

Zemědělské půdoznalství a mikrobiologie

přednáška 11

**Ing. Jaroslav Záhora, CSc.
ústav 221**

Metabolismus

..... látková přeměna

soubor biochemických reakcí zajišťujících přísun a využití energie a stavebních látek

tisíce reakcí několika málo typů

reakce rychlé, řízeny enzymy

reakce jsou propojené do řetězců či cyklů ⇒
metabolických drah

asi 100 klíčových molekul

Metabolismus

dvě podskupiny protichůdných reakcí:

katabolismus x **anabolismus**

rozkladné reakce x syntetické reakce

exergonické procesy x endergonické procesy

oxidace x redukce

disimilace x asimilace

získávání energie a stavebních prvků x z jednoduchých stavebních
prvků (produktů katabolismu)

skládány složitější sloučeniny

rozklad látek až na CO_2 , NH_3 , H_2O ... x syntéza produktů

amfibolické procesy

změny substrátu bez energetického efektu

Katabolismus - rozkladná část metabolismu

I. fáze

na buněčné úrovni v lysosomech, štěpení látek na stavební prvky
⇒ rozvod oběhovým systémem do potřebných míst, nezískává se energie

II. fáze

postupný rozklad za dehydrogenace na jednouhlíkaté a dvouhlíkaté sloučeniny (CO_2 a acetylkoenzym A), získáno malé množství energie, získány aktivované vodíky bohaté na energii

III. fáze

acetyl-CoA oxidován na CO_2 v tzv. citrátovém cyklu za zisku dalších aktivovaných vodíků, aktivované vodíky z citrátového cyklu a z 2. fáze přeneseny enzymatickým systémem na kyslík v tzv. respiračním řetězci ⇒ zisk energie, získaná energie se ukládá

ATP

Anabolismus - syntetická část
metabolismu

3 fáze:

vznik stavebních prvků = 2. a 3. fáze katabolismu

syntéza základních stavebních jednotek

tvorba konečných produktů

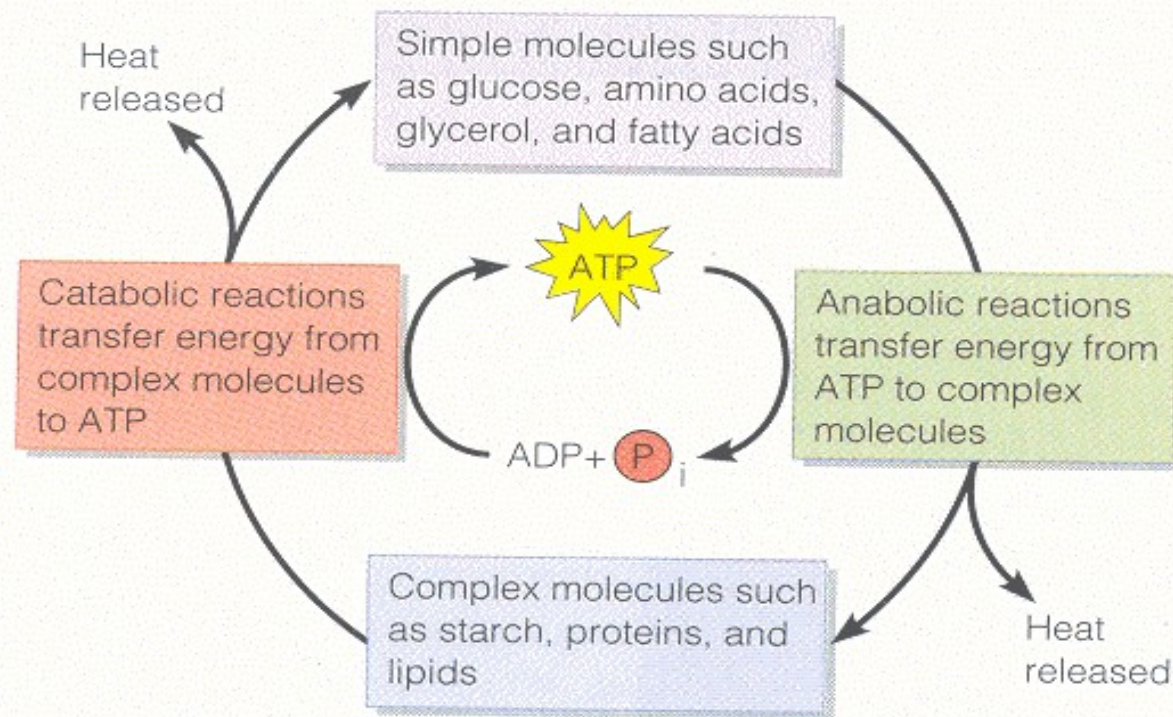


FIGURE 5.1 The role of ATP in coupling anabolic and catabolic reactions. When complex molecules are split apart (catabolism), some of the energy is transferred to and trapped in ATP, and the rest is given off as heat. When simple molecules are combined to form complex molecules (anabolism), ATP provides the energy for synthesis, and again some energy is given off as heat.

- The coupling of anabolic and catabolic reactions is achieved through ATP.

Zvláštnosti metabolismu mikrobů

Vysoká intenzita

E. coli 20 min

S. cerevisiae 2 hod.

Vysoká biosyntetická aktivita

přijímání živin celým povrchem těla, mimořádně vyvinutý enzymatický aparát – proteosyntézy (ribosomy až 40% sušiny), velmi aktivní katabolismus

Mimořádná přizpůsobivost (plasticita) metabolismu

enzymové vybavení buňky

konstitutivní

indukovatelné

reprimovatelné (potenciální)

Mikrobiální enzymy

Lokalizace:

Prokaryota:

- cytoplasmatická membrána
- buněčná stěna
- rozpuštěné v cytosolu

Eukaryota:

- jednotlivé organely
- DNA – replikace – jádro
- tvorba ATP – mitochondrie
- vakuoly - lytické

Endoenzymy (intracelulární e.)

Substrát – nízkomolekulární látky

(asparagináza, kataláza, penicilináza, glukózaoxidáza,)

Exoenzymy (extracelulární e.)

Substrát – biomakromolekuly

(proteáza, amyláza, celuláza, lipáza,)

jsou odolnější, větší produkce

Enzymy (biokatalyzatory)

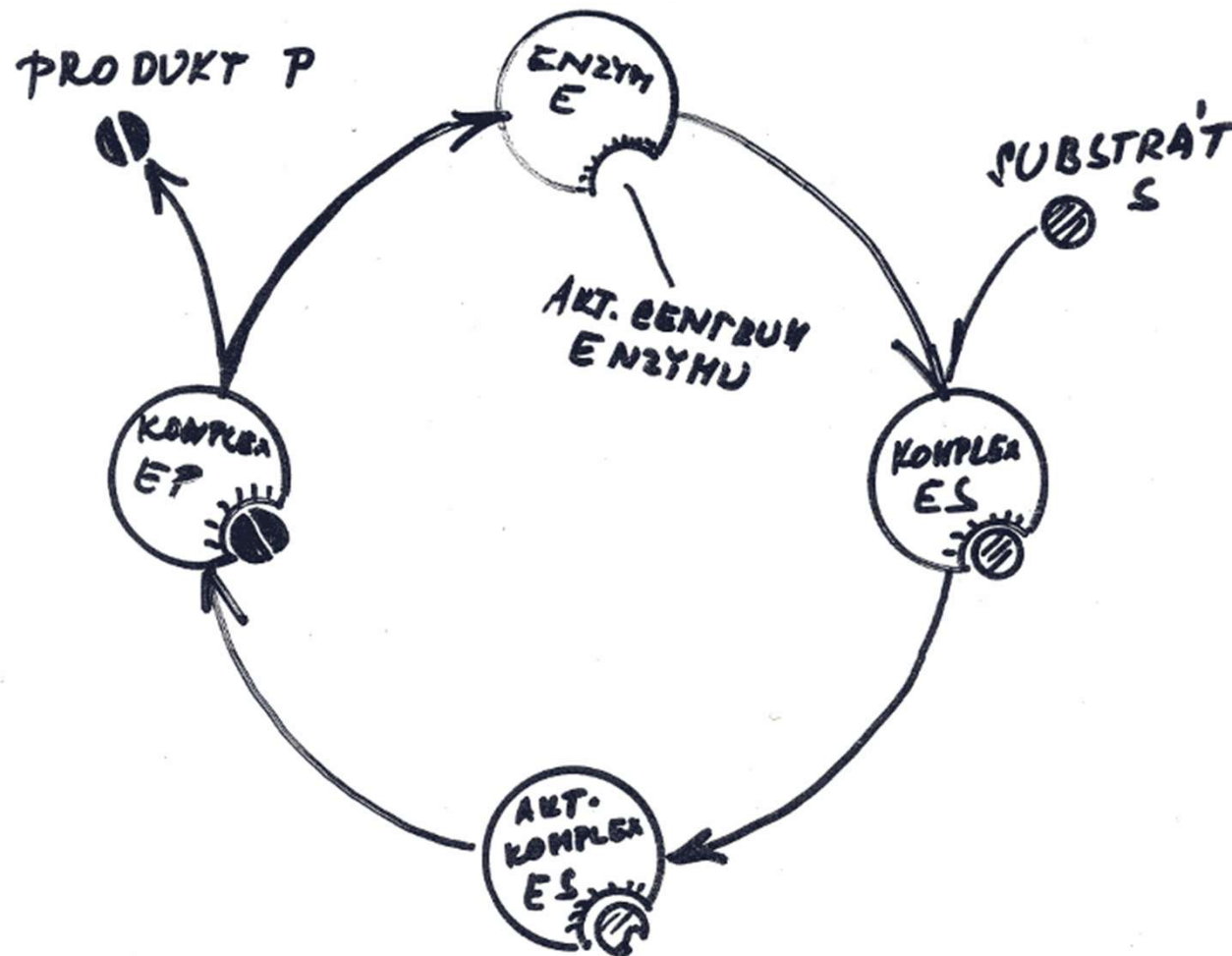
V bakteriální buňce 2000 enzymů

Specifita enzymů: **substrátová** – přeměna jen určitého substrátu
 účinku – jen jedna přeměna

Mechanismus působení

1. $E + S \leftrightarrow ES$ (komplex S+E)
2. Aktivace komplexu E-S $ES \leftrightarrow ES$ (aktivní)
3. Chemická přeměna substrátu (komplex E-produkt) $ES \leftrightarrow EP$
4. Oddělení enzymu od produktu $EP \leftrightarrow E + P$

Schema průběhu enzymatického účinku



Dělení enzymů podle účinku:

1. **Oxidoreduktázy** přenos elektronů
2. **Transferázy** přenos skupin (metylové, karboxylové ...)
3. **Hydrolázy** hydrolytické štěpení vazeb
4. **Lyázy** nehydrolytické štěpení
5. **Izomerázy** izomerace (přeměny)
6. **Ligázy (syntetázy)** – spojení dvou substrátů

Živné prostředí – asimilovatelné zdroje:

C, H, O, N, P, S; K, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu, Co, Zn

