíc je v jádře přítomno **jadérko** obsahující především ribonukleoproteiny, což jsou prekurzory ribozomů. Jaderná membrána je odvozená od endoplasmatického retikula, proto při dělení jádra přechází do retikula a stává se jeho součástí. Pro houby je charakteristická

nízká koncentrace DNA v porovnání s RNA (houby mají mnohem méně DNA než rostliny), s tím je spojeno i malé množství a malé rozměry jejich chromosomů (např. 8 chromosomů u *Aspergillus nidulans*). Dělení jádra probíhá u většiny hub modifikací mitózy, tzv. **endomitózou**, kdy k rozdělení chromosomů dochází uvnitř jádra se zachovanou jadernou membránou.

6.3.1.2 Endoplasmatické retikulum

Endoplasmatické retikulum (ER) je soubor plochých membránových útvarů – měchýřků, jejichž vnitřní prostor (cisterny) je spojený kanálky. Skládá se ze dvou membrán. Mezera mezi oběma membránami ER je vyplněna tzv. **enchylemou**. Předpokládá se, že je odvozeno od vnější jaderné membrány. Vnější membránou je ER spojeno s plasmalemou a také s jadernou membránou. Dle struktury lze rozlišit **drsne (granulózní) retikulum** a **hladké retikulum**. Na drsné retikulum nasedají ribozomy, tudíž zde probíhá biosyntéza bílkovin. ER se podílí i na ukládání či transportu meziproductů látkového metabolismu. V hladkém dochází také k syntéze lipidů. ER má tedy vztah i k metabolismu polysacharidů, proteinů a lipidů. V membráně ER vznikají specializované útvary, např. **cytosomy**, které uzavírají některé enzymy. Dle charakteru uzavřeného enzymu, lze pak rozlišit peroxizomy (peroxidáza, katalázy), glyoxizomy (enzymy glyoxalátového cyklu), urikozomy (urikáza), hydrogenozomy (u bičíkoců v anaerobních podmínkách).

6.3.1.3 Ribozomy

Ribozomy u eukaryot jsou sférické útvary s hodnotou sedimentační konstanty 70S až 80S. Ribosom 80S může disociovat na dvě podjednotky 40S a 60S. Větší podjednotka je tvořena 3 molekulami rRNA a asi 40 různými bílkovinami, menší podjednotka je složena z jedné molekuly rRNA a asi 30 proteinů.

Počet ribozomů se mění v závislosti na rychlosti růstu buňky a většinou jsou vázané na endoplasmatické retikulum. V cytoplasmě kvasinek mohou být ribozomy volné nebo vázané na membrány ER.

6.3.1.4 Golgiho aparát

Golgiho aparát je shlukem srpkovitých a plochých cisteren, propojených navzájem vlákny a kanálky, tvořící se u pólu buňky. Jednotlivým váčkům se říká **diktyozomy**, jejichž tvar, množství či umístění je zcela druhově specifické. Golgiho komplex je charakterizován tvorbou a odškrcováním drobných měchýřků na periferii, tyto měchýřky dozrávají a na

druhém konci se odškrucují. Hlavní funkcí tohoto systému je úprava produktů syntetizovaných ribosomy na ER, především modifikace (aktivace) proteinů. Další funkcí je sekrece, transport prekurzorů buněčné stěny (podílí se na tvorbě buněčné destičky, z níž se tvoří střední lamela), slizu, glykoproteinu apod. S diktyozomy souvisí pulsující vakuoly, jež mají osmoregulační funkci.

6.3.1.5 Mitochondrie

Mitochondrie jsou organely, které mají variabilní tvar (kulovitý, válcovitý až vláknitý, laločnatý). Obal mitochondrie tvoří dvě membrány, vnější a vnitřní. Jejich počet a tvar je závislý na druhu, ale i na růstové fázi, fázi životního cyklu nebo kultivačním prostředí. Vnitřní membrána vytváří uvnitř mitochondrie hluboké vchlípeniny (lišty, lamely či **kristy**), které mnohonásobně zvětšují aktivní povrch. Vnější strana vnitřní membrány má hladký povrch, zatímco vnitřní je značně zvrásněná. Předpokládá se, že odlišná struktura povrchu membrány je dána přítomností ATP-ázy na vnitřní straně. Nitro mitochondrie tvoří hmota, tzv. **mitochondriální matrix**.

Na výběžcích vnitřní membrány je vázána široká enzymatická aktivita, spojená s dýchacím řetězcem a tvorbou ATP. V matrix jsou lokalizovány enzymy, vstupující do cyklu kyseliny citrónové a katabolického řetězce mastných kyselin. Mitochondrie se tak stávají důležitými energetickými generátory buněk v úzké součinnosti s ostatními organelami v buňce.

Na výstavbě mitochondrií se účastní genom jádra, ale i vlastní genom mitochondrií. Obsahují RNA a malé množství DNA, která je nositelem mimojaderné dědičnosti. **Mitochondriální DNA** (mtDNA) se od chromosomální DNA liší cirkulární strukturou, denzitou a nízkou molekulovou hmotností. V mitochondriích probíhá syntéza některých mitochondriálních bílkovin, takže jsou zde přítomny také tRNA, mRNA a ribozomy (mitoribozomy), které se váží na vnitřní membránu ze strany matrix. Mechanismus této syntézy je podobný mechanismu syntézy bílkovin u bakterií.

Anaerobní eukaryota (některé houby a prvoci) nemají mitochondrie, ale mohou mít **hydrogenosom**. Hydrogenosom je funkčně podobný mitochondriím, je také obklopen dvojitou membránou, produkuje ATP, přičemž konečným akceptorem elektronů není kyslík, ale protony (kationty vodíku), produkuje tedy molekulární vodík. Neobsahuje kristy, enzymy citrátového cyklu a nemá vlastní DNA.

6.3.1.6 Plastidy

Plastid je organela přítomná v buňkách rostlin a některých dalších eukaryotických organismů (z mikroorganismů zejména řas). Plastidy se považují za organely, jejichž typickými membránovými útvary jsou **tylakoidy**. Plastidy sloužící k fotosyntéze se nazývají **chloroplasty** (jsou fotosynteticky aktivní). Chloroplasty mají **vlastní DNA**, obsahující fotosynteticky aktivní barviva (**chlorofyl**), ve kterých se fotosyntéza uskutečňuje. Podle tzv. endosymbiotické teorie se předpokládá, že jde o pozůstatky bývalých endosymbiontů sinicového (prokaryotního) typu. V mnohých případech však plastidy ztrácí tuto funkci a přizpůsobují se k funkcím jiným. Mohou pak sloužit jako zásobní organela (**leukoplasty** – nepigmentované plastidy obsahující např. škrob – amyloplasty) nebo odpovídat za určité zbarvení buňky (**chromoplasty** – fotosynteticky inaktivní obsahující karotenoidy).

6.3.1.7 Vakuola

Vakuola patří k nejnápadnějším strukturám cytoplasmy eukaryotických mikroorganismů. Vakuoly jsou odvozeny od endoplasmatického retikula a Golgiho komplexu. Je to většinou sférický útvar obklopený jednoduchou membránou (**tonoplastem**), která často vysílá úzké výběžky do cytoplasmy s uvnitř obsahujícím kapalným prostředím (**buněčná šťáva**). U mladých nebo pučících buněk jsou přítomny menší vakuoly ve větším počtu, zatímco zralé buňky obsahují většinou jednu velkou vakuolu. U starších buněk může vakuola vyplňovat celý vnitřní prostor.

Vakuoly jsou velmi důležitou zásobárnou vody a různých dalších organických i anorganických látek. Uvnitř vakuol jsou uloženy hydrolytické enzymy proteináza, ribonukleáza a esteráza, takže vakuoly mají zřejmě podobnou funkci jako lysosomy vyšších organismů (obsahují hydrolytické enzymy), tj. jsou místem, v němž dochází k rozpadu těch struktur buňky, které se neustále v buňce rozkládají a obnovují a které mají krátký poločas rozpadu. Kromě toho obsahují vakuoly ještě polyfosfáty a velkou zásobu draselných iontů, aminokyselin, purinů, tuků. Vakuoly tedy tvoří centrální prostor na ukládání intermediátů jako rezervy na příležitostné využití v závislosti na vnějších podmínkách.

Jedinečným typem vakuoly v buňkách prvoků, které nemají pevné buněčné stěny, je **kontraktilní vakuola**, pomocí které buňka aktivně reguluje svůj osmotický režim.

6.3.1.8 Cytoskeletární systémy

Charakteristickou strukturou eukaryotních buněk jsou cytoskeletární systémy v cytoplasmě – **mikrotubuly**, **aktinová políčka** a **filamenta**, Součástí sítě je i mnoho MAP (s mikrotubuly asociovaných proteinů) a proteinů asociovaných s aktinem.

Uplatňují se jako opěrné struktury buňky a při pohybech organel v buňce (schopnost kontrakce) a změnách tvaru buňky, k nimž dochází při pučení a konjugaci i jako struktury uplatňujícími se při pohybu (bičíky, amébovitý pohyb). Jaderné mikrotubuly zajišťují pohyb chromosomů při mitóze, cytoplasmatické se uplatňují při migraci jádra během mitózy. Na pohybech realizovaných pomocí mikrotubulů se také podílejí cytoskeletální „motory“ – bílkoviny kineziny a dyneiny.

6.3.1.9 Povrchové struktury

Povrchová struktura eukaryotických buněk mikroorganismů je diferencovaná. Vegetativní buňky a spory velké většiny hub mají pevnou **buněčnou stěnu** tvořenou sítí mikrofibril, mezi kterými je amorfní složka. Nejvyšší podíl (80 až 90 %) připadá na stěnové polysacharidy, zbytek na bílkoviny, lipidy a další složky. Mikrofibrilární síť často tvoří chitin nebo celulóza (peptidoglykanová buněčná stěna se u eukaryot nevyskytuje). **Chitin** se našel ve většině hub; u mnohých druhů tvoří hlavní strukturní složku. Buněčná stěna kvasinek ho obsahuje asi 1 %, u tlustých buněčných stěn tvoří chitin asi 0,5 % hmotnosti. Chitin je součástí těžko rozpustných chitin-glukanových komplexů. Hlavním polysacharidem buněčných stěn řas je **celulóza**.

Houby a mnohé skupiny řas mají protoplast úplně uzavřený v pevné stěně. Pohyblivé rozsivky syntetizují pevnou stěnu impregnovanou křemičitany, mají však v ní otevřenou štěrbinu, přes kterou se uskutečňuje kontakt protoplastu se substrátem, čímž je umožňován částečný amébovitý pohyb.

Řasy rodu *Euglea* a prvoci ze skupiny *Ciliata* mají protoplast pokrytý tenkou ohybnou vrstvičkou – **pelikulou**, která je pravděpodobně bílkovinné povahy. Pelikula umožňuje organismům udržovat poměrně stálý tvar, neumožňuje však amébovitý pohyb. Fagotrofní výživa některých prvoků se uskutečňuje přes buněčná ústa – **cytostoma**. Jedinými prvoky bez rigidní stěny jsou améby, proto ani jejich tvar není stálý.

Povrchovými organelami jsou **bičíky** (*flagella*) a **brvy**. Srostlé brvy (**cilie**) tvoří **membranely**. Bičíky jsou vláknitými výběžky, ohraničené membránou a obsahující systém mikrotubulů. Některé bičíky mohou tvořit srůstem brv s bičíky a povrchem těla tzv. **undulující membránu**. Mikrotubuly mají na příčném průřezu bičíkem zcela kruhové

uspořádání, kdy na periferii lze pozorovat devět dubletů (párů) mikrotubulů s centrálně umístěnou dvojicí mikrotubulů. Bičík lze rozlišit na tyto následující zóny: bičíkové kořeny (v nitru buňky), bazální tělísko), přechodnou oblast, vlastní bičík (volně pohyblivá část). Bičíky a brvy jsou pohybovými orgány mnohých prvoků a jednobuněčných řas.

6.3.2 Říše *Fungi* (houby)

Houby jsou jednobuněčné a vícebuněčné heterotrofní eukaryotické organismy. Mikroskopické houby tvoří heterogenní skupinu z fylogenetického i taxonomického hlediska, ale i po stránce morfologie a ekologických nároků. Morfologii, cytologii, fyziologii, ekologii a systematiku hub jako celku zkoumá **mykologie**. Předmětem studia mikrobiologie jsou **mikroskopické houby** neboli **mikromycety**. V běžné i mikrobiologické praxi se používá název **plísň**, pod kterým praxe rozumí mikroskopické organismy vytvářející jemné vláknité povlaky na různých substrátech. Odhaduje se, že celkový počet druhů hub na naší planetě je asi 1 500 000, avšak skutečně popsanych taxonů je zhruba 80 000.

6.3.2.1 Morfologie a rozmnožování mikromycet (*Mycota*, *Fungi*)

Pro houby je charakteristická nízká koncentrace DNA oproti RNA, DNA mají mnohem méně než rostliny. Jejich spory mají schopnost přežívat i v těch nejméně příznivých podmínkách za vysokých teplot a tlaků.

Kromě nevelkého počtu jednobuněčných zástupců (např. kvasinky) většina hub tvoří vláknitou strukturu – **stélku** (*thalus*), která na rozdíl od rostlin není protkána cévními svazky. Stélku tvoří vláknité **hyfy**, které spolu tvoří konglomerát souhrnně nazývaný **mycelium**. **Nesegmentované hyfy** tvoří vývojově nižší houby, které jsou jednobuněčné. Vývojově vyšší typy hub mají **hyfy přehrádkované (septované, segmentované)**, kdy je hyfa rozdělena na vícejaderné, dvoujaderné či jednojaderné úseky. U většiny zástupců mají segmentované hyfy uprostřed **centrální pór**, který může být jednoduchý nebo ztlustělý a kterým mohou procházet látky i orgány. Poblíž póru se nacházejí tzv. **Voroninova tělíska**, která při poranění segmentu ucpou póry a zabrání tak úniku protoplazmy ze sousedních segmentů. Rozeznáváme **substrátové (bazální) mycelium**, které se rozrůstá v substrátu a vyživuje houbu a **vzdušné (reprodukční) mycelium**, které vytváří makroskopické kolonie nebo povlaky pokrývající substráty, na kterých se vytváří fruktifikační orgány. Mycelium normálně vzniká klíčením jedné rozmnožovací buňky – **spory**. Z klíčící spory vyroste později dlouhé vlákno, které se dále opakovaně rozvětjuje. Vegetativní stélka zajišťuje výživu houby, výměnu látek a energie mezi prostředím a houbou a její růst. Velmi často také dochází k **větvení hyf** (většinou

laterálnímu, jen někdy dichotomickému). Kromě větvení hyf dochází velmi často také k jejich **srůstání** (fúze buněk různých hyf) postranními výběžky a tvorbou **spojek (anastomóz)**. Takto vzniklými výběžky mohou pronikat haploidní jádra do sousední hyfy. Tvorba anastomóz taky umožňuje lepší rozvod vody a živin do celého mycelia a také výměnu cytoplasmy a organel včetně jaderného materiálu. Růst hyf je **apikální**, hyfa roste pouze na svém vrcholu. Hyfy dosahují ze všech organismů nejvyšších růstových rychlostí, například u hadovky smrduté 5 mm za minutu. Tloušťka hyf je několik mikrometrů, délka úseků mezi přehrádkami desítky až stovky mikrometrů. Celková délka hyf může být v řádech metrů. Mycelium je tvořeno pletivem tzv. **plektenchymem**, které může být dvojího typu: **proenchym** (volně spletené hyfy, ležící vedle sebe) a **pseudoparenchym** (hustě stlačené hyfy, připomínající cévní svazky vyšších rostlin). Proenchym může tvořit **stroma**, kožovitou spleť hyf, kde dochází k fruktifikaci (vytvoření plodnice) často se nalézající u plísní parazitujících na ovoci a jiném rostlinném materiálu a pseudoparenchym tvoří **sklerocium**, tvrdý polokulovitý útvar tvořený hustou spleť hyf. Většinou je tmavší barvy a má průměr až několik milimetrů. Je odolný vůči nepříznivým podmínkám. Vyskytuje se hlavně u těch druhů, u nichž není známa tvorba pohlavních ani vegetativních spor. Husté myceliální shluky připomínající sklerocia bývají někdy označovány jako **pseudosklerocia**. U parazitických hub, které rostou na povrchu svého hostitele, dochází k tvorbě specifických orgánů, tzv. **haustorií**, které vytvoří mycelium uvnitř hostitelské buňky.

Hlavní rezervní látkou plísní jsou **lipidy**, které tvoří v buňkách různě velké kapénky. Ve starších kulturách jsou z buněk uvolňovány. Kromě tuků je zásobní látkou také **glykogen** a **volutin** (polyfosfátová granula). Ojediněle byl zjištěn i škrob. V buňkách některých hub se mohou vyskytovat např. látky antibiotické povahy (např. rod *Penicillium*), alkaloidy (např. *Claviceps*) nebo steroidy a terpeny. Složení buněčné stěny plísní je odlišné od kvasinek. Buněčná stěna plísní je většinou vícevrstevná a je složena hlavně z polysacharidů. Polysacharidy většiny hub zastupuje **chitin** a různé **glykany**, zatímco celulóza je převládající polysacharidem stěn hub zařazovaných do třídy *Oomycota*. Kromě nich jsou zde vždy přítomny také bílkoviny a značné množství lipidů. Vedle neutrálních lipidů obsahuje buněčná stěna plísní také vosky, tj. estery mastných kyselin a vyšších alkoholů, které přispívají značnou měrou k nízké smáčitelnosti vegetativních i sporonosných hyf. Velmi vysoký obsah tuků a vosků a tedy mimořádně špatnou smáčitelnost mají např. stěny sporangioforů a stěny konidií. Stěny konidií obsahují obvykle ještě různá barviva, takže části kolonií mají nápadnou barvu. Tvorba pigmentů je dána geneticky. Nejčastější je barva zelená až modrozelená (např. rody *Penicillium* a *Aspergillus*), běžná je také barva béžová až hnědá nebo černá (např. rod

Aspergillus), růžová (např. rod *Trichothecium*). Stěny endospor a blána sporangia u zygomycet obsahují většinou hnědočerné barvivo melanoidní povahy, jež chrání spory před nepříznivými účinky ultrafialové složky slunečního světla.








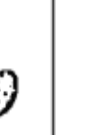








Typickými útvary, kterými se houby rozmnožují, jsou **spory**, které mohou vznikat **nepohlavně** (vegetativně) a **pohlavně**. Podle přítomnosti a typu pohlavního rozmnožování náleží technicky důležité plísně do čtyř taxonomických jednotek (oddělení): **Chytridiomycota**, **Zygomycota**, **Ascomycota**, **Basidiomycota**. Pátou skupinou je nesystematická umělá skupina **Deuteromycota** (nebo též *Fungi imperfecti*, tj. **houby nedokonalé**, přesněji nedokonale známé), u kterých je známo pouze nepohlavní rozmnožování pomocí **exospor**.

U mikromycet je **nepohlavní rozmnožování** velmi významné, u řady druhů představuje dominantní způsob rozmnožování. Cyklus nepohlavního rozmnožování může proběhnout i několikrát během vegetační sezóny a jeho výsledkem je vznik velkého množství jedinců, což je důležité zejména u parazitických jedinců, tzn. I takových hub, které se podílejí na kažení potravin. Nepohlavní rozmnožování může probíhat v haploidní i diploidní fázi. Nejjednodušším způsobem je prostá **fragmentace hyf** nebo **stélky**. Kromě tohoto způsobu je nejčastějším a nejznámějším typem nepohlavního rozmnožování tvorba **nepohlavních spor**. Spory vznikají buď na konci hyf (exospory) nebo ve zvláštních útvarech (endospory).

Endospory se tvoří ve výtrusnici (**sporangium**) vyrůstající ze **sporangioforu**; hyfa, která nese sporangium je **sporangiofor** (obr. 7). Trvalé (odpočívající) sporangium (někdy označováno jako trvalá – odpočívající spora) je tlustostěnný útvar a má kulovitý, hruškovitý nebo válcovitý tvar. Nejčastěji je umístěno terminálně na jednoduchém nebo větveném sporangioforu. Část sporangioforu, zasahující do kulovitého sporangia, se nazývá **kolumela**. Některé druhy kolumelu nemají. U některých rodů je sporangium doprovázeno či nahrazeno drobnými sporangiolami, jež obsahují pouze 1 až 10 spor. U některých hub (rod *Rhizopus*) vyrůstají sporangia ve svazcích ze zvláštních hyf nazývaných **stolony**. Ty se tvoří v místech, kde se substrátu dotýkají útvary nazývané **rizoidy**. Sporianiospory jsou buď závislé na přenášení vodou, potom jsou bez blány a mají jeden nebo dva bičíky (**zoospory**) nebo se přenášejí vzdušnými proudy, jsou obalené a bez bičíků (**aplanospory**).