O, H - voda, org., anorg. látky

C - autotrofní – oxid uhličitý

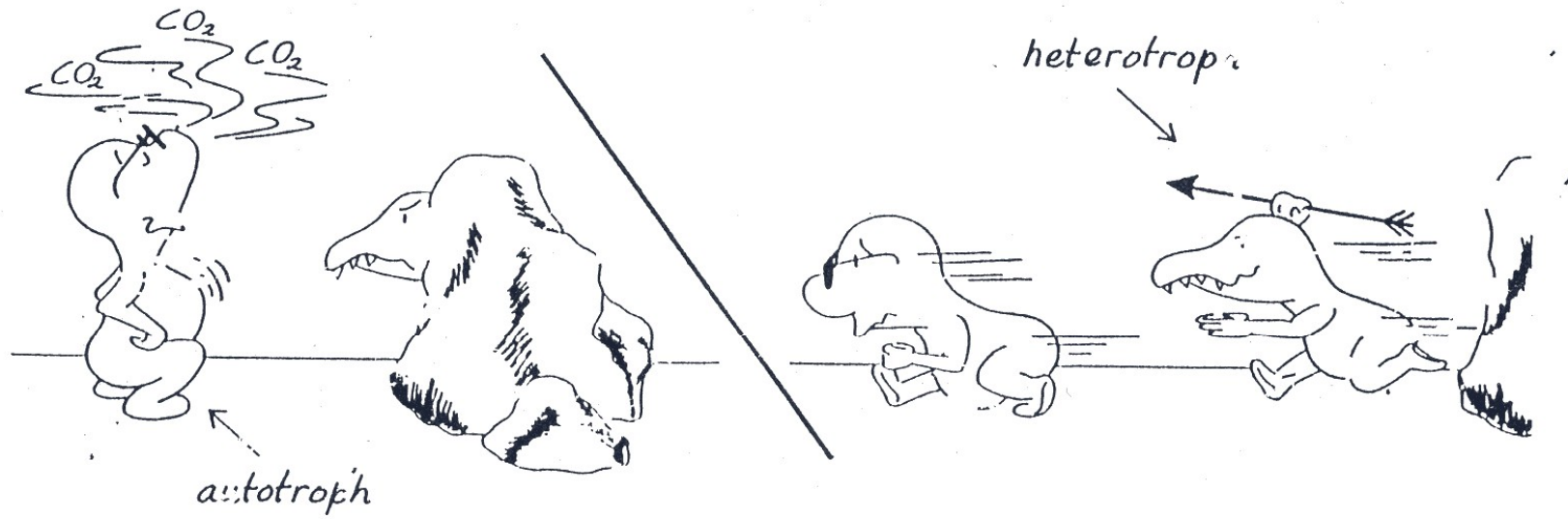
- heterotrofní – org. látky = zdroj energie ,

N - N_2 , NH_3 , NH_4^+ , NO_3^-

- močovina, aminokyseliny, peptony, bílkoviny,
heterotrofní – zdroj C + energie

S - minerální soli H_2SO_4

P - soli kyseliny fosforečné



How nice to be an autotroph...

sometimes.

Klasifikace organismů podle metabolismu

Podle zdroje energie:

FOTOTROFY X CHEMOTROFY

Podle zdroje stavebního materiálu:

AUTOTROFY X HETEROTROFY

Podle donorů elektronů:

LITHOTROFY X ORGANOTROFY

Podle konečných akceptorů elektronů:

AEROBY X ANAEROBY

Rozdělení organismů podle typu metabolismu				
Metabolický typ organismu	Zdroj energie	Zdroj uhlíku	Zdroj elektronů	Organismy
Fotolitotrofy autotrofní	světelné záření	CO ₂	anorg. sloučeniny (H ₂ O; H ₂ ; H ₂ S; S)	zelené rostliny na světle, sinice, zelené a purpurové sírné bakterie
Fotoorganotrofy heterotrofní	světelné záření	org. sloučeniny	anorg. sloučeniny (H ₂ ; H ₂ S; S); org. sloučeniny (sukcinát, mastné kyseliny)	nesírné purpurové bakterie, některé řasy
Chemolitotrofy autotrofní	oxidace anorg. látek	CO ₂	anorg. sloučeniny (H ₂ ; H ₂ S; S; Fe ²⁺ ; NH ₄ ⁺ ; NO ₃ ⁻)	bakterie vodíkové, železité, nitrifikační, methanogenní, bezbarvé sírné
Chemoorganotrofy heterotrofní	oxidace org. látek	org. sloučeniny	org. sloučeniny	živočichové, většina mikrobů, rostlinné buňky nefotosyntetizující a fotosyntetizující ve tmě

Rozdělení katabolismu chemotrofních organismů podle konečného akceptoru elektronů

Charakter katabolismu	Konečný akceptor elektronů	Účinnost uvolňování energie	Organismy
Aerobní respirace	O ₂	největší	živočichové, řada mikroorganismů, rostlinné buňky nefotosyntetizující a fotosyntetizující ve tmě
Anaerobní respirace	jiná oxidační činidla než O ₂ (NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , CO ₂ , fumarát)	menší	některé mikroorganismy
Fermentace (kvašení)	organ. meziprodukty metabolismu (pyruvát, acetaldehyd, butyrát,...)	nejmenší	některé mikroorganismy, většina heterotrofních buněk při nedostatku O ₂

Fototrofní bakterie

Tvorba ATP - cyklickou fosforylací
- necyklickou fosforylací

Cyklická fosforylace



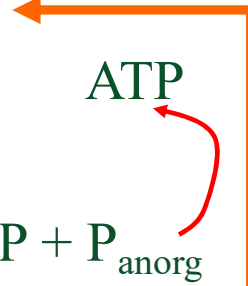
světelná energie

bakteriochlorofyl[⊕]



e^-

ferredoxin



cytochrom C

ATP

ADP + P_{anorg}

fotosyntetický systém
na přenos elektronů

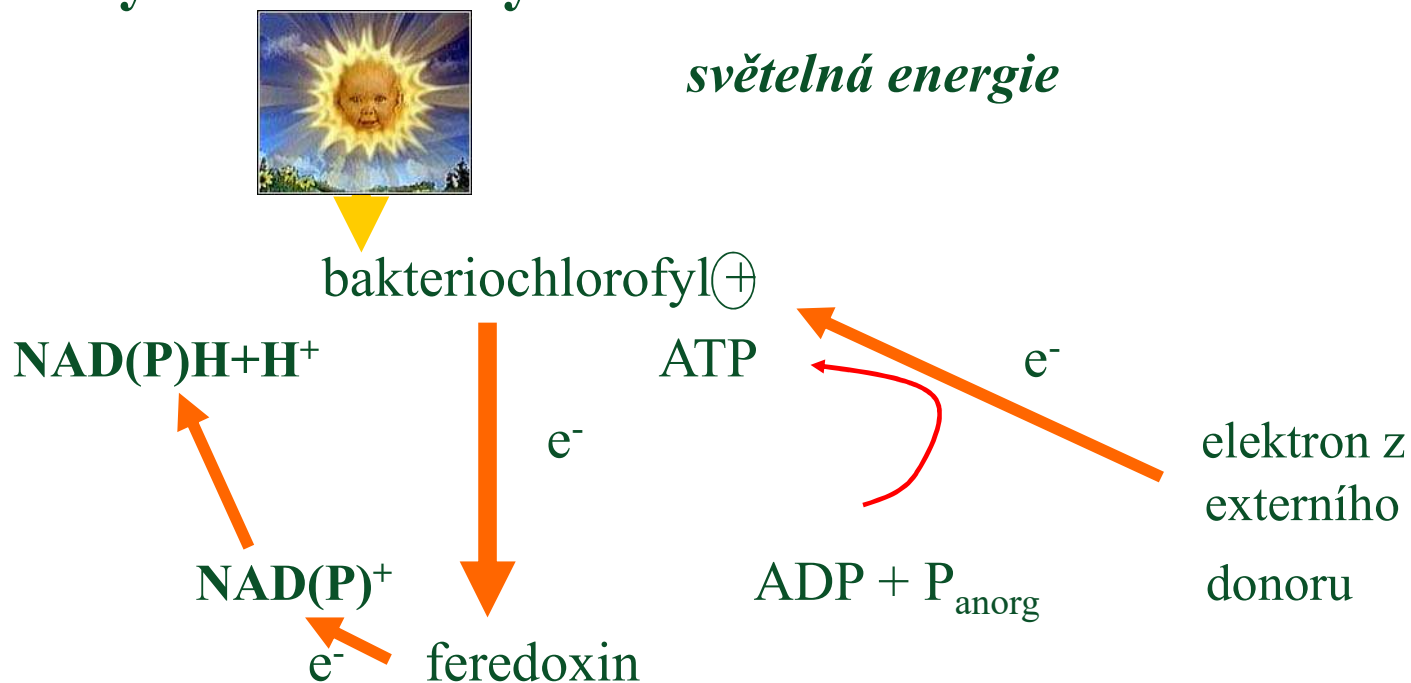
e^-

Sumární rovnice:



Fototrofní bakterie

Necyklická fosforylace



Sumární rovnice:



Zdroj elektronů: fotolitotrofní mikroorganismy – anorganický substrát (H_2S , H_2)
fotoorganotrofní mikroorganismy – organický s. (kys. octová, jant.)

NAD^+ elektronový nosič – nikotinamid adenin dinukleotid NADP^+ - nikotinamid adenin dinukleotid fosfát

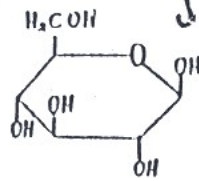
Phototrophy must be the life!

heterotroph

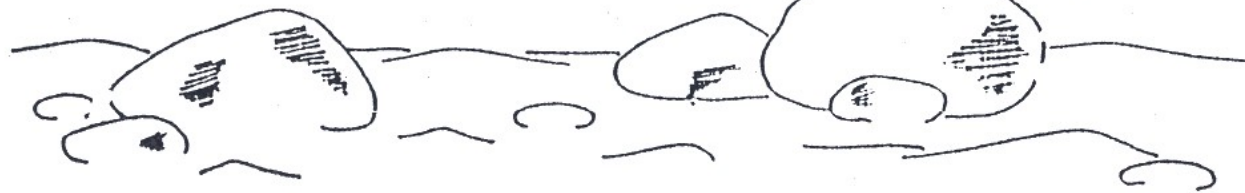
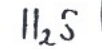


heterotroph

phototroph.



heterotroph



Fototrofní bakterie (G⁻ anaerobní, převážně vodní)

Purpurové sirné bakterie

Bakteriochlorofyl **a** nebo **b** a karotenoidy (v chromatoforech)

fotolitotrofní (zdroj C – CO₂, zdroj elektronů – H₂S, S)

fotoorganotrofní (zdroj C – jednoduché org. látky)

oxidací H₂S vzniká S – ukládá se uvnitř, či vně buněk

rody: *Chromatium*, *Thiosarcina*, *Thispirillum*

Purpurové nesirné bakterie

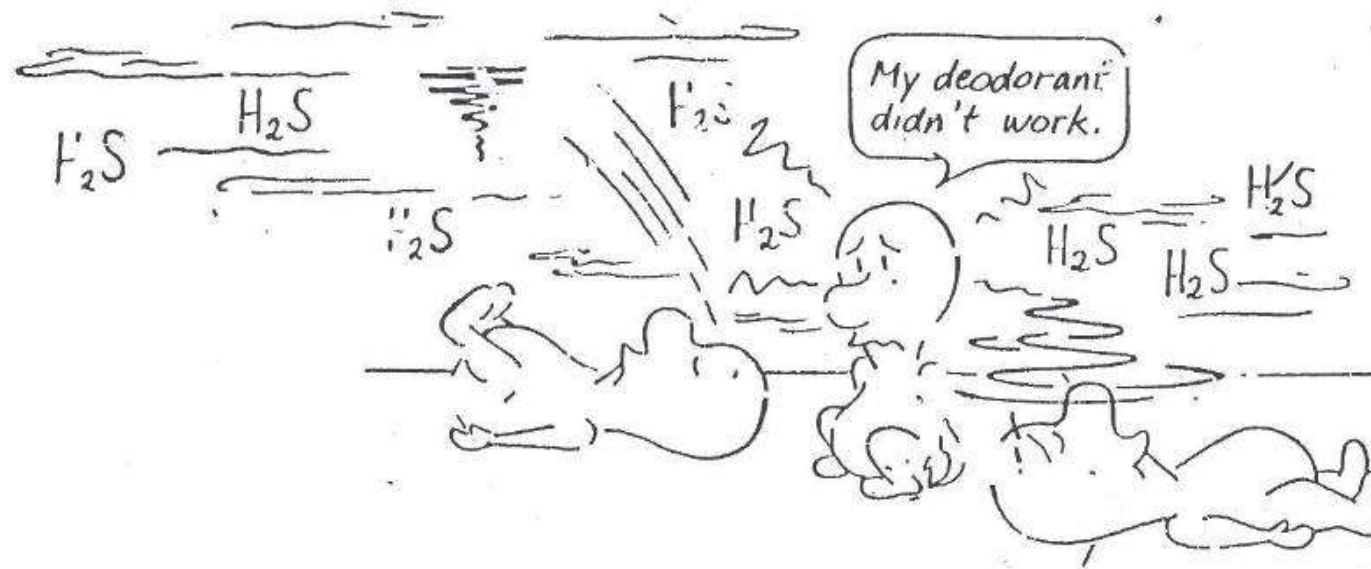
Bakteriochlorofyl **a** nebo **b** (v chromatoforech)

Nevyužívají síru jako donor el., nýbrž org. látky

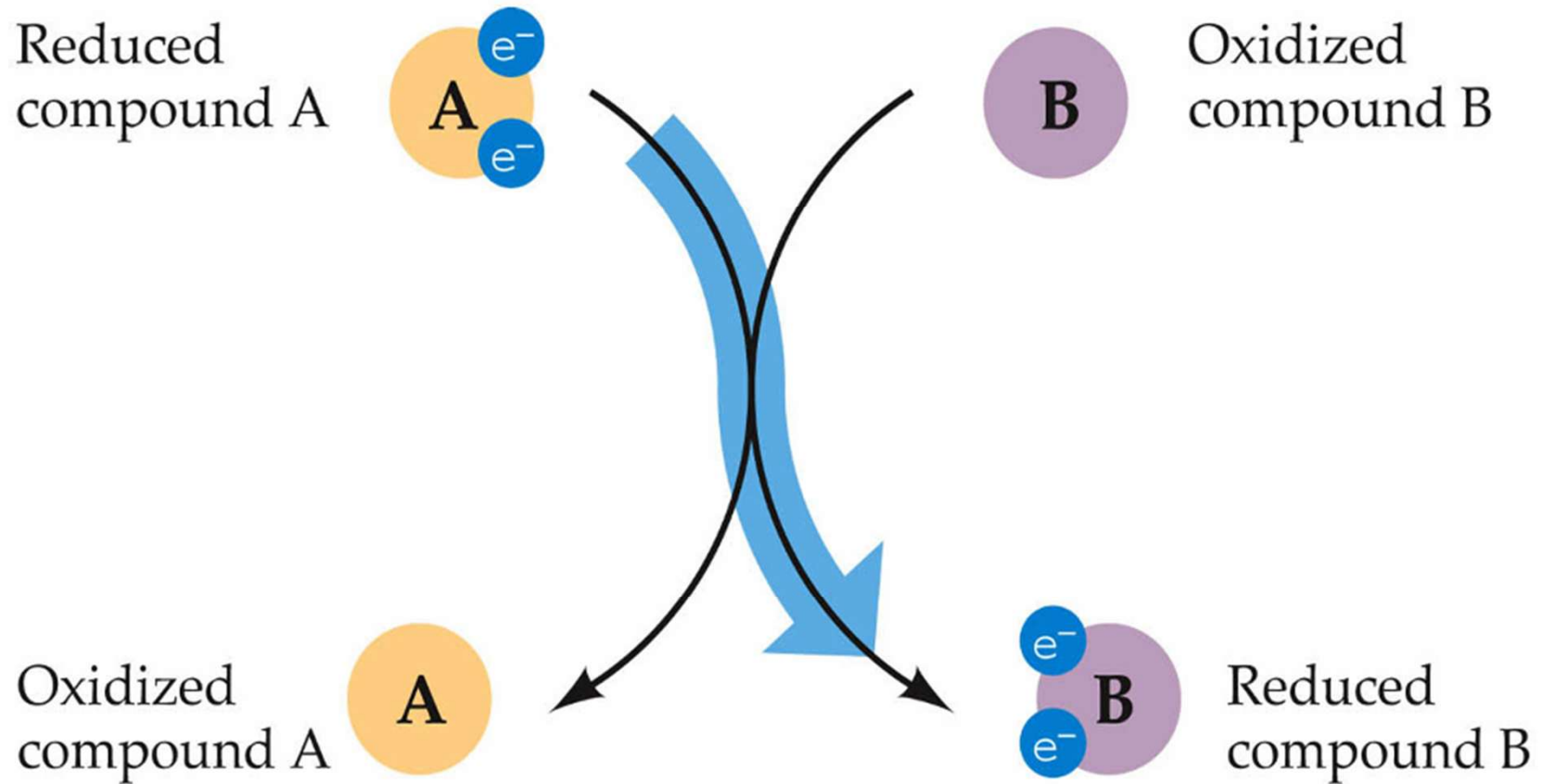
rody: *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas*

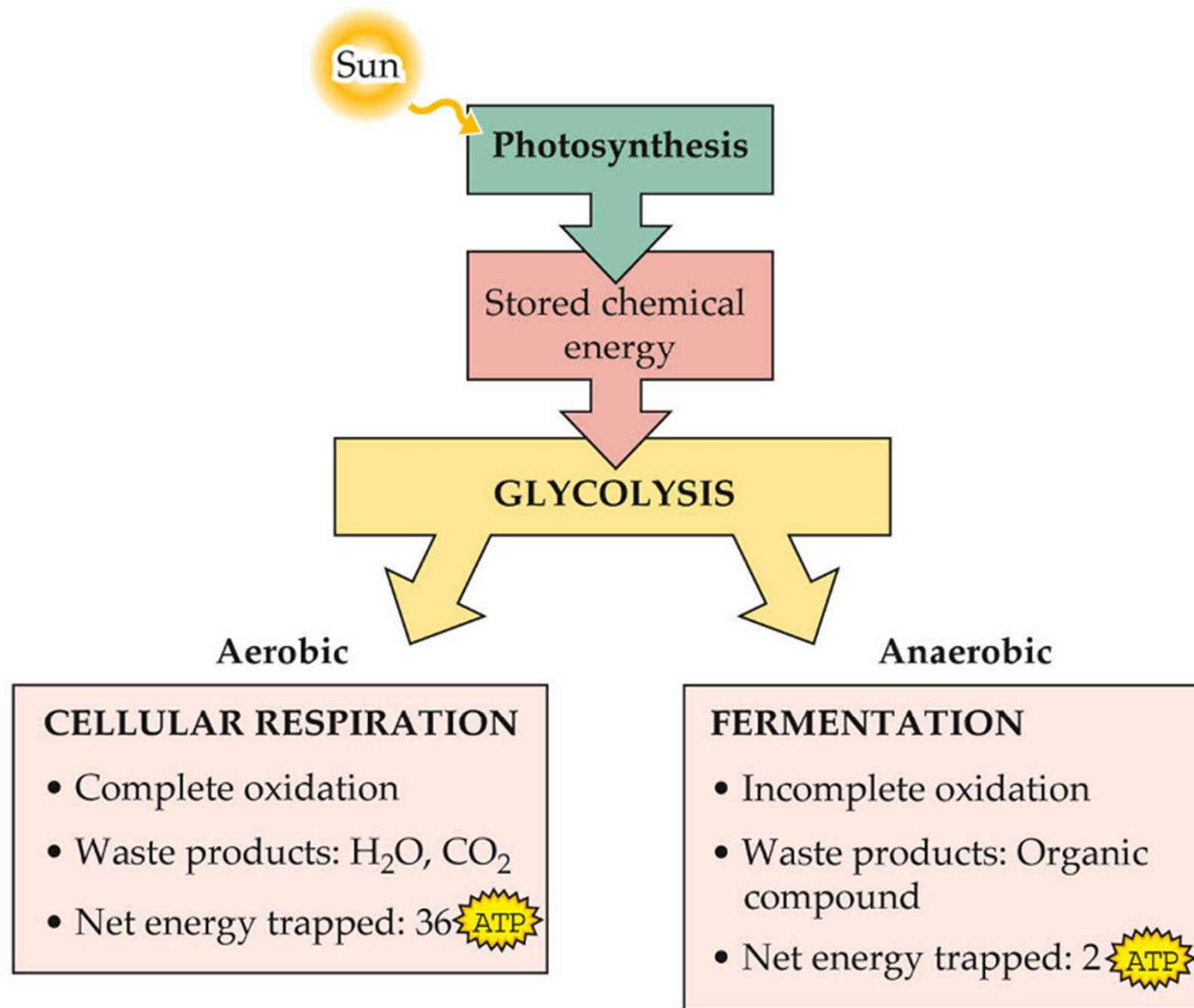
Zelené sirné bakterie

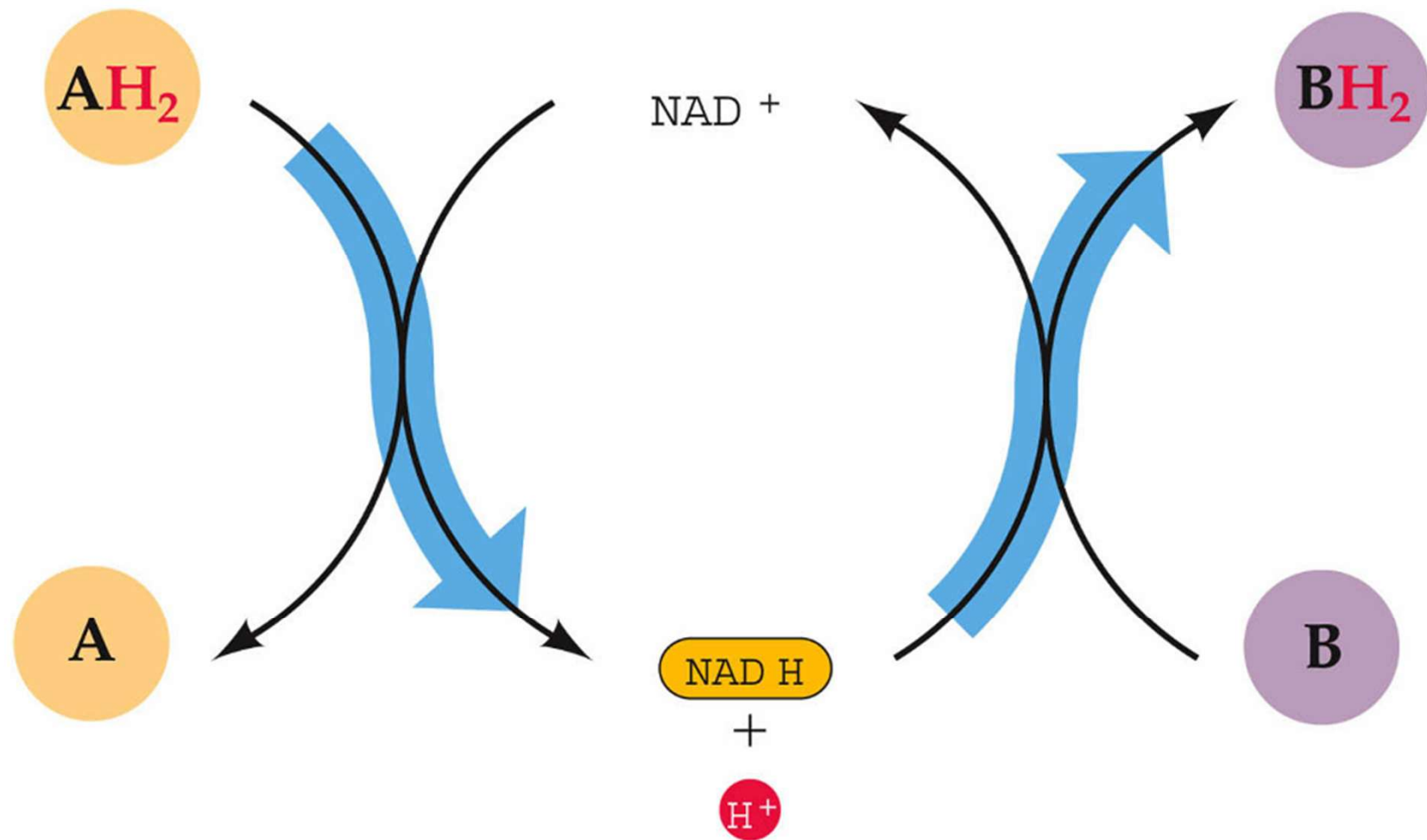
Bakteriochlorofyl **c** nebo **d** v chlorobiových váčcích,
mixotrofní - za přítomnosti H₂S ukládají síru vně buňky, obligátně
anaerobní (rody: *Chlorobium*, *Chloropseudomonas*, *Pelodictyon*)