Exospory se tvoří z mateřské hyfy buď jejím rozpadem (**oidie** neboli **artrospory**), pučením (**blastospory**) nebo odškrcováním (**konidie**). Exospory různých rodů jsou značně odlišné. Mohou mít tvar kulovitý, elipsoidní, válcovitý, větvenovitý, spirálovitě stočený apod. Mohou být jednobuněčné (někdy zvané **mikrokonidie**) nebo vícebuněčné (**makrokonidie**) a mohou být umístěny jak jednotlivě, tak i v řetízích nebo kulovitých útvarech. **Oidie**

(**artrospory**) jsou tlustostěnné spory, které vznikají na konci vláken jejich rozpadem v jednotlivé buňky. **Blastospory** jsou naopak tenkostěnné spory tvořící se pučením. Řetízky blastospor vznikají bazifugálně, neboť nejmladší spora, která vznikla pučením z předchozí spory, je na vrcholu řetízku. **Konidie (konidiospory)** vznikají na zvláštních specializovaných hyfách mycelia – **konidioforech**, které jsou buď jednoduché, anebo rozvětvené, případně na konci zduřelé (vezikuly). Srůstem konidioforů se vytvářejí **svazky (koremie)** nesoucí shluk konidií. Flaškovité útvary vystlané krátkými konidiofory se nazývají **pyknidy**. Konidie vznikají ze základní buňky, tj. bazipetálně, neboť nejmladší konidie z řetízku konidií je nejblíže základně. Konidie se většinou přenášejí vzdušnými proudy, deštěm, rosou, prostřednictvím jiných organismů, méně již proudící vodou.

	planospóry (zoospóry)	aplanospóry						
spóry								
	spórangiospóry	konidiospóry	oidospóry	chlamydospóry	oospóry	askospóry	bazidiospóry	
nosiče spór								
	zoosporangium	spórangiofor	konidiofor	vegetativne hýfy	oogónium	askus	bazídium	

Obr. 7 Nejčastěji se vyskytující typy spor u hub

Pučení s následující tvorbou přehrádek se uplatňuje při tvorbě vícebuněčných spor (např. u rodů *Cladosporium* a *Alternaria*). Bazipetálním způsobem se tvoří např. **fialospory**, vznikající v řetězcích ze speciální lahvovité buňky s ústím v apikální části (**fialidy**). Vyskytují se např. u rodů *Aspergillus*, *Penicillium*, *Phialophora* nebo *Trichoderma*. U rodu *Aspergillus* se mohou fialidy vyskytovat ve dvou vrstvách na povrchu vezikuly: **primární fialidy (metuly)** vyrůstají z vezikuly, **sekundární fialidy** vyrůstají ve svazcích z metul. Přeslenovitě uspořádaný konec konidioforu u rodu *Penicillium* má různě bohaté členění. Může být ukončen svazkem fialid neboli **sterigmat** (sekce *Monoverticillata*), na konci konidioforu

může být svazek metul, přičemž z každé metuly vyrůstá opět svazek fialid s řetězci konidií (sekce *Biverticillata symmetrica*) nebo mohou být větve konidioforu, metuly i fialidy uspořádány asymetricky (sekce *Asymmetrica*), popř. končí konidiofor bohatým, opakovaně větveným symetrickým štětečkem (sekce *Polyverticillata*). Krátké konidiofory některých plísni (např. rodu *Phoma*) jsou umístěny v kulovitém nebo hruškovitém útvaru zvaném **pyknida** a konidie se z něj uvolňují otvorem zvaným **ostiola**. Mohou se vyskytovat na povrchu hostitele nebo mohou být ponořené. **Sporodochium (ložisko)** je palisáda konidioforů v ložisku na povrchu substrátu. **Acervulus (klubíčko)** je útvar podobný předešlému, je však vždy ponořen v pletivu hostitele. U některých plísni (např. některých druhů rodu *Penicillium* a *Aspergillus*) srůstají konidiofory ve svazek, který se na vrcholku stromkovitě větví a jenž je ukončen paličkou spor, zvaný **koremium**. U některých rodů plísni se kolem jednotlivých buněk mycelia může vytvořit velmi silný obal, přičemž se obsah buňky zahustí; vytváří se tak tlustostěnná **chlamydospora**, která je odolná proti nepříznivým vlivům. Dalšími přetrvávajícími útvary hub jsou větší mycelární formy složené z hustě propletených hyf a s povrchovou vrstvou tlustostěnných buněk chránících vnitřní tenkostěnné buňky s obsahem rezervních látek (oleje, glykogen). Těmito útvary jsou **sklerocia** a jsou typické pro mnohé rostlinné parazity.

Pohlavní rozmnožování plísni je, podobně jako u ostatních organismů, spojeno se změnou ploidie, kdy dochází k plasmogamii, karyogamii i meióze. Zvláštností většiny hub je časově i prostorově oddálená plasmogamie a karyogamie a vznik různě dlouhé **dikaryotické fáze**. Po plasmogamii buněčných obsahů se vyskytují dvě kompatibilní jádra ve společné plasmě a tvoří tzv. **dikaryon**. Dikaryofáze je charakteristická tzv. **konjugovanými mitózami**, kdy dochází k současným mitózám obou jader. Pro většinu hub je charakteristická redukce diploidní fáze pouze na jedinou buňku, např. zygospora, askus.

Pohlavní spory vznikají po spájení dvou buněk. Mezi plísněmi jsou známy **homotalické rody**, které nejsou pohlavně rozlišeny, takže dochází ke spájení buněk vyrůstajících z téže hyfy. Většina plísni je však **heterotalická**, takže druh má tzv. **plus** a **mínus hyfy**, tj. hyfy, které nemsíme rozlišit morfologicky, ale fyziologicky jsou odlišné.

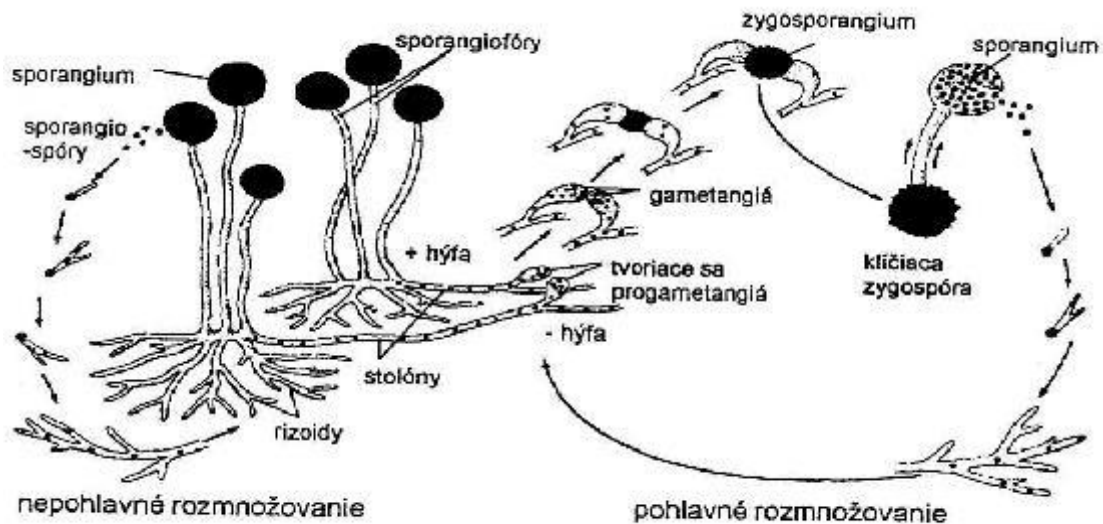
Pohlavní cestou vznikají trvalé výtrusy hub – zygospory, askospory a bazidiospory. **Zygospory** najdeme u skupiny *Zygomycota* (obr. 8), které vznikají přímým splnutím dvou fyziologicky odlišných gametangií, tedy po doteku výběžků hyf (progametangií) a po spájení buněk (gametangií), jež se oddělily na konci obou progametangií. V místě dotyku obou gametangií dochází k rozpuštění stěn a spojení obou gametangií. Vzniká tlustostěnné **zygosporangium** obsahující zygosporu. Tento typ pohlavního rozmnožování se nazývá

konjugace (spájení). Jestliže progametangia byla zhruba stejně velká, hovoříme o **izogamním spájení**, v opačném případě jde o **heterogamní spájení**. Zygospora je diploidní buňka se silnou obalovou vrstvou většinou tmavé barvy s nápadnými výrůstky. Při klíčení zygospory dojde k meióze, při níž však tři haploidní jádra zaniknou a čtvrté se dělí mitózou. Ze zygospory pak vyrostou **sporangiofor** se **sporangiem (zygosporangium)**, v němž jsou haploidní endospory jednoho pohlavního typu. Zygospory se vyskytují pouze ve třídě *Zygomycetes*, např. u rodů *Mucor* a *Rhizopus*.

Askospory jsou trvalé výtrusy, typické pro vřeckaté houby (*Ascomycetes*). Tvoří se ve **vřeckách (asky)**. Pohlavní rozmnožování probíhá u *Ascomycetes* nejčastěji jako tzv. gametangiogamie (gametangie), která je charakterizována kontaktem a splynutím obsahů dvou morfologicky diferencovaných gametangií. Z hlediska individuálního vývoje mají zástupci třídy *Ascomycetes* výraznou haploidní a poměrně krátkou dikaryotickou fázi. Jedinou diploidní buňkou je v procesu vývoje těchto hub zralé vřecko. Vřecka se tvoří z tzv. **askogenních hyf**, které nemají trofickou funkci, přeměnou jejich terminálních buněk. V mladém vřecku dochází ke karyogamii a následující meiózou a mitózou vzniká obvykle 8 haploidních jader, které po obklopení cytoplasmou a buněčnou stěnou představují haploidní askospory. Askospory vznikají ve vřecku většinou najednou (simultánně). Askus nepředstavuje strukturu trvalejšího charakteru. Vřecka jsou uspořádána buď jednotlivě nebo pravidelně v plodnicích dvojího typu. **Perithecium** je plodnička kulovitého nebo flaškovitého tvaru a vřecka jsou uspořádána vedle sebe ve svazcích. **Kleistothecium** má vřecka uložené v plodničce nepravidelně. Nejznámější a zemědělsky významné askomycety jsou z čeledi *Aspergillaceae* reprezentované rody *Aspergillus* a *Penicillium*.

Bazidiospory se tvoří obvykle po čtyřech na **stopkách** (sterigmách) vyrůstajících z plodné buňky – **bazidie**. Tyto spory jsou typické pro třídu bazidiových hub (*Basidiomycota*).

S pohlavním rozmnožováním souvisí i tvorba **plodnic**. Plodnice jsou charakteristické pro většinu zástupců pododdělení *Ascomycota*. Za náznak plodnic je u *Zygomycota* považována tvorba obalných vláken kolem zygospor nebo obalů z hyf kolem zygospory.



Obr. 8 Příklad cyklu pohlavního a nepohlavního rozmnožování mikromycet (oddělení *Zygomycota*) (<http://files.huby-plesne.webnode.sk/200000003-754e876490/rhizo%202.JPG>)

6.3.2.2 Taxonomický přehled hub

Taxonomie hub (*Fungi*) prošla v posledních desetiletích, podobně jako klasifikace nadřazené úrovně *Eukaryota*, důkladnou revizí na základě fylogenetických studií, které pomohly odhalit vzájemné příbuzenské vztahy jednotlivých taxonů. I nyní se však setkáváme s několika systémy dle klasických znaků či fylogenetické příbuznosti od různých autorů. Velmi zhruba však můžeme houby rozdělit do několika důležitých skupin.

Oddělení *Chytridiomycota* zahrnuje houby žijící v půdě i vodě, charakteristické tvorbou nepohlavních **pohyblivých** bičíkatých **zoospor**, tvořících se ve sporangii. Patří sem například druh *Olpidium brassicae* způsobující nekrózu a černání brukvovitých rostlin nebo *Synchytrium endobioticum* (rakovinec bramborový) který napadá hlízy brambor, kde způsobuje tmavé skvrny na hlízách, tzv. rakovinu brambor.

Oddělení *Zygomycota* obsahuje plísně s jednobuněčným nepřehrádkovaným myceliem. Při pohlavním rozmnožování tvoří zygospory. Nepohlavní rozmnožování se děje endosporami. Většinou jsou suchozemské a důležité při tvorbě humusu v půdě. Mohou se podílet na „kažení“ celé řady potravin a některé mohou být příležitostními parazity člověka a rostlin. Patří sem rody *Absidia*, *Mucor* atd. Některé druhy rodu *Rhizopus* se využívají při výrobě kyseliny citronové či fumarové.