Jakým způsobem získávají buňky energii z molekul?







Přeměny sacharidů (metabolické dráhy)

Počáteční úsek až po vytvoření pyruvátu je společný pro všechny živé organismy – **glykolýza** (podle objevitelů Embden, Mayerhof, Parnas – EMP dráha)

U mikroorganismů se vyskytují ještě dvě dráhy

Pentoso-fosfátová dráha (Warburg – Dickens – **Horrecker**) přímá oxidace glukózy a vznik pentóz, důležitých pro tvorbu NA a NADPH₂ (výsledkem dráhy je 5/6 původního množství glukózy)

Entner–Doudorfova dráha produkuje dvě molekuly NADPH₂ a jednu ATP z každé molekuly glukózy, výsledným produktem je glyceraldehyd-3-P a také pyruvát. Některé G⁻ bakterie *Rhizobium*, *Pseudomonas* (některé taxonomické metody využívají tuto dráhu) a *Agrobacterium*

Aktivace a přenos vodíku

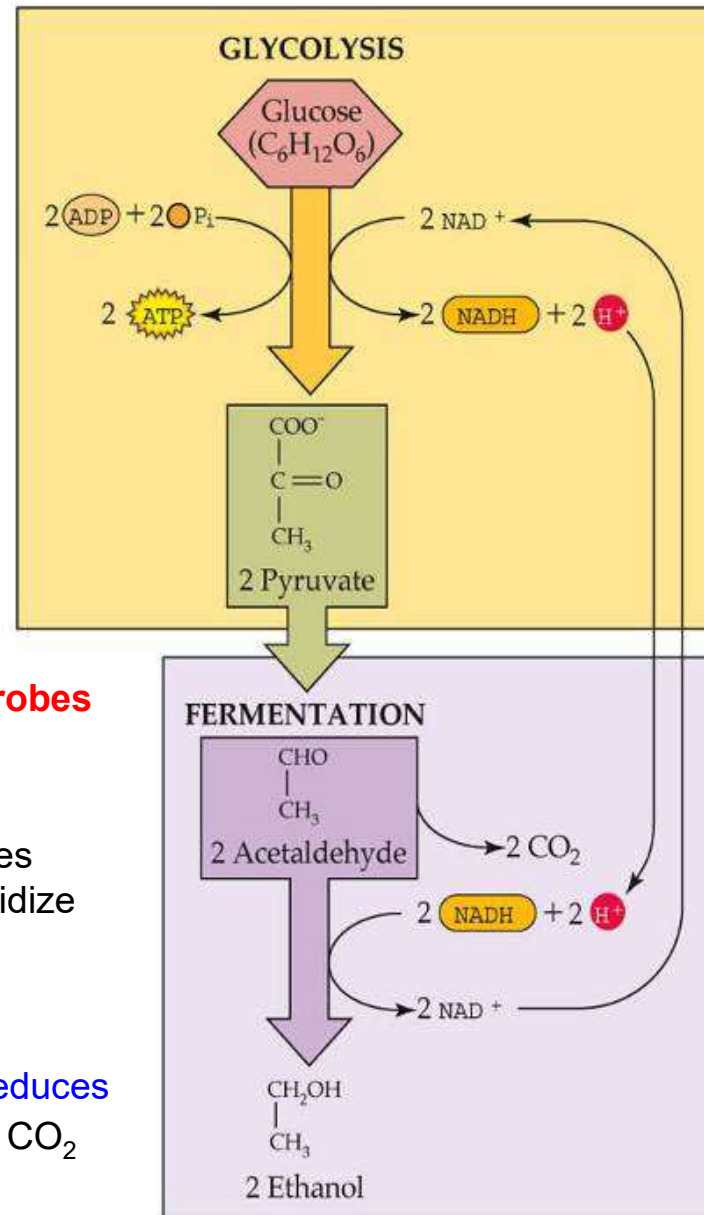
nikotinamidadenindinukleotid (NAD⁺)

součást enzymů

aktivuje vodíky a přenáší je

nikotinamidadenindinukleotidfosfát (NADP⁺)

transportuje aktivovaný (energeticky využitelný)
vodík z katabolických do anabolických drah ⇒
redukční činidlo a zdroj vodíku



Fermentation: How anaerobes get their NAD^+ back

Without the ETC (Electron Transport Chain), anaerobes must have some way to oxidize their NADH back to NAD^+ . (Why?)

It's pretty simple: **NADH reduces pyruvate** → either $\text{EtOH} + \text{CO}_2$ or lactate

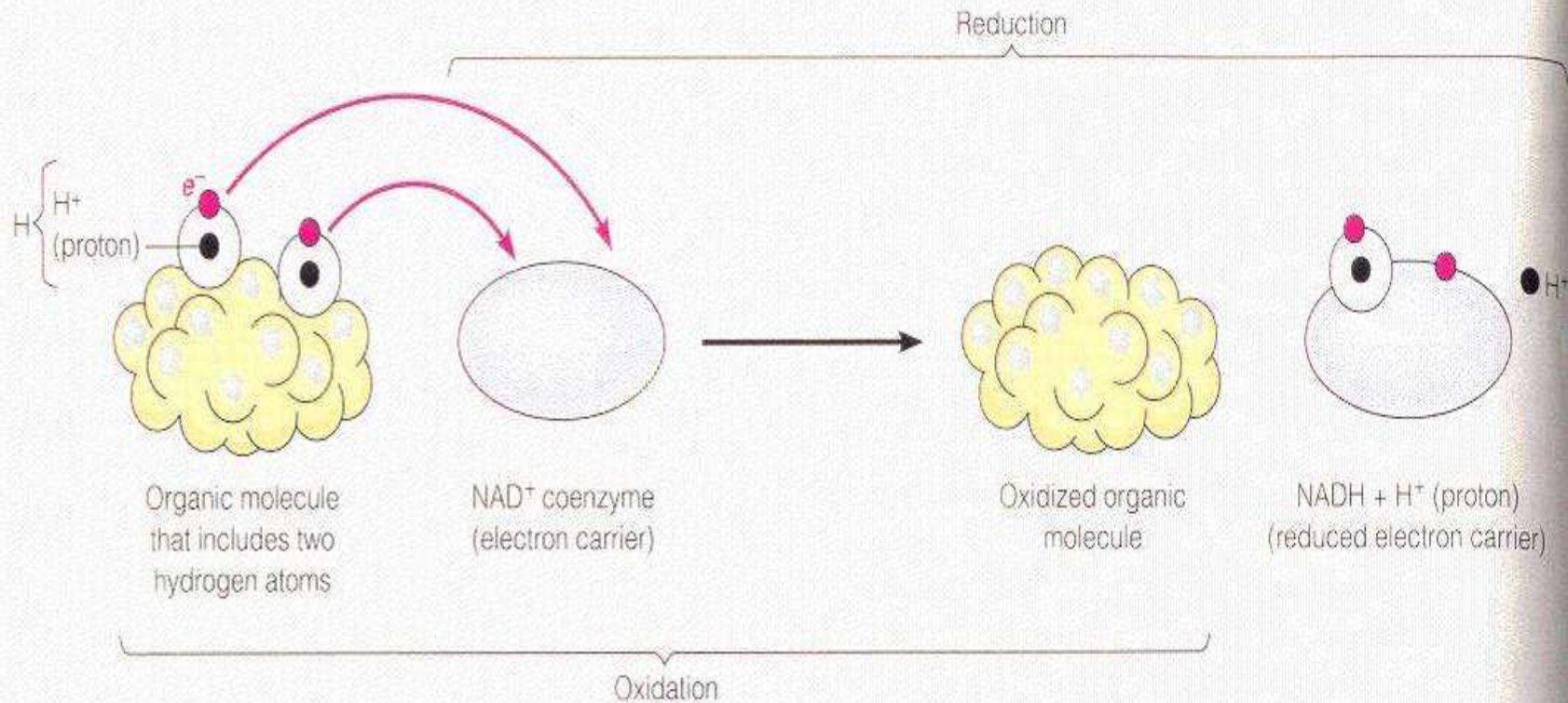


FIGURE 5.9 Representative biological oxidation. Two electrons and two protons (altogether equivalent to two hydrogen atoms) are transferred from an organic substrate molecule to a coenzyme, NAD^+ . NAD^+ actually receives one hydrogen atom and one electron, and one proton is released into the medium. NAD^+ is reduced to NADH , which is a more energy-rich molecule.

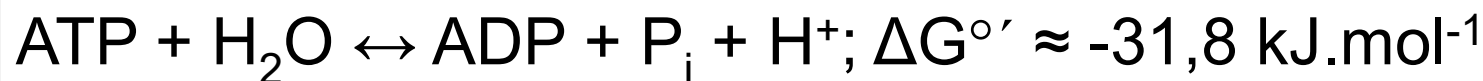
- Organisms use oxidation-reduction reactions in catabolism to extract energy from nutrient molecules, such as glucose.

Přenašeče chemické energie

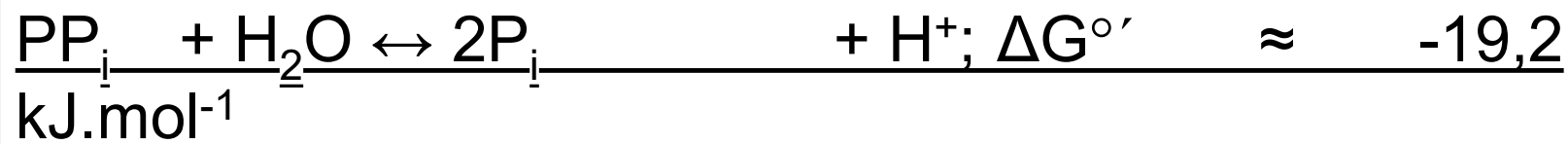
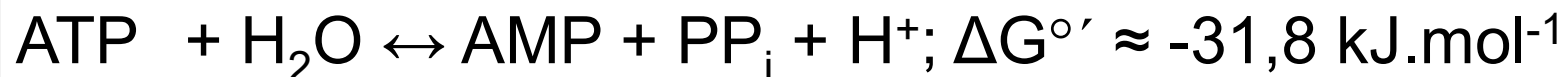
též makroergické sloučeniny

energie uvolněná při rozpadu = energie původní molekuly – energie produktů

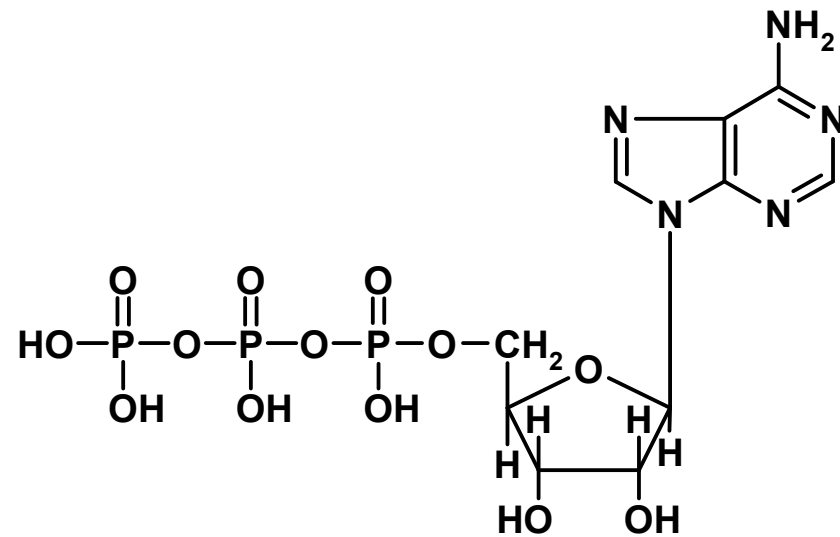
nejrozšířenější adenosintrifosfát (ATP):



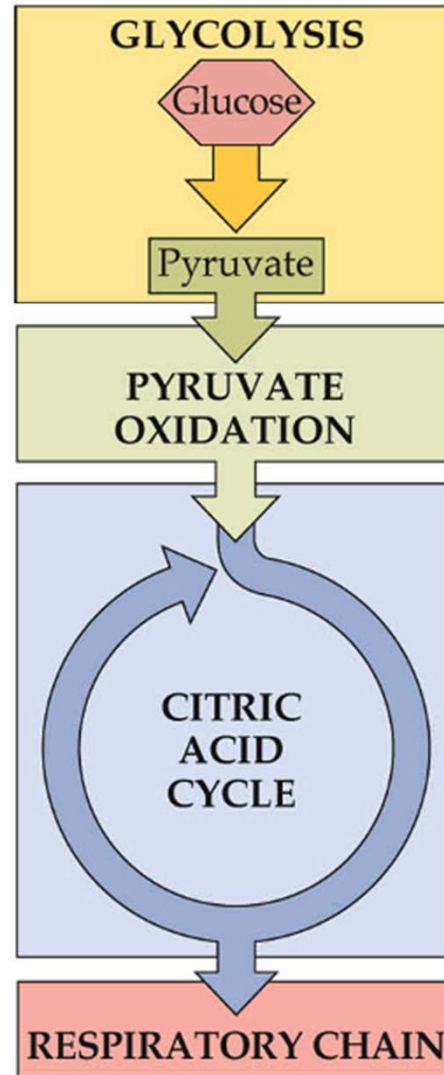
nebo



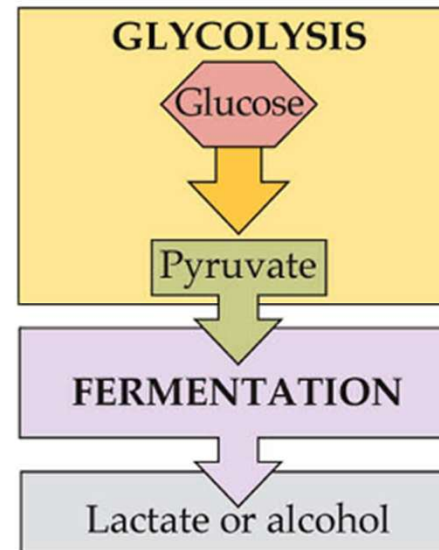
ATP



(a) Glycolysis and cellular respiration



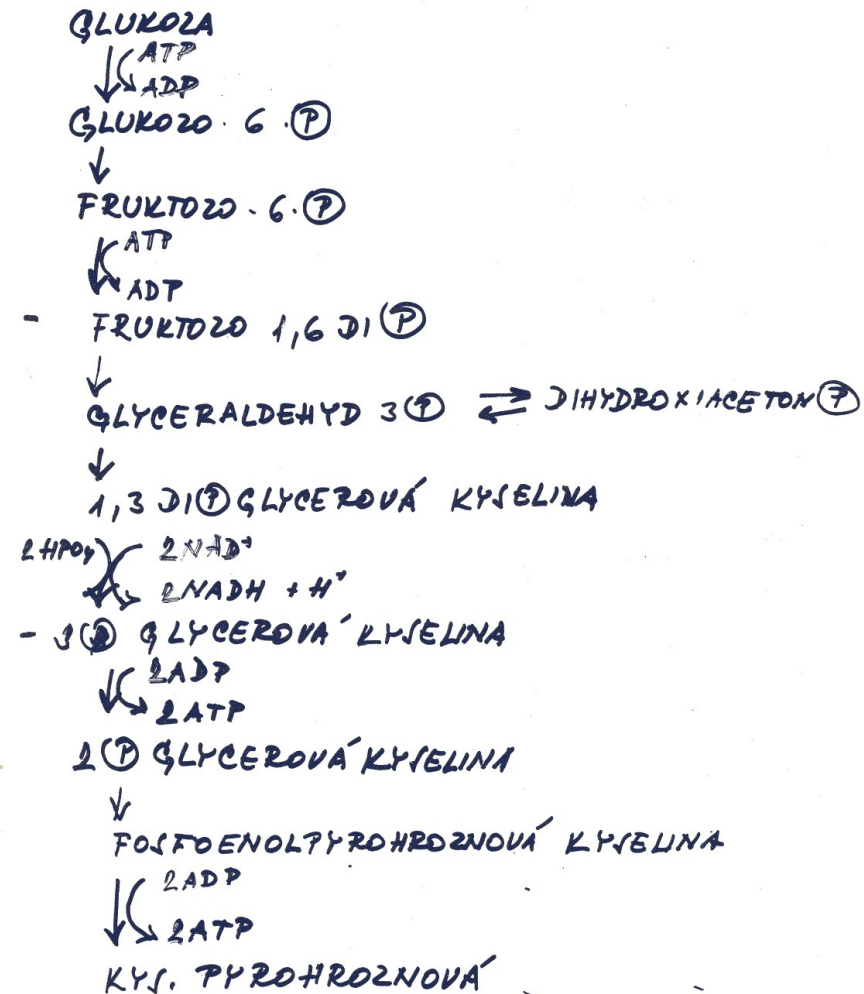
(b) Glycolysis and fermentation



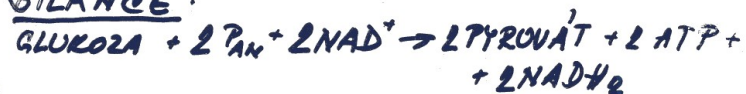
Depending on whether or not oxygen is present, there are two metabolic pathways (sets of reactions) that cells use:

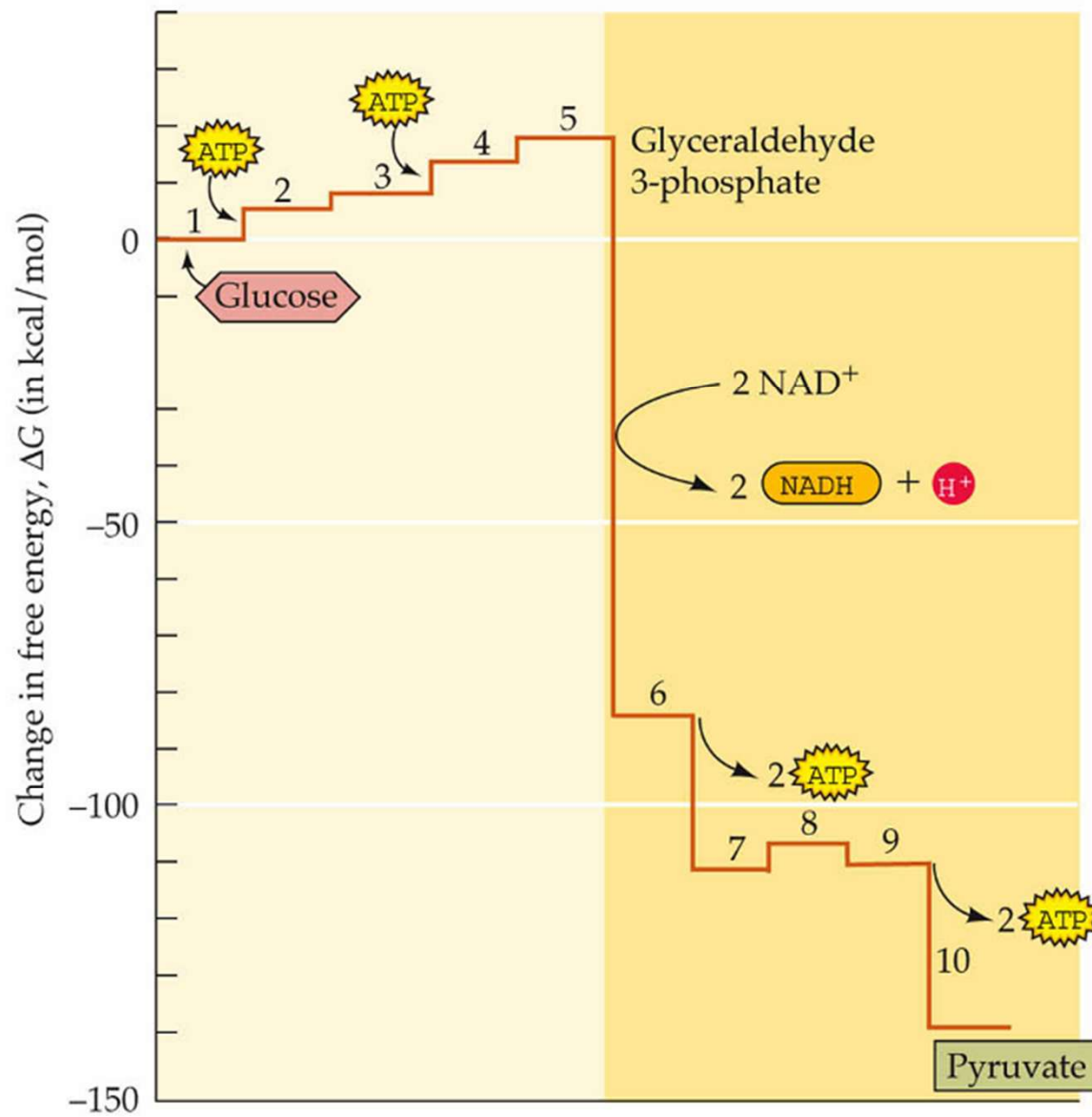
- O_2 present: glycolysis + citric acid cycle + ETC
- O_2 absent: glycolysis + fermentation