Oddělení *Ascomycota* jsou druhově nejpočetnějším oddělením hub obsahující cca 60 tisíc druhů. S výjimkou kvasinek mají téměř všichni zástupci dobře vyvinuté článkované podhoubí

Charakteristickým znakem vřeckovýtrusných hub je tvorba pohlavních orgánů nejčastěji kyjovitého tvaru – vřecka (aska). Vřecko obvykle obsahuje osm výtrusů zvaných askospory. Nalezneme mezi nimi saprofytické druhy i parazity rostlin nebo živočichů, několik rodů tvoří houbovou část lišejníků. K vřeckatým houbám patří např. *Taphrina deformans* způsobující kadeřavost broskvoní, *Claviceps purpurea*, která parazituje na obilninách a produkuje jedovaté alkaloidy vedoucím dříve k častým otravám a celá řada druhů patří ke kvasinkám (detailněji popsáné dále).

Oddělení Basidiomycota je druhově dosti početné oddělení hub, zatím je popsáno kolem 30 000 druhů, což činí 37 % všech popsáných druhů hub. Tvoří rozvětvené septované dvoujaderné mycelium. Pohlavní rozmnožování se děje **bazidiosporami**, nepohlavně pomocí konidií, artrokonidiemi a chlamydosporami. Patří sem houby, které tvoří makroskopické plodnice, tedy většina obecně známých hub, jako je hřib (*Boletus*), muchomůrka (*Amanita*), ale zahrnuje i skupiny parazitických rzí a snětí (*Ustilago*, *Tilletia*, *Puccinia*), některé kvasinky nebo několik druhů spolutvořící lišejníky.

Oddělení Deuteromycota je nesystematická umělá skupina (zvaná též *Fungi imperfecti*, tj. houby nedokonalé), u kterých je doposud známo pouze nepohlavní rozmnožování pomocí exospor nebo částí mycelia. Houby označované jako nedokonalé se tedy zpravidla nehodí do žádného z oddělení hub, protože mykologická taxonomie se zakládá především na pohlavních znacích. Tyto houby mohou žít saprofyticky (kazí potraviny – *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*), jiné paraziticky, kde způsobují celou řadu chorob rostlin (*Fusarium*, *Monilia*, *Septoria*, *Botrytis*), ale i lidí (*Trichophyton*, *Candida*). Jsou však využívány i ve farmacii (*Penicillium*, *Aspergillus*). V nejnovějším taxonomickém systému se toto oddělení již nevyskytuje a jednotlivé druhy jsou včleněny do různých skupin hub dle fylogenetické příbuznosti.

6.3.2.3 Kvasinky

Kvasinky jsou heterotrofní eukaryotické organismy řazené mezi houby (*Fungi*), netvoří však jednotnou taxonomickou skupinu, spíš se jedná o skupinu funkcí. Kvasinky jsou vlastně mikroskopické houby s mnohem širším zastoupením organismů, než jak je představují pravé kvasinky – **sacharomycety**. Jejich český název je odvozen od schopnosti zkvašovat monosacharidy, popř. i některé disacharidy, za tvorby etanolu a oxidu uhličitého. Většina z nich se rozmnožuje **pučením**, ale jsou i takové, které se dělí **přehrádkami**. Další skupina vytváří nepravé hyfy – **pseudomycelia** nebo **pravé mycelium (podhoubí)**. Převládá názor, že kvasinky jsou redukované formy jiných hub, přičemž redukce zasáhla hlavně pohlavní

procesy. Takovéto formy je možné najít mezi askomycetami (vřeckatými houbami), bazidiomycetami a deuteromycetami (nedokonalými houbami). Kvasinky patřící mezi askomycety jsou schopné tvořit askospory ve **vřeckách (askách)**. Nazývají se proto **askosporogenní** nebo také **pravé kvasinky** a reprezentuje je nejdůležitější a nejrozsáhlejší rod *Saccharomyces*. Kvasinky, u kterých není známa tvorba pohlavních spor, se označují jako **asporogenní, anaskogenní** nebo **nepravé kvasinky**. Jsou to kvasinkovité mikroorganismy a zařazují se mezi deuteromycety, do řádu *Torulopsidales*, ve kterém nejrozsáhlejším rodem je *Candida*.

Tvar buněk kvasinek bývá kulovitý, elipsovitý, podlouhlý i vláknitý. Za základní tvar kvasinek se všeobecně považuje rotační elipsoid a všechny ostatní jsou odchylkami od tohoto tvaru. Hlavní část cytoplasmy kvasinek tvoří voda, její obsah se pohybuje od 65 do 80 %. Obsah vody závisí na druhu kvasinek, stáří buněk a kultivačních podmínkách. Z organických sloučenin vyskytujících se v nízkých koncentracích mají z nutričního hlediska význam především vitaminy skupiny B (B₁, B₂, B₆), provitamin D (ergosterol) a u některých rodů (např. *Rhodotorula*) také provitamin A. Na vitaminy skupiny B jsou bohaté zejména pivovarské kvasnice, které je odčerpávají z mladiny.

Jsou-li buňky kvasinek zbaveny buněčné stěny, zůstává cytoplasma obalena pouze plasmalemou. Tyto buněčné struktury se označují jako **protoplasty**. Za určitých podmínek může dojít ke splynutí protoplastů (indukovaná fúze protoplastů). Tento proces dává vznik **hybridním protoplastům**, které mohou za vhodných podmínek regenerovat, čímž vznikne hybridní buňka, která může mít zcela nové vlastnosti. Některé druhy kvasinek (např. *Cryptococcus*) tvoří kolem svých buněk na povrchu stěn ještě polysacharidové obaly ve formě **pouzder**.

Kvasinky rostoucí v optimálních podmínkách se rozmnožují pouze vegetativně. Typickým způsobem vegetativního rozmnožování je **pučení**. Při něm se na mateřské buňce vytváří pupen, který se postupně zvětšuje a dochází k fragmentaci buněčných organel a část se stěhuje do pupenu. V průběhu pučení se jádro rozdělí mitoticky do původní velikosti. Některé rody kvasinek tvoří pouze jeden pupen, jiné současně i několik. Podle místa, kde pupen na povrchu buňky vzniká, se rozlišuje pučení monopolární, bipolární a multipolární.

Při **monopolárním** pučení vzniká pupen na jednom, vždy stejném pólu protáhlé buňky (např. rod *Malassezia*). **Bipolárně** pučící kvasinky (kvasinky apikulární) vytvářejí pupen střídavě na obou pólech buňky. Vzhled buňky bývá citronkovitý (např. rod *Nadsonia*). Některé apikulární kvasinky pučí tzv. na **široké základně**, kdy je mateřská buňka s pupenem spojena širokým krčkem (např. rod *Saccharomycodes*). U **multipolárně** pučících kvasinek

(např. rod *Saccharomyces*) může pupen vznikat na kterémkoliv místě povrchu buňky, nevytváří se však nikdy na tomtéž místě. Počet generací, které může dát buňka je tak prostorově omezen. U kvasinek **pučících na sterigmě** (rod *Sterigmatomyces*) je pupen spojen s mateřskou buňkou úzkou stopkou – **sterigmou**.

Některé rody nebo kmeny kvasinek vytvářejí protáhlé buňky, které pučí pouze na pólech a zůstávají po pučení spojeny v dlouhá zaškrcovaná vlákna, vzniká tzv. **nepravé mycelium – pseudomycelium**. Pseudomycelium může být tvořené pouze několika spojenými buňkami (rudimentární pseudomycelium) nebo dobře vyvinuté, vytvářející větvenou strukturu. Pseudomycelium vytvářejí často kvasinky rodu *Candida* nebo *Trichosporon*. Na koncích řetězu buněk se tvoří shluky kulatých nebo elipsovitých buněk; jsou to **blastospory (blastokonidie)**, které se mohou oddělovat a dále množit pučením. Podle seskupení se potom rozeznává chomáčkovité, přeslenité nebo nepravidelně rozvětvené pseudomycelium. U některých kvasinek (např. rody *Trichosporon*, *Geotrichum*) může docházet k rozpadu mycelia na jednotlivé válcovité buňky označované jako **artrokonidie (artrospory)**. Tzv. **balistosporogenní kvasinky** (např. rody *Sporidiobolus*, *Sporobolomyces*) vytvářejí **balistokonidie (balistospory)**, oválné buňky vytvářené na stopkách, které jsou zvláštním mechanismem odstřelovány od mateřské buňky. Tvorba pseudomycelia bývá obvykle indukována za podmínek nedostatku živin při dostatečném styku se vzduchem. Sama tvorba pseudomycelia a jeho forem je geneticky kontrolovaná vlastnost, které se využívá jako taxonomického znaku.

Pravé mycelium vytváří např. *Saccharomycopsis*. Buňky v hyfách pravého mycelia se rozmnožují **příčným dělením** (za určitých podmínek se mohou množit v jednobuněčné formě pučením). **Přehrádečné dělení** jednotlivých buněk (bez tvorby mycelia) se u kvasinek vyskytuje pouze u jediného rodu – rodu *Schizosaccharomyces*. Po rozdělení se mateřská a dceřiná buňka od sebe vždy oddělí.

Na zachování druhů v nepříznivých podmínkách prostředí mají vliv **chlamydospory**. Jsou to velké okrouhlé, oválné nebo hranaté buňky s tlustou stěnou a zrnitým obsahem. Shromažďuje se v nich tuk, bílkoviny a v buněčných stěnách i pigmenty (např. melanin u *Aureobasidium pullulans*). Chlamydospory se vytvářejí buď na konci hyf, volně v prostředí nebo interkalárně, tj. ve středu hyfy jako její články.

U většiny kvasinek se vedle vegetativního rozmnožování setkáváme i s rozmnožováním pohlavním. Výsledkem pohlavního rozmnožování jsou **pohlavní spory**. Většina kvasinek tvoří spory uvnitř sporotvorných buněk (**endospory**) umístěné ve vřecku (**asku**) – **askospory**. Tyto kvasinky tudíž řadíme mezi *Ascomycota*. Některé rody kvasinek však tvoří pohlavní

exospory, tj. spory umístěné vně sporotvorných buněk. Tyto rody řadíme mezi *Basidiomycota*.

Pohlavní rozmnožování můžeme charakterizovat jako spájení dvou haploidních buněk (**konjugace**) a spájení jejich jader (**karyogamie**) za vzniku diploidní buňky (**zygoty**). Jestliže dochází ke spájení dvou přibližně stejně velkých buněk, hovoříme o **izogamním spájení** (např. rod *Saccharomyces*). Jde-li o spájení velké buňky s malou, např. mateřské buňky s buňkou dceřinou, hovoříme o **heterogamním spájení** (např. u rodu *Debaryomyces*). Spájení mezi buňkou a jejím potomstvem, jako je tomu např. u heterogamního spájení, je možné pouze u tzv. **homotalických kmenů**. U většiny kmenů kvasinek je však sexuální proces založen na existenci buněk různého pohlaví, opačných párovacích typů. Tyto kmény se označují jako **heterotalické kmény**. U heterotalických kmenů je párovací typ velmi stabilní a pouze ve výjimečných případech, např. mutací, se může měnit. Celý proces sporulace je kontrolován několika specifickými geny. Následkem mutací v těchto genech může dojít k tomu, že je redukována schopnost dokončit sporulaci nebo je ovlivněna životnost spor, ploidie apod.