EMBDEN, MAYERHOFF, PARNAS - EMP DRÁHA



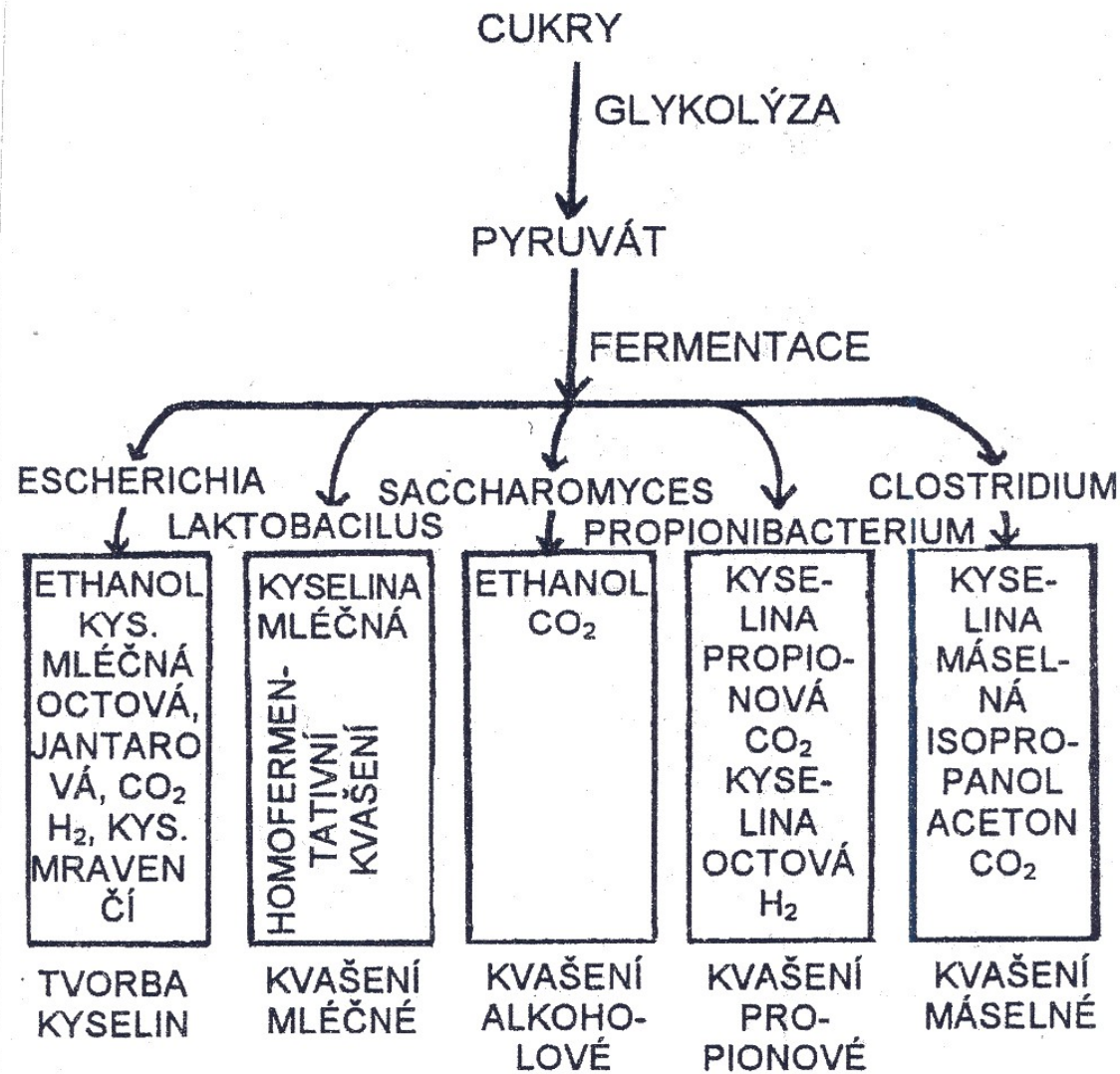
BILANCE:





Everything begins with glycolysis, a set of 10 enzyme-catalyzed reactions.

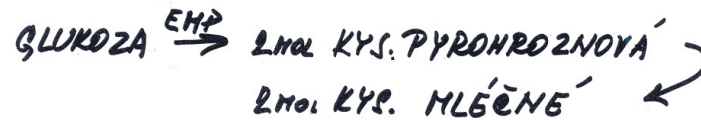
For each glucose:
2 Pyruvate
2 $\text{NADH} + 2 \text{H}^+$
2 ATP are produced.



Konečné produkty některých druhů kvašení

HLÉČNÉ KVAŠENÍ

HOMOFERMENTATIVNÍ - KYS. HLÉČNÁ



HETEROFERMENTATIVNÍ - KYS. HLÉČNÁ,
OCTOVÁ, KRAVENÍ, ETANOL, H_2 , CO_2

ODVOZENO O PENTOZO FOSFÁTOVÉ DRÁHY
PROBÍHÁ PO FOSFOKETOLÁZOVÉ DRÁZE

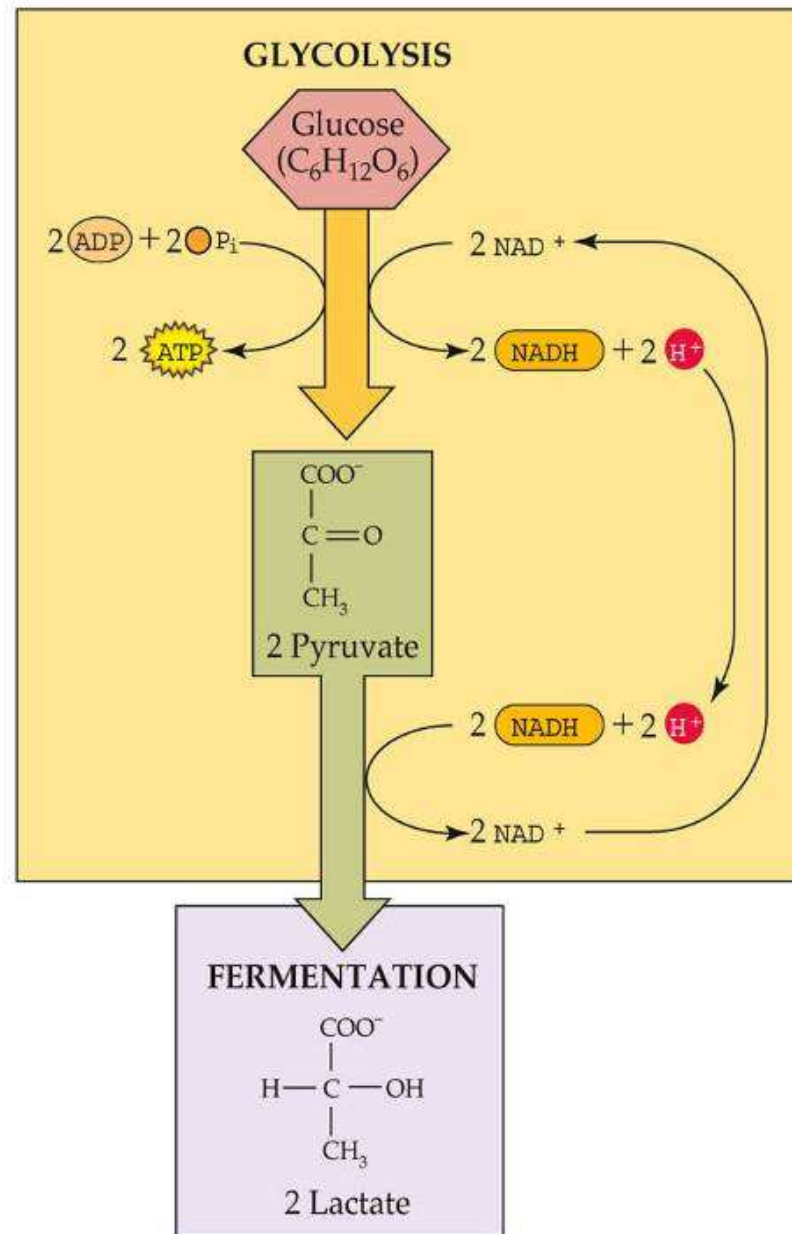
HOMOFERMENTATIVNÍ:

LACTOBACILLUS	BULGARICUS
"	LACTIS
"	ACIDOPHILUS
"	HELVETICUS
"	PLANTARUM
"	CASEI
"	DELBRÜECKII
LACTOCOCCUS	LACTIS

HETEROFERMENTATIVNÍ:

LACTOBACILLUS	FERMENTUM
	BREVIS
	BUCHNERI
	VIRIDESCENS

G⁺, NESPORULUJÍCÍ, ANAEROBNÍ NEBO
FAKULTATIVNĚ ANAEROBNÍ, NÁRODNĚ NA RŮST.
LATKY



PROPIONOVÉ KVAŠENÍ

NAVAZUJE NA EMP DRAHU

NA PROPIONIBACTERIUM G^+ , TYČINKY N. VLÁKNA
CLOSTRIDIUM PROPIONICUM

VÝROBA KYS. PROPIONOVÉ - SILNĚ PROTIDĚLA
A ZRÁNÍ SÝRŮ ÚČINNÝ

MAŠELNÉ KVAŠENÍ

NAVAZUJE NA EMP DRAHU

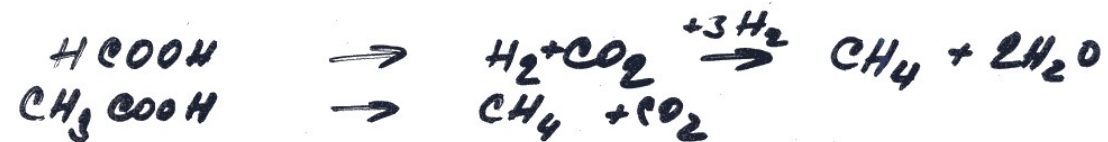
TVOŘÍ SE : KYS. MAŠELNÁ, OCTOVÁ,
HLEČNÁ, ALKOHOLY,
ACETON, PLYNY - H_2 , CO_2

NA CLOSTRIDIUM (CL. PASTEURIANUM
FIXACE N_2)

BACTEROIDES
FUSOBACTERIUM
BUTYRIVIBRIO

VÝROBA KYS. MAŠELNÉ
ORGANICKÝCH ROZPOUŠTĚDEL
(BUTANOL, ACETON..)

METANOVÉ KVAŠENÍ



rod METANOBACTERIUM
METANOSARCIINA
METANOCOCCUS

ČISTÍRNÝ ODT. VOD $\rightarrow$ BIOPLYN
(65-70% CH_4 +
30-35% CO_2)

DÝCHÁNÍ x KVAŠENÍ

AKCEPTOR VODÍKU

O_2	ORGANICKÉ LÁTKY
vzdušný – aer.	
vázaný - anaer.	