Životní cyklus kvasinek je charakterizován **střídáním diploidní a haploidní fáze**. Rody nebo i druhy kvasinek se liší délkou haploidní a diploidní fáze svého životního cyklu. Některé kmény *Saccharomyces cerevisiae* jsou homotalické, takže po vypuštění spory se vzniklé vegetativní buňky brzy spájejí a haploidní vegetativní fáze prakticky neexistuje. Naproti tomu u heterotalických kmenů dochází ke střídání haploidní a diploidní fáze v závislosti na kultivačních podmínkách, kde obě fáze mohou trvat i několik let. U rodu *Schizosaccharomyces* dochází u heterotalických kmenů ke sporulaci ihned po spájení. Proto je diploidní fáze omezena pouze na zygotu. Životní cyklus rodů *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula* aj. je reprezentován pouze haploidními buňkami. Opakem je životní cyklus *Saccharomycodes*, u nichž dochází ke spájení askospor přímo ve vřecku, takže haploidní vegetativní fáze vůbec neexistuje.

Kvasinky, které se sexuálně rozmnožují jako bazidiomycety, vytvářejí ve složitém sexuálním cyklu **bazidiospory**, které se označují jako **sporidie** (např. rod *Rhodosporidium*).

Kvasinky a kvasinkovité mikroorganismy jsou v přírodě velmi rozšířené. Vyskytují se především na ovoci, cukernatých potravinách, v květních nektarech, v půdě, ve vzduchu, ve střevech lidí a zvířat, i v některém hmyzu (např. včelách). Mají význam v potravinářském průmyslu při výrobě alkoholických nápojů, pekařského a krmného droždí. Z kvasinek se na komerční účely izolují různé enzymy, koenzymy, nukleotidy i vitamíny (hlavně skupiny B).

6.3.2.4 Ekologie a význam hub

Mikromycety jsou parazitické nebo saprofytické mikroorganismy, některé druhy jsou rozšířeny po celém světě. Houby nemohou růst bez přítomnosti organických zdrojů uhlíku a jsou tedy všechny **chemoheterotrofní**. Největším rezervoárem hub je půda. Mezi houbami najdeme druhy **obligátně aerobní**, kam patří většina hub, **obligátně anaerobní** najdeme například v bacheru přežvýkavců a **fakultativně anaerobní**, ke kterým patří například kvasinka *Saccharomyces cerevisce*.

Podle životní strategie rozdělujeme houby na:

- (i) **saprofytní** (dekompozitoři, přeměňují organickou hmotu na anorganickou),
- (ii) **nekrotrofní** (napadají živá pletiva, která po usmrcení využívají jako zdroj živin),
- (iii) **biotrofní** (napadají a využívají živá pletiva).

Při interakci s dalšími organismy se objevuje vztah parazitický nebo symbiotický.

Při **parazitismu** získávají houby výživu z živých živočišných nebo rostlinných buněk (případně jiných hub). Najdeme zde **obligátní parazity**, kam patří velké množství hub způsobující choroby rostlin a **fakultativně parazitní** houby, které většinu života žijí jako saprofyty, ale v některých obdobích mohou přecházet na parazitismus. Zde je třeba zmínit tzv. **dravé (karnivorní) houby** (podobné hmyzožravým rostlinám) schopné chytat mikroskopické živočichy v půdě (viřníky, háďátka, měňavky) pomocí modifikovaných hyf, ve kterých se živočich zachytí a pak je ve smyčkách hyf usmrcen (toxiny hub) a houba z nich vysává živiny. V případě, že nejsou vhodné živočichové v dosahu, mohou se živit běžným (saprofytickým) způsobem.

Symbiotický vztah je možný s kořeny vyšších rostlin, který je nazýván **mykorhiza**. Tento velice důležitý vztah je probíraný ve zvláštní kapitole ekologie mikroorganismů. Dále je to **symbióza s hmyzem**, kde nejtěsnější vztahy nacházíme u podkorního hmyzu v jimi vybudovaných chodbičkách, žijícího buď v úživném lýku, které je plné toxických sekundárních metabolitů, či v nestravitelném dřevě a tzv. **ambrosiová houba** odbourává toxiny nebo „předtráví“ dřevní hmotu hmyzu ke konzumaci (hmyz neumí svými enzymy rozložit celulózu a lignin), ale může docházet i ke konzumaci hyf houby. Samičky členovců uchovávají houby v mycetangiích (speciální útvary poblíž kladélka), kdy je při kladení vajíček do dřeva kolonizováno houbou okolní dřevo. Speciální houby, které nerostou nikde jinde na světě, si „pěstují“ i někteří mravenci a termiti (např. rod *Atta*) ve svých termitištích na donesených listech a pak se jimi živí (především larvy). Samičky si při rojení nesou sebou

zárodky houby, aby ji rozpěstovali v novém mraveništi. Můžeme tak hovořit o prvních zemědělcích.

Tzv. **lichenizované houby** (známo kolem 15 000 druhů) vytváří symbiózu se zelenými řasami nebo cyanobakteriemi, kdy tvoří společně lišejníky. **Lišejník** je komplexní organismus, obecně definován jako morfologicko-fyziologická jednotka, ve které je obligátně vázán určitý druh houby (mykobiont) s určitým druhem řasy nebo sinice (obecně fotobiont). Na hyfách mykobionta se vytvářejí haustoria pronikající do buněk fotobionta. Celý organismus je tedy autotrofní, soužití je oboustranně výhodné pro obě složky a umožňuje osídlení i extrémních lokalit. Vztah mykobionta a fotobionta je zjednodušeně označován jako **mutualistická symbióza**, někdy se jedná spíše o **helotismus (ujařmení)**.

Obrovský význam prakticky všudypřítomných hub pro ekosystémy, ale i člověka, spočívá v jejich schopnostech vytvářet úzké svazky s jinými organismy a v širokém rejstříku metabolických pochodů umožněných bohatým enzymatickým aparátem. Tyto tak plní důležitou úlohu v půdě, vodách, ale jsou i nápomocny v celé řadě lidských činností (biotechnologie). V **půdním prostředí** tvoří významnou a nezastupitelnou biocenózu (v 1 cm³ bohaté půdy najdeme 1 km hyf s celkovým povrchem okolo 300 cm²) s různými nároky na prostředí a výživu, díky čemuž mohou žít na velice rozdílných stanovištích. Mají například schopnost žít v půdě ve velikém rozsahu půdní pH reakce. Jsou schopny žít ve velice kyselém prostředí, např. v kyselých lesních půdách (mohou být acidofilní a acidotolerantní), kde sehrávají úlohu hlavního dekompozitora. Díky jejich bohatému enzymatickému aparátu jsou schopny rozkládat obrovskou škálu organických látek. Jedná se o houby sacharolytické rozkládající jednoduché sacharidy, dále o houby hydrolytické schopné rozkládat hemicelulózy, celulózu, pektiny, chitin. Houby lignolytické rozkládají dekompozicím velice odolný lignin. Jsou tedy výrazným činitelem při koloběhu uhlíku, při mineralizaci a humifikaci. Mají také obrovský význam pro tvorbu půdních agregátů. Pro houby je půda největším rezervoárem. Díky dlouhým hyfám nejsou tak citlivé na změny nastávající v jednotlivých mikroekosystémech (např. jednotlivé půdní agregáty), v hyfách mohou proudit živiny nebo kyslík do míst kde je jejich nedostatek. V jednotlivých typech půd se vyskytuje různé množství hub, ale tyto tvoří velkou část celkové hmotnosti půdních organismů. Například v lesních půdách může mycelium hub dosahovat až 90 % z celkové biomasy organismů. V lesích severní Ameriky bylo zkoumáno mycelium houby *Armillaria bulbosa* o stáří zhruba 1 500 let, které bylo rozrostlé na ploše 30 ha, kdy stélka (tělo houby) dosahovala hmotnosti více jak 600 tun. Jedná se tedy pravděpodobně o největší organismus na této planetě.

Některých hub se může využívat při **biologické ochraně rostlin** proti různým patogenům, například *Trichoderma viride* proti verticiliovému vadnutí rajčat a proti patogenům *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* atd., *Penicillium oxalicum* proti hnilobě kořene hrachu. Spory druhu *Trichoderma harzianum* aplikované na semena před setím mohou zabránit hnilobě semen a padání klíčících rostlin způsobeným patogeny rodu *Pythium*. Příslušníci rodů *Entomophthora*, *Beauveria*, *Metarrhizium* aj. jsou využívány při boji proti různým hmyzím škůdcům. Některé druhy (z rodů *Puccinia*, *Alternaria*, *Phoma* atd.) se využívají též jako tzv. mykoherbicity.

Bohatá enzymatická výbava je předpokladem k jejich využití při různých biotechnologiích v potravinářském, chemickém a farmaceutickém průmyslu. Některé houby (kvasinky) jsou využívány hlavně v potravinářském průmyslu při výrobě alkoholických nápojů, pekařského a krmného droždí. Příkladem jsou právě kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, které se svými varietami uplatňují jako pekařská, lihovarská, vinařská nebo tzv. „svrchní“ pivovarská kvasinka. Autolyzáty a extrakty droždí nebo pivovarských kvasinek slouží jako přísady do potravin a jsou důležitou složkou živných půd v mikrobiologických laboratořích. Krmné droždí je vysokohodnotné bílkovinné krmivo vyráběné z melasy a odpadů (např. z výroby kyseliny citrónové, z celulózy apod.) použitím kvasinek rodu *Candida* (*C. utilis*, *C. tropicalis* a *C. pseudotropicalis*). Využívá se tvorby metabolitů a enzymů (organické kyseliny, koenzymy, nukleotidy, lipidy, proteázy, amylázy, celulózy, pektolytické enzymy) celé řady hub v chemickém a potravinářském průmyslu. Zde se využívají také k výrobě některých plísňových sýrů (*Penicillium camemberti*, *P. roqueforti*) a některých trvanlivých masných výrobků (např. uherák). Kvasinky *Kluyveromyces fragilis* a *K. lactis* zase zkvašují laktózu a jsou součástí tzv. keřirových mléčných výrobků. Některé rodotoruly jsou producenty karotenoidů a tuků. Celá řada hub produkuje některé vitamíny či antibiotika (*Penicillium*, *Aspergillus*) využitelné ve farmaceutickém průmyslu. Speciální kmeny *Saccharomyces cerevisiae* se používají na výrobu ergosterolu (provitamínu D). Z buněk kvasinek se izolují také další druhy vitamínů (hlavně skupiny B). Rozkladných schopností hub se využívá v čistírnách odpadních vod, při kompostování biologicky rozložitelných odpadů a při bioremediacích.

Houby mohou však mít i **negativní dopad** na své okolí. U hub byla nalezena schopnost tvorby toxických metabolitů – **mykotoxinů**, původně určených spolu s antibiotiky pro mezidruhový konkurenční boj, kdy mají potlačovat konkurenční organismy. Těmito mykotoxiny mohou kontaminovat a znehodnotit celou řadu rostlinných produktů (potravin) a zprostředkovaně přes krmivo i maso. Mykotoxiny jsou sekundární toxické metabolity plísní,

patřící mezi významné toxiny přírodního původu. Jsou to strukturně odlišné organické sloučeniny o nízké molekulové hmotnosti. Většinou termostabilní. Jsou nebílkovinné povahy, toxické pro člověka a živé organismy. V současnosti je známo více jak 500 mykotoxinů produkovaných 350 druhy hub. Produkce mykotoxinů závisí zejména na typu potraviny, způsobu jejího uchování a přítomnosti mikrobiálních překážek, např. konzervačních látek. Určitý mykotoxin může být produkován zástupci několika rodů plísní a naopak dva i více mykotoxinů mohou být produkovány určitým druhem plísní. Mykotoxin může přetrvávat v potravine nebo krmivu, i když se již produkční houba nevyskytuje. Základní příčiny výskytu mykotoxinů může být sklizeň vlhkých obilovin a jejich nevhodné skladování, technologické operace prováděné volně na vzduchu za nevyhovujících hygienických podmínek (vysoká vlhkost a teplota), použití zaplísňených surovin pro výrobu potravin, nevhodné uchování potravin v domácnosti (vlhkost, teplota), krmení zaplísňenými krmivy (kontaminace mléka a masa).