ZISK ENERGIE

VYŠŠÍ	NIŽŠÍ
1 mol glukózy 38 mol ATP	1/20

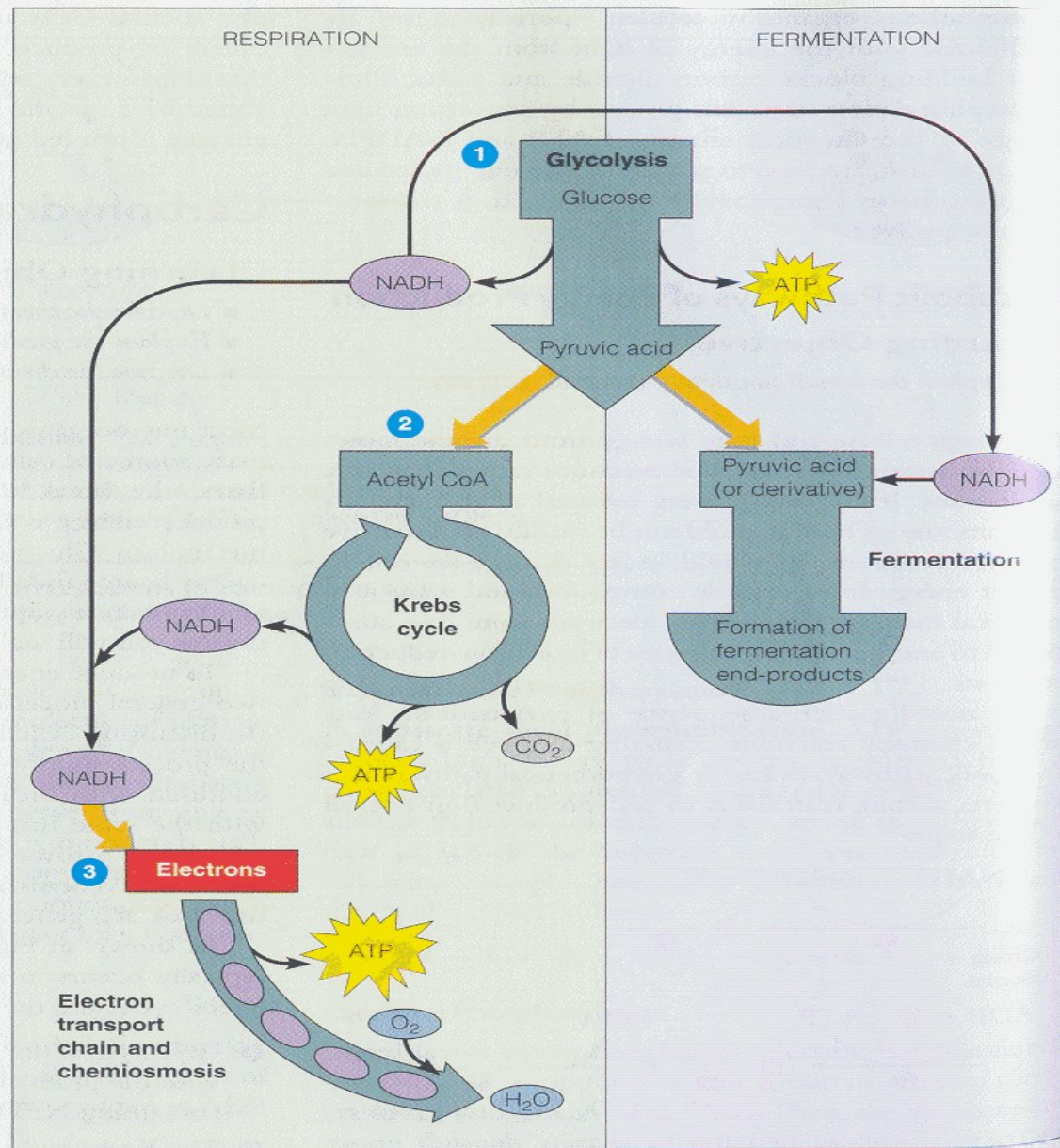
KONEČNÝ PRODUKT

$CO_2 + H_2O$	ORGANICKÉ KYS. + $CO_2 \dots$
---------------	----------------------------------

FIGURE 5.10 An overview of respiration and fermentation.

1 Glycolysis produces ATP and reduces NAD^+ to NADH while oxidizing glucose to pyruvic acid. In respiration, the pyruvic acid is converted into the first reactant in **2** the Krebs cycle, which produces ATP and reduces NAD^+ (and another electron carrier called FADH_2) while giving off CO_2 . The NADH from both processes carries electrons to **3** the electron transport chain, in which their energy is used to produce a great deal of ATP. In fermentation, the pyruvic acid and the electrons carried by NADH from glycolysis are incorporated into fermentation end-products. A small version of this figure will be included in figures throughout the chapter to indicate the relationships of different reactions to the overall processes.

■ What is the basic difference between respiration and fermentation?



AEROBNÍ RESPIRACE

PŘENOS ELEKTRONŮ V DÝCH ZETĚZI:

FLAVOPROTEINY - ENZYMY OBSAHUJÍCÍ
RIBOFLAVIN V MOLEKULE
(B2)

CYTOCHROMY - ENZYMY OBS.
chelaticky vázané
ŽELEZO

CHINONY - NEBÍLKOVINNÉ
PŘENÁŠEČE E,
MEZI FLAV. A CYTOM.

ÚPLNÁ OXIDACE ORG. SUBSTRÁTU
NA CO_2 A H_2O

KREBSŮV CYKLUS - CYKLUS KYS.
CITRONOVÉ

VÝZNAM: STAVEBNÍ JEDNOTKY
ZIK ENERGIE

Respirace

zdroj naprosté většiny energie

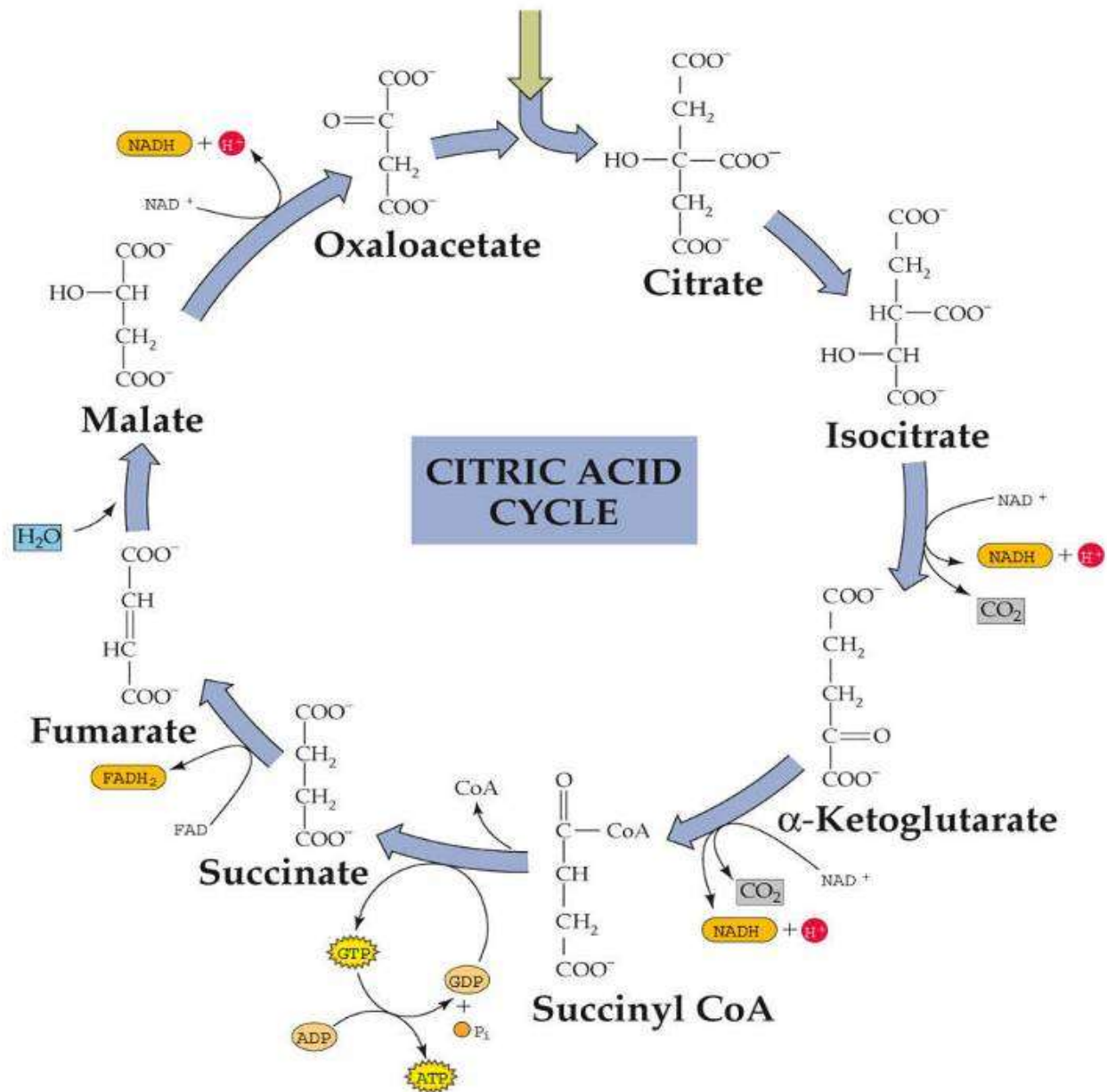
využití energie reakce kyslíku s vodíkem