Mykotoxiny mohou vyvolávat **akutní otravy** (po větším jednorázovém požití působí jako hepatoxiny a neurutoxiny) nebo **chronické otravy** – po opakovaném podání menších dávek. Významné jsou pozdní účinky mykotoxinů za delší dobu po expozici, ty mohou být mutagenní, karcinogenní, teratogenní, imunosupresivní a alergenní. K nejvýznamnějším mykotoxinům patří **aflatoxiny** produkované plísněmi rodu *Aspergillus* a **ochratoxiny**, které produkují plísně rodů *Penicillium* a *Aspergillus*, ale i další mykotoxiny produkované rody *Fusarium*, *Alternaria* atd.

Je také celá řada hub, které jsou schopny způsobovat **choroby (mykózy)** živočichů včetně člověka a rostlin. Mykózy u člověka jsou lokální (dermatomykózy – kůže, vlasy – rod *Trichophyton*) nebo systémové – kůže, sliznice, orgány, kdy dochází k šíření krví. Tyto jsou mnohem závažnější a obtížně se zvládají. Například *Aspergillus fumigatus* se může uchytit v plicích, kde způsobuje invazivní aspergilózu, která je často smrtelná. *Pneumocystis jiroveci* vyvolává plicní infekce u osob se sníženou imunitou. Velmi nebezpečný patogen je *Cryptococcus neoformans*, který může napadat vnitřní tkáně zvířat i lidí, kde napadá i v nervový systém. Vyskytuje se jako saprofyt v půdě, na rostlinách a v celé řadě zvířecích hostitelů. Častým zdrojem infekce jsou hnízda ptáků a jejich trus (hlavně holubů). Člověk se nakazí hlavně vdechnutím neopouzdřené houby. Vážné choroby zvířat i lidí, tzv. kandidózy, vyvolávají mnohé druhy rodu *Candida* (např. *C. albicans* způsobuje často vaginální záněty).

U rostlin včetně těch zahradnický pěstovaných způsobují plísně celou řadu chorob, jejichž důsledky mohou mít značný ekonomický dopad pro pěstitele. Z celé řady houbových patogenů lze zmínit například druh *Taphrina deformans* způsobující kadeřavost broskvoní,

zástupci vřeckatých hub způsobují tzv. padlí u celé řady rostlin (např. *Erysiphe necator*, synonymum *Ucinula necator* či *Oidium necator* způsobuje padlí révy vinné, *Podosphaera leucotricha* způsobuje padlí jabloní), druhy rodu *Fusarium* způsobují choroby u celé řady rostlin, stejně jako rod *Alternaria*. Botritidu u révy vinné způsobuje *Botrytis cinerea*, rzi bylin i dřevin způsobují zástupci rodů *Gymnosporangium*, *Cronatium*, *Puccinia*, *Uromyces* atd. Moniliózy vyvolává *Monilia laxa* a tak bychom mohli pokračovat velmi dlouho, neboť se uvádí, že až 80 % známých závažných chorob rostlin způsobují právě houby.

Houby mohou způsobovat také velké škody ve stavebnictví, kdy tzv. dřevokazné houby mohou narušovat statiku budov, tam kde bylo dřevo použito jako konstrukční materiál. Nejznámější z nich je dřevomorka domácí (*Serpula lacrymans*).

Dříve se řadily k houbám i organismy, které byly z říše pravých hub vyčleněny a dnes se řadí k samostatným říším *Chromista* a *Protozoa*.

6.3.3 Říše *Chromista*

Říše *Chromista* zahrnuje fotosyntetizující i nefotosyntetizující organismy, jednobuněčné i mnohobuněčné organismy, žijící ve vodě i v půdě. Najdeme mezi nimi i parazity. Na rozdíl od hub je buněčná stěna zpevněna celulózou.

Mezi chromista patří všechny řasy, jejichž chloroplasty obsahují **chlorofyl a** a **c** obalený čtyřmi membránami, přičemž ta vnější splývá s endoplasmatickým retikulem a mají hnědou barvu. Patří sem tedy **hnědé řasy** žijící v mělkých mořích. Jsou využívány ke zkrmování dobyt看, ale i jako potrava lidí a k výrobě alginátů (soli kyseliny algové) s využitím v potravinářství ke stabilizaci pokrmů, díky jejich obrovskému povrchu také k imobilizaci kvasinek.

Dále sem patří **oomycety**, dříve řazené k houbám, což jsou organismy, které ztratily při vývoji plastidy a tedy i schopnost fototrofie. Najdeme zde mimo jiných forem také parazity rostlin. Nepohlavně se rozmnožují pomocí dvoubíčíkatých zoospor vznikajících ve sporangiích. Pohlavní rozmnožování probíhá pomocí splynutí samičí pohlavní buňky **oosféry**, které se tvoří v **oogoniu** se samčími jádry, které se tvoří v samčím pohlavním orgánu **anteridiu** za vzniku **oospory**. Důležitými zástupci oomycet jsou například *Plasmopara viticola* (syn. *Peronospora viticola*) – vřetenatka révová, která patří k závažným chorobám révy vinné a *Phytophthora infestans* původce chorob plísně bramboru a rajčete. *Pseudoperonospora cubensis* neboli plíseň okurková působí závažné škody na porostech okurek. Zástupci rodu *Pythium* jsou původci chorob podzemních orgánů a tzv. padání klíčících rostlin. Ve spojitosti s druhem *Pythium oligandrum* je třeba zmínit pojem

hyperparazitismus (jedná se o parazitismus na parazitovi), kdy tento druh, který je mykoparazitem proniká svými vlákny do buněk parazita (plísně nebo kvasinky) a čerpá z něho pro svoji výživu potřebné látky. Na podkladě výživové a prostorové kompetice tak vytlačuje z prostoru patogenní houby. Je součástí přípravku na ochranu rostlin Polyversum. *P. oligandrum* je možno využít i v lékařství. Podstatou účinnosti je produkce aktivních enzymů a parazitování na plísňových chorobách. Po vyčerpání parazita mizí z této niky (např. lidské tělo není pro něho přirozené prostředí a není schopen se v tomto prostředí adaptovat), tím uvolňuje prostor pro znovuosídlení tzv. normální nativní mikroflorou.

6.3.4 Říše *Protozoa* (prvoci)

Prvoci tvoří nesourodý kmen nejjednodušších živočichů zahrnující kolem 70 000 druhů o velikosti 0,0006 mm až 12,5 cm (obvykle 0,05 až 1 mm). Někdy (spíše dříve) se všechny eukaryotické jednobuněčné organismy, tj. živočichové, rostliny i houby řadí do říše *Protista*. Ve vývojově nejstarších bičíkovecích se snoubí rostlinná a živočišná říše. Říše *Protozoa* zahrnuje především prvoky s chemoheterotrofní výživou a s možností mixotrofie. Nyní se k této říši řadí i slizovky, dyktiostelidy a nádorovky, dříve řazené k houbám.

Prvoci jsou kosmopolitě vyskytující se ve slaných i sladkých vodách, najdeme je v půdě, ale jsou mezi nimi i parazité. V tělech obsahují kolem 90 % vody. Někteří jsou celý život **jednobuněční**, jiní tvoří **kolonie** (po jejich rozdělení jedinci přežívají) nebo vytváří **plasmodia** (mnohojaderné stadium vzniklé splynutím několika jedinců nebo rozpadem jádra jedince).

V těle prvoka se většinou nachází jedno nebo více jader. Nálevníci mají dvě morfologicky i funkčně rozlišená jádra. Oporu a ochranu prvokům poskytuje **pelikula** – povrchová struktura z cytoplasmatické membrány. Někteří prvoci tvoří schránky z organických nebo anorganických látek. Tvoří klidová stadia označovaná jako **cysty**, která přežívá i úplné vyschnutí, přenášení větrem. Pohyb prvoků je pasivní (prouděním vody a vzduchu) nebo aktivní. **Aktivní pohyb** může být **améboidní**, „přeléváním“ cytoplasmy (**panožky**) nebo pomocí **brv (cilie)** a jednoho či více **bičíků (flagellum)** nebo **undulující membránou**, což je pelikulární vychlípenina přirostlá k bičíku ohnutého podél těla (např. *Trypanosoma*). Srůstem brv vznikají ciliální deriváty – **cirry** nebo **membranely**. Pohybové orgány jsou základem pro třídění prvoků do „podskupin“. Vylučovací a osmoregulační funkci u sladkovodních prvoků plní **pulzující kontraktilní (stažitelná) vakuola**. Tito prvoci žijí v hypotonickém prostředí a proto buňka neustále nasává vodu a aby nepraskla, plní vodou vakuolu, která je po naplnění vyvržena s vodou v ní na povrch, tím je zajištěn stálý osmotický tlak. Někteří prvoci mohou

mít **chloroplasty**. Prvoci žijící v anaerobních podmínkách mají místo mitochondrií **hydrogenosomy**. Potravu prvoci přijímají fagocytózou nebo pinocytózou a na jejím trávení se účastní **buněčná ústa** a **buněčná řiť** (u nálevníků) a **trávicí vakuola**, která vzniká splynutím fagozomu s lysosomem. Pohyb brv nálevníků koordinuje **neuromotorický aparát**.

Prvoci se rozmnožují nejčastěji nepohlavně **dělením**, **pučením** nebo **polytomii** neboli **schizogonií**, **rozpadem**, kdy se jádro mnohokrát rozdělí a buňka se rozpadne na jednojaderné díly. Při pohlavním rozmnožování (jen u některých) dochází ke **kopulaci** – splynutí jedinců představujících gamety a konjugaci, což je výměna části hmoty jader. U některých prvoků se objevuje rodozměna (metageneze) – střídání pohlavní a nepohlavní generace. Podle toho, kdy proběhne meióza, žijí převážně v haploidním (diploidní zygota se hned dělí) nebo diploidním stádiu (jen gamety jsou haploidní), případně se obě rovnoměrně střídají.

6.3.4.1 Ekologie a význam prvoků

Prvoci, kteří se vyskytují v půdě, se uplatňují při samočištění půdy od choroboplodných bakterií, neboť celá řada prvoků se bakteriemi živí. Prvoci se značnou mírou podílejí i na eliminaci patogenních bakterií z vody. Význam mají prvoci i v populaci organismů uplatňujících se v čistírnách odpadních vod, kdy čistící efekt posuzovaný stupněm mineralizace organických látek ve vodě je v přítomnosti prvoků vyšší.

Ve vodních ekosystémech tvoří podstatnou složku planktonu a jsou důležitým článkem (potravou) v potravních řetězcích dalších vodních organismů.

Specializované druhy prvoků (tzv. bachořci) žijí v bachoru přežvýkavců, kde jim pomáhají trávit potravu (spolupodílí se na rozkladu celulózy).

V půdě jsou některé druhy prvoků významnými dekompozitory, jiní se živí bakteriemi. Někteří umí rozkládat tuky, sacharidy a bílkoviny, v symbióze s celulolytickými bakteriemi i celulózu. Častá je symbióza améb a nálevníků s jednoduššími řasami, tato symbióza je dědičná.

Nejvíce prvoků žije ve vrstvě 10 až 12 cm, rhizosférní půda je osídlena 2 až 3krát více než půda okolní. V jednom gramu půdy najdeme zhruba 10^3 až 10^6 jedinců a tvoří až 30 % biomasy půdní fauny. V úrodných půdách převládají kořenonožci a nálevníci, v málo úrodných zase améby. Souvisí to se zdroji obživy, většinou jsou to živé nebo mrtvé bakterie, ale také odumřelá organická hmota. Vzájemný vztah mezi prvoky (predátor) a bakteriemi není vždy jen prospěšný pro prvoky, neboť tím, že jsou konzumováni z mikrobiálního společenství určité druhy selektivně, může dojít k „ozdravení“ populace, přežívají aktivnější buňky bakterií. Jde tu v podstatě o osvěžování a zlepšování genomu bakteriální populace

a intenzifikaci mikrobiálních procesů při zachování dynamické rovnováhy v půdním životě. Podobnou ozdravnou funkci mají v ekosystémech makrosvětla velké šelmy.

V půdě i ve vodě se nachází celá řada nálevníků oddělení *Ciliophora*, kteří jsou nejsložitější z heterotrofních prvoků a kam patří známá **trepka velká** (*Paramecium caudatum*), která žije v organicky znečištěných vodách (indikátor stupně znečištění vod, kdy míra znečištění je přímo úměrná množství trepek). Patří sem i bachořci (*Entodiniomorpha*), jejichž tělo kryto typickým krunýřem vybíhajícím v různé výběžky, kteří žijí v bachoru přežvýkavců, jsou nápomocni štěpení celulózy (enzym celuláza) a tak pomáhají přežvýkavcům trávit rostlinnou potravu. K zástupcům *Euglenozoa* patří například **krásnoočko zelené** (*Euglena viridis*) obsahující chloroplasty a které je schopné atotrofie i heterotrofie, je tedy myxotrofní. Ve vodním prostředí i v půdě najdeme zástupce oddělení *Rhizopoda* (kořenonožci), kteří se pohybují a přijímají potravu pomocí panožek (fagocytóza). Známým zástupcem v půdě je druh *Chaos chaos*. Podobné kořenonožcům jsou paprskovci oddělení *Actinopoda*, kdy panožky jsou kolmé k povrchu buněk a připomínají slunce. *Heliozoa* (slunivky) žijí v rašelinných vodách a schránku mají z SiO₂ a chitinu, mořští mřížovci (*Radiolaria*) mají schránky také z SiO₂. Obrněnky oddělení *Dinozoa* žijí ve slaných i sladkých vodách. K oddělení *Dyctyostelida* patří prvoci houbového charakteru, kam se dříve řadily, např. rod *Dyctyostelium* žijící v půdě. K houbám se řadily dříve i zástupci oddělení *Myxomycota* a *Mycetozoa*.

Některých druhů prvoků (*Thelohania hyphantriae*, *Mattesia grandis*, *Malameba locustia*) je možno využít v boji proti škůdcům při **biologické ochraně rostlin**.

Mezi prvoky však najdeme mnoho parazitů. Tito parazité mají složitý životní cyklus, kdy dochází ke střídání hostitelů a pohlavního i nepohlavního množení. Celá řada z nich napadá i člověka. K nim patří například zástupci **bičíkoveců** oddělení *Mastigophora* jako je bičenka poševní (*Trichomonas vaginalis*), která způsobuje trichomonázu (zánět pochvy), muži jsou zde přenašeči, bičenka se u nich neprojevuje, ale přežívá v močové trubici. *Lambliia* nemá buněčná ústa a živí se tak pouze pinocytózou. **Lamblie střevní** má dvoustranně souměrné tělo s osmi bičíky a dvěma jádry. Přichycuje se na stěnu tenkého střeva, kde způsobuje horečnaté záněty, průjemy, nucení ke zvracení a břišní křeče. Jejím napadením jsou ohroženy spíše děti než dospělí. Vyskytuje se zejména v jižní Evropě a na Balkáně, ale každé léto je zjištěna řada případů napadení lamblí i na našem území.

Trypanosoma brucei je skupinou afrických trypanozom, které přenáší bodalka tse-tse (rod *Glossina*). **Trypanozoma spavičná** (*T. brucei gambiense*, *T. brucei rhodesiense*) parazituje v krvi, lymfě a mozkomíšním moku. Vyskytuje se u nich antigenní proměnlivost, kdy jednou

za asi 10 000 dělení změni gen pro povrchový glykoprotein – imunitní systém tak není schopný proti nim bojovat a vyčerpává se. Způsobuje **spavou nemoc**, ta se projevuje hubnutím, slábnutím, malátností, nakažený člověk většinu času prospí a většinou končí smrtí, léčí se preparáty z antimonu nebo arsenu. **T. dobytčí** (*Trypanosoma brucei brucei*) způsobuje spavou nemoc skotu neboli naganu (znamená smutný dobytek). *Trypanosoma cruzi*, která se vyskytuje v Latinské Americe, způsobuje Chagasovu nemoc. Poškozuje tkáň a vyvolává autoimunitní reakce. Přenašečem jsou ploštice z čeledi zákeřnicovití, infekční stadia se vyvíjejí v zadní části trávicí trubice a během sání ploštice se při kálení dostávají na kůži hostitele a dostávají se do něj aktivně drobnými rankami.

Mezi parazity najdeme i zástupce oddělení *Rhizopoda* (kořenonožci), kam patří **měňavka úplavičná** (*Entamoeba histolytica*) vyvolávající amebózu (měňavkovou úplavici). Naleptává stěnu střeva, způsobuje průjmy, krvácení ze střev. Střevní stěnou se dostává do cév a orgánů (plíce, mozek, játra). Může končit smrtí. Přenáší se mouchami (nalepují se na ně cysty měňavek, které se z ní dostávají na jídlo) nebo vodou. Vyskytuje se po celém světě, ale nejvíce v rozvojových zemích. Parazit z oddělení *Sporozoa* (výtrusovci) jsou intracelulární parazité bezobratlých i obratlovců (alespoň část životního cyklu). Na vrcholu buňky je vytvořen tzv. apikální komplex, tj. síť mikrotubul, v jehož blízkosti jsou sekreční váčky, které vylučují lepkavý a leptavý sekret, pomocí něž se nalepí na stěnu střeva a naleptají ji. V místě uvolnění těchto látek se v buňce vytvoří prohlubeň, do které se prvok zasune a nakonec je pohlcen. Během vývojového cyklu prodělávají metagenézi. Patří sem například **kokcidie jaterní** (*Eimeria stiedae*), která se vyskytuje u králíků a zajíců. Způsobuje kokcidiózu (napadá játra a žlučovody), projevuje se nafouknutím, průjmy, z očí vytékajícím hnisem, léčba je velmi těžká.

Patří sem i **krvinkovky** (*Haemosporidia*) tzv. **krevní kokcidie**, které jsou závislé na přenašečích, napadají červené krvinky (způsobují rozpad erytrocytů) a buňky jater. Nejnebezpečnější parazit je **zimnička** (*Plasmodium*). Způsobuje **malárii** (bahenní zimnice). Zimničky přenáší samičky komárů rodu *Anopheles*, ten se nevyskytuje jen v tropech a subtropích, ale i na našem území. Díky důslednému léčení (zničení zdroje) z ČR malárie zmizela před šedesáti lety. Člověk je mezihostitel, komár definitivní hostitel. Při kousnutí se dostává zimnička nejprve do jater (exoerytrocytární fáze) a pak do červených krvinek, které se nakonec rozpadají. Uvolňují se zplodiny metabolismu, které způsobují vysoké horečky (nad 41 °C). Komár nasaje s krví gamety, v jeho střevě dojde k jejich kopulaci a vzniká zygota. Léčí se chininem nebo syntetickými prostředky chininu podobnými. Rozeznáváme

více forem malárie. V Africe žije mnoho lidí, kteří jsou vůči malárii imunní díky genetické chorobě tzv. srpková anémie.

Dalším významným zástupcem parazitujících prvoků je **toxoplasma** (*Toxoplasma gondii*), jejímž konečným hostitelem jsou kočky a mezihostitelem je jakýkoli teplokrevný obratlovec, především hlodavci a malí ptáci. Parazituje především v bílých krvinkách. Je nejhojnějším a nejrozšířenějším parazitem (v ČR je prevalence 30 %, ve Francii dokonce 80 %). Člověk se nakazí požitím tkáňové cysty v nedokonale upraveném mase nebo oocystami od koček. Zpočátku se projeví akutní toxoplasmóza, podobná velmi mírné chřipce, kdy bolest kloubů, otok uzlin a horečka asi po 14 dnech odezní. Vážné následky může mít toxoplasmóza u osob s poruchami imunity (u pacientů s AIDS nebo při podávání imunosupresiv apod.). **U těhotných žen** může toxoplasmóza způsobit mentální poškození plodu nebo i potrat. Po odeznění akutní fáze nastává fáze chronická – člověk zůstává nakažen cystami po celý život, díky silné imunitní odpovědi nemůže být znovu nakažen, proto už nemůže prodělat akutní fázi. Chronická toxoplasmóza však způsobuje u člověka psychické změny, snižuje schopnost soustředění, zpomalují se reakce atd. Tyto důsledky související s tzv. **manipulační aktivitou** parazita ovlivňujícího hostitele (více ve druhém díle skripta), což může mít pro člověka nepříjemné důsledky. Napadení například vlivem změn psychiky a chování způsobují více dopravních nehod atd. a ukazuje se, že působení toxoplasmy může být spouštěcím mechanismem propuknutí schizofrenie.

Mezi parazity zahradních rostlin patří *Plasmodiaphora brassicae* z oddělení *Plasmodiaphora* (**nádorovky**), dříve řazené k houbám. Tento druh napadá kořeny brukvovitých rostlin, kde se tvoří různé nádorky.

6.3.5 Říše *Plantae* (rostliny)

Do této říše řadíme jednobuněčné nebo vícebuněčné fotoautotrofní eukaryotické organismy obsahující chloroplasty se dvěma membránami. Do mikroorganismů můžeme zahrnout z této říše řasy.

Řasy (*Algae*) jsou jednobuněčné nebo vícebuněčné, většinou fotoautotrofní organismy mikroskopických až makroskopických rozměrů. Najdeme je především ve sladkých i slaných vodách, v půdě, ale i na jiných pevných površích.

Kromě mitózy je u řas vyvinuta meioza a pravé pohlavní rozmnožování, objevuje se také střídání haplo- a diplofáze, vedoucí až ke střídání generací (rodozměně), ta může být **izomorfická**, kdy se sporofyt a gametofyt neliší nebo **heteromorfická**, kde je sporofyt a gametofyt odlišný, často jedna z fází výrazně převažuje a druhá je redukována.

K vegetativnímu rozmnožování slouží oddělované buňky nebo úlomky stélek. Při nepohlavním rozmnožování se tvoří **mitospor** (**plano-** pohyblivé nebo **aplanospor**), vyvíjejí se přeměnou vegetativních buněk nebo ve sporangíích. U gametogamie dochází ke splývání dvou nezávislých gamet, které mohou být stejné velikostí a tvarem (**izogamie**) nebo morfologicky odlišené (**anizogamie**). **Oogamie** znamená oplození samičí buňky samčí buňkou. Při **somatogamii** dochází ke splývání protoplastů somatických buněk.

Samotné tělo – stélka, jak je nazýváno, může být jednobuněčná či vícebuněčná, a to několika typů: (i) **kokální** – jednobuněčná, jednojaderná, s pevnou buněčnou stěnou, (ii) **monadoidní** (bičíkatá) – jednobuněčná (jednojaderní bičíkovci s jedním nebo více bičíků), dále (iii) **rhizopodová** (měňavkovitá) – jednobuněčná, jedno- nebo vícejaderná, tato forma tvoří panožky, (iv) **kapsální** (gloeomorfní) je odvozena od monadoidní, má jedno jádro, buněčná stěna tvořena slizem, někdy jsou přítomny pseudocilie (nepohyblivé bičíky); (v) **trichální** (vláknitá) – mnohobuněčná, s jednojadernými buňkami (obvykle propojeny plasmodesmy), pokud se větví, jsou všechny větve stejnocenné, (vi) **heterotrichální** – odvozená od předchozí, ale je zde morfologické i funkční rozlišení hlavních a vedlejších větví, (vii) **pletivná** (pseudoparenchymatická) – dochází k diferenciaci na rhizoidy, kauloid, fylomy, dále (viii) **sifonální** (trubicovitá) – vakovitá nebo vláknitá, mnohojaderná, vegetativní stélka bez přehrádek (mnohojaderná cytoplasma), přehrádky oddělují pouze reprodukční struktury.

Zelené řasy obsahují **chlorofyl a** a **chlorofyl b**, který je někdy překrytý žlutým **xantofylem**. Asimilačním produktem je škrob (jako u vyšších rostlin). Některé řasy mají pulzující vakuoly jako prvoci a světločivnou skvrnu – stigma.

Řasy rozdělujeme do systému podle celé řady charakteristik, jako jsou druhy pigmentů, typy a počet bičíků, typu reprodukčního cyklu atd.

Řasy z oddělení *Rhodophyta* (**červené řasy**) obsahují v buněčné stěně celulózu, chlorofyl a, karoteny, fykoerythrin a xantofyly. Najdeme je většinou v teplých mořích, kde díky fykoerythrinu a možnosti využívat modrozelené spektrum světla pronikají do větší hloubky než jiné řasy (až 180 m). Některé červené řasy (rody *Eucheuma*, *Gelidium*), které obsahují kromě celulózy a pektinu i gelové sírany polysacharidů – **agar**, který se využívá na přípravu tuhých živných půd ke kultivaci mikroorganismů a ve farmaceutickém průmyslu a v cukrárenské výrobě.

Zástupci oddělení *Chlorophytae* (**zelené řasy**) obsahují chlorofyl a, b, karoteny a xantofyly bez fykoerythrinu a jsou jednobuněčné nebo vláknité jedno nebo vícejaderné.

6.3.5.1 Ekologie a význam řas

Řasy jsou jako fotoautotrofové významnými producenty organické hmoty a kyslíku. Ve vodních systémech tak ovlivňují vlastnosti vody (průhlednost, zakalení, množství rozpustného kyslíku). Jsou důležitou složkou planktonu (fytoplankton). Mohou se však stát součástí vodního květu.

Množství organické hmoty tvoří i v půdě, která je zdrojem energie i uhlíku pro bakterie a houby pro tvorbu humusu. Půdní řasy vylučují velké množství slizových látek a tím napomáhají stmelovat půdní částičky do agregátů, důležité pro půdní strukturu. Obohacují půdní póry o kyslík a umožňují tak rychlejší mineralizaci.

Řasy se využívají též ke konzumaci či zkrmování a je využíváno řady látek z řas získávaných (např. agar). Některé řasy mohou v budoucnu sehrát důležitou roli při jejich využití jako energetického zdroje. Jedna z možností je využití autotrofní produkce biomasy řas ke spalování nebo jako substrátu pro metanogenní archebakterie k výrobě bioplynu. Nové možnosti by mohly vyplývat ze schopnosti některých řas (*Chlamydomonas reinhardtii*) při nedostatku kyslíku a síry po nějakou dobu jejich života produkovat H₂. Vodíku by se dalo využít jako náhražky fosilních paliv (např. v palivových článcích).

U některých mořských plžů živících se zelenými řasami bylo zjištěno, že do vlastních epitelových buněk zabudovávají chloroplasty z pozřených řas. Jedná se například o plže *Elysia atroviridis*. Tyto plastidy (nazývané **kleptoplastidy**) přežívají v těle plžů až několik měsíců a zůstávají fotosynteticky aktivní. V době potravního nedostatku jsou funkční kleptoplastidy důležité pro výživu plžů, kdy tyto přecházejí na mixotrofní a možná i autotrofní způsob výživy. Protože nejsou patrně součástí zárodečného vývoje plžů, musí si je každá generace znovu získat z potravy (řas).

POUŽITÁ A DOPORUČENÁ LITERATURA

- AMBROŽ, Z. (1986): Mikrobiologie (obecná část). VŠZ v Brně, 100 s.
- CEMPÍRKOVÁ, R., LUKÁŠOVÁ, J., HEJLOVÁ, Š. (1997): Mikrobiologie potravin, JU ZF České Budějovice, 165 s. ISBN: 80-7040-254-7
- CLARK, T. A., MONCALVO, J-M. (2005): Fungal phylogeny based on complete mitochondrial genome sequences. In: Deshmukh, S. K., Rai, M. K. (eds) Biodiversity of fungi. Their role in human life. Sci. Publ. Enfield, USA. ISBN: 1-57808-368-0, s. 15 – 32.
- GÖPFERTO VÁ, D., JANO VSKÁ, D., DOHNAL, K., MELICHERČÍKOVÁ, V. (2002): Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena. Pro střední a vyšší odborné zdravotnické školy. Triton, Praha, 148 s. ISBN: 80-7254-223-0
- GÖRNER, F., VALÍK, Ľ. (2004): Aplikovaná mikrobiológia požívatín. Malé centrum Bratislava, 528 s. ISBN: 80-967064-9-7
- GRYNDLER, M, BALÁŽ M, HRŠELOVÁ, H, JANSÁ, J, VOSÁTKA, M. (2004): Mykorhizní symbióza: o soužití hub s kořeny rostlin. Praha, Academia, 366 s. ISBN 80-200-1240-0
- JANDEROVÁ, B., BENDO VÁ, O. (1999): Úvod do biologie kvasinek. Karolinum, Praha, 108 s. ISBN: 80-7184-990-1
- JAVOREKOVÁ, S., MAKOVÁ, J. (2012): Mikrobiológia. SPU, Nitra, 146 s. ISBN: 978-80-552-0760-5
- KALHOTKA, L. (2014): Mikromycety - vláknité mikromycety (plísňe) a kvasinky - v prostředí člověka. Mendelova univerzita v Brně, 78 s. ISBN: 978-80-7375-943-8
- KLABAN, V. (2011): Ekologie mikroorganismů – Ilustrovaný lexikon biologie, ekologie a patogenity mikroorganismů. Galén, Praha, 549 s. ISBN: 978-80-7262-770-7
- KOMPRDA, T. (2007): Obecná hygiena potravin, MZLU Brno, 148 s. ISBN: 978-80-7157-757-7
- MALÍŘ, F., OSTRÝ, V., BÁRTA, I., BUCHTA, V., DVOŘÁČKOVÁ, I., PAŘÍKOVÁ, J., SEVERA, J., ŠKARKOVÁ, J. (2003): Vláknnité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. NCO NZO, Brno, 349 s. ISBN: 80-7013-395-3
- MARENDIAK, D., KOPČANOVÁ, Ľ, LEITGEB, S. (1987): Poľnohospodárska mikrobiológia. Príroda, Bratislava, 444 s.
- ROSY PAL S. a kol. (2003): Nový přehled biologie. Scientia, Praha, 797 s. ISBN: 80-7183-268-5

ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. Prokaryotické organismy. From Encyklopedie hydrobiologie : výkladový slovník [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2014-07-26]. Available from www: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=P035>

SEDLÁČEK, I. (2007): Taxonomie prokaryot. Masarykova univerzita. 270 s. ISBN 80-210-4207-9

SCHINDLER, J. (2010): Mikrobiologie pro studenty zdravotnických oborů. Grada Publishing, Praha. 224 s. ISBN 978-80-247-3170-4

SCHINDLER, J. (2008): Ze života bakterií. Academia, Praha, 144 s. ISBN: 978-80-200-1666-9

ŠILHÁNKOVÁ, L. (2002): Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. Academia, Praha, 363 s. ISBN: 8-85605-71-6

ŠIMEK, M. (2003): Základy nauky o půdě 3. Biologické procesy a cykly prvků. Skriptum. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. 151 s. ISBN 80-7040-630-5

ŠROUBKOVÁ, E. (1996): Technická mikrobiologie, MZLU Brno, 150 s. ISBN: 80-7157-226-8

TANČINOVÁ, D., MAKOVÁ, J., FELŠŤCIOVÁ, S., KAČÁNIOVÁ, M., KMEŤ, V. (2012): Mikrobiológia potravín. SPU, Nitra, 150 s. ISBN: 978-80-552-0904-3

VELÍŠEK, J. (1999) : Chemie potravin 1 – 3, OSSIS Tábor, ISBN 80-902391-2-9.

VODRÁŽKA, Z. (1996): Biochemie. Academia, Praha, ISBN: 80-200-0438-6.

VOTAVA, M. a kol. (2005): Lékařská mikrobiologie obecná. NEPTUN Brno, 351 s. ISBN: 80-86850-00-5

WILLEY, J. M., SHERWOOD, L. M., WOOLVERTON, CH. J. (2008): Prescott, Harley, and Klein's microbiology. — 7th ed. McGraw-Hill, New York, NY, USA, SBN 978-0-07-299291-5, 1088 s.

<http://docslide.net/documents/m0023-obecna-mikrobiologie-distančni-text-iii.html>

Autor	Ing. Ivan Tůma, Ph.D.
Název titulu	MIKROBIOLOGIE (pro zahradnické obory) Díl 1. Obecná část
Vydavatel	Mendelova univerzita v Brně Zemědělská 1, 613 00 Brno
Vydání	První, 2015
Náklad	200 ks
Počet stran	138
Tisk	ASTRON studio CZ, a.s.; Veselská 699, 199 00 Praha 9 Neprošlo jazykovou úpravou.
ISBN	978-80-7509-226-7
ISBN	978-80-7509-228-1 (soubor)
ISBN	978-80-7509-227-4 (II. díl)

Tato publikace je spolufinancována z Evropského sociálního fondu a státního rozpočtu České republiky.

Byla vydána za podpory projektu OP VK CZ.1.07/2.2.00/28.0302 Inovace studijních programů AF a ZF MENDELU směřující k vytvoření mezioborové integrace.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