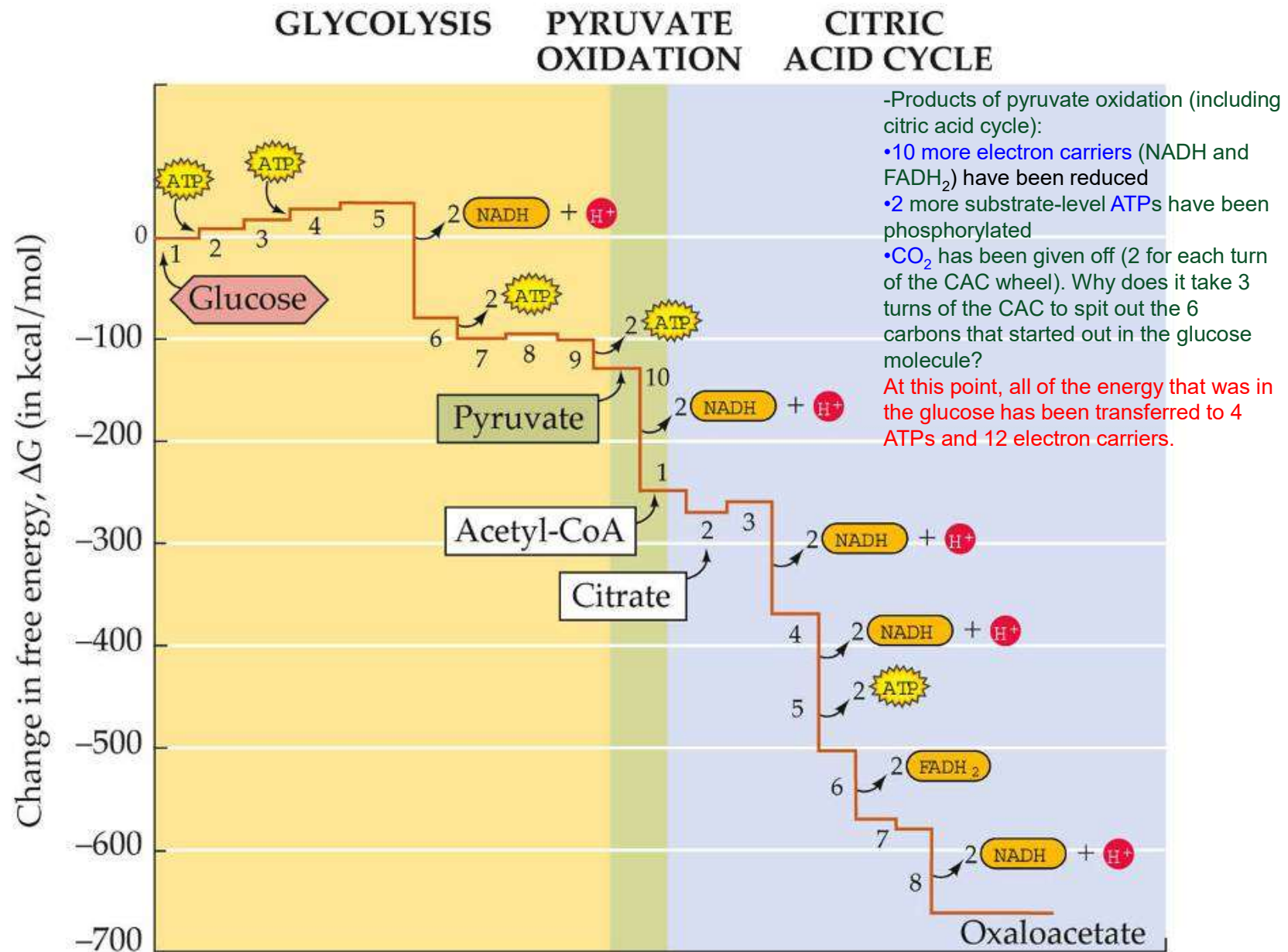
U eukaryot probíhá v mitochondriích

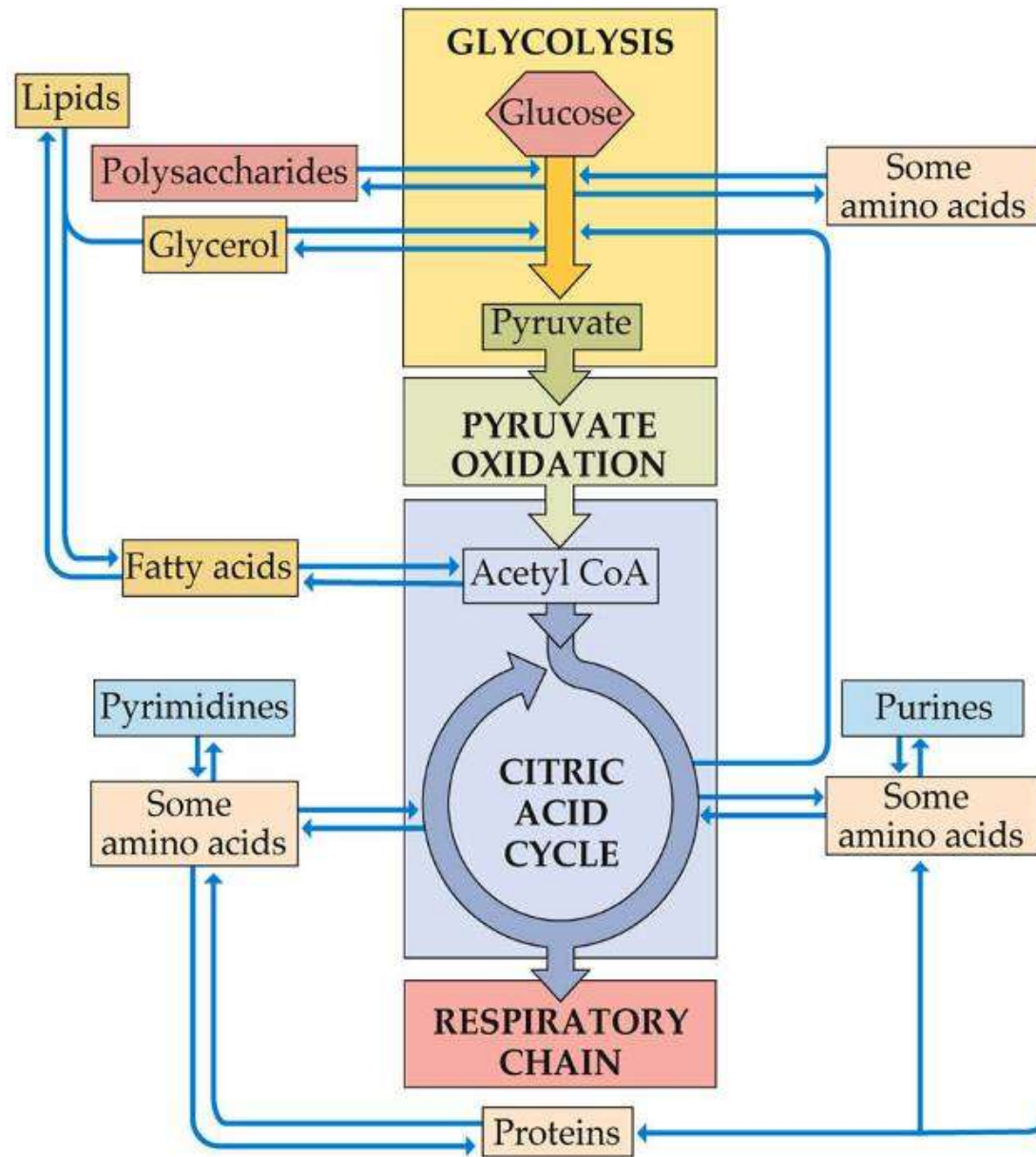
dva procesy:

respirační řetězec – elektrony z vodíků přeneseny
systémem oxidoreduktas na kyslík $\Rightarrow$ uvolní se energie

oxidační fosforylace – cca 45 % energie
převedeno do ATP, zbytek $\Rightarrow$ teplo







Biosyntéza sacharidů

tzv. **glukoneogeneze**

výchozí prvky C3 a C4 (pyruvát, laktát, glycerol, některé aminokyseliny)

částečně jako obrácená glykolýza; u 3 reakcí zvrát příliš energeticky náročný $\Rightarrow$ jiný mechanismus

spotřeba 12ATP na 1 glukosu ze 2 pyruvátů

(a) Aerobic respiration

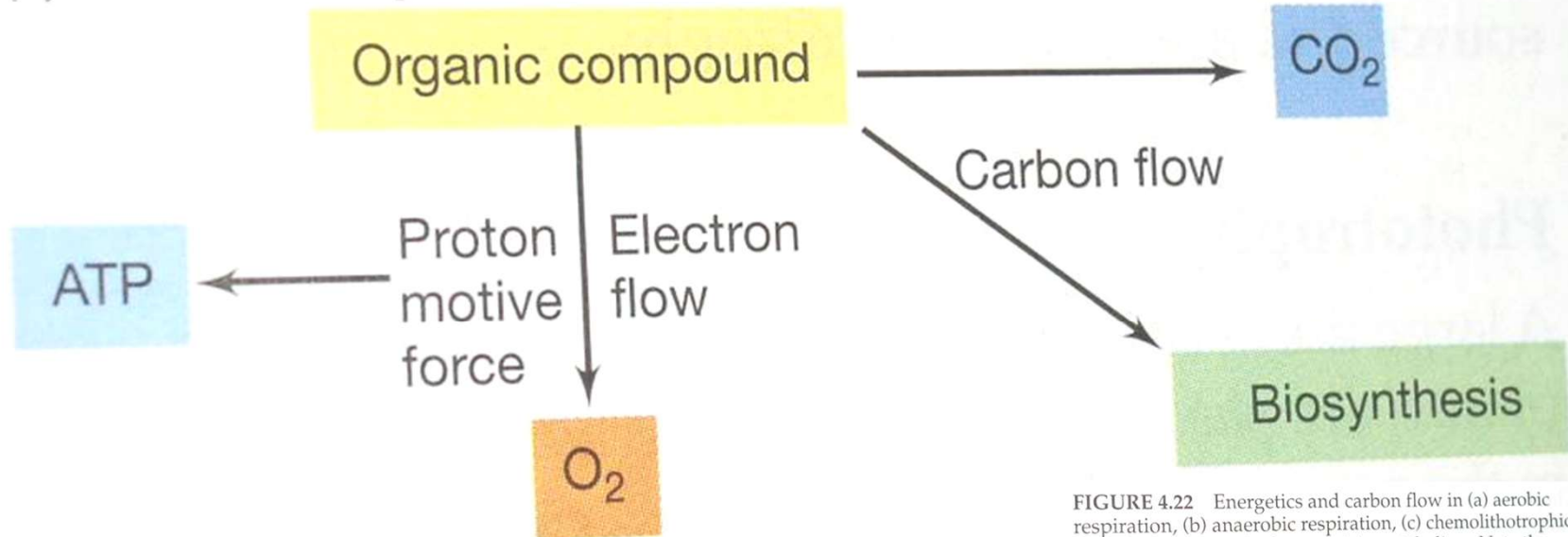
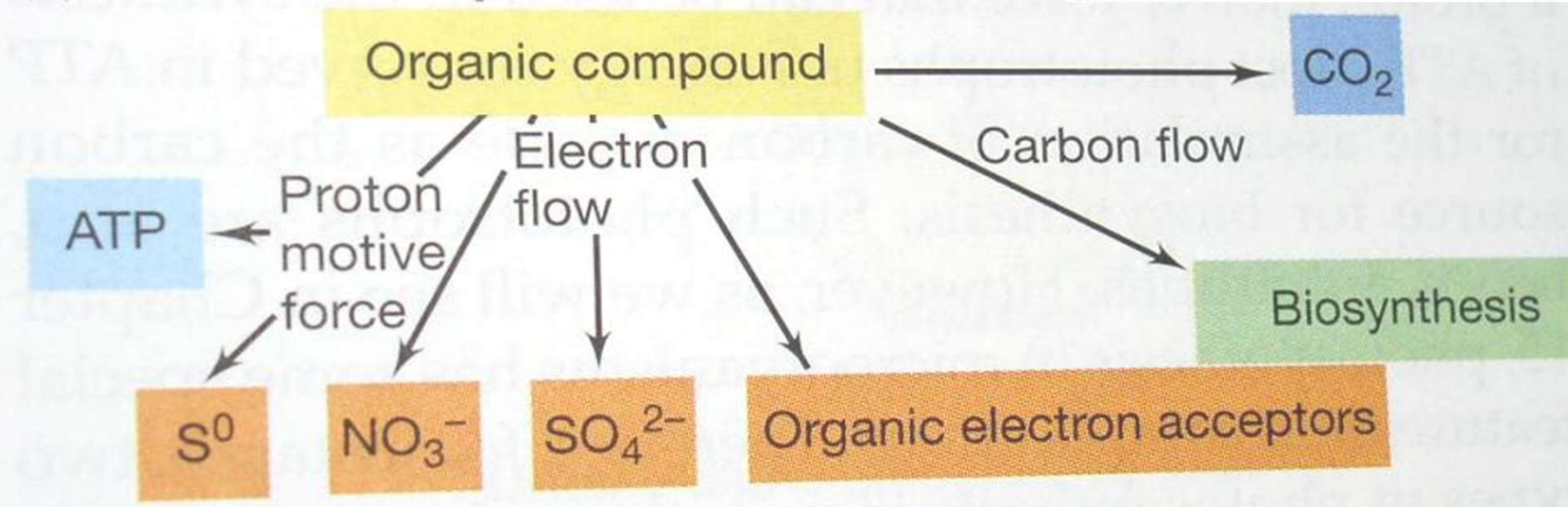


FIGURE 4.22 Energetics and carbon flow in (a) aerobic respiration, (b) anaerobic respiration, (c) chemolithotrophic metabolism, and (d) phototrophic metabolism. Note the importance of electron transport leading to proton motive force formation in each case.

(b) Anaerobic respiration



(c) Chemolithotrophic metabolism

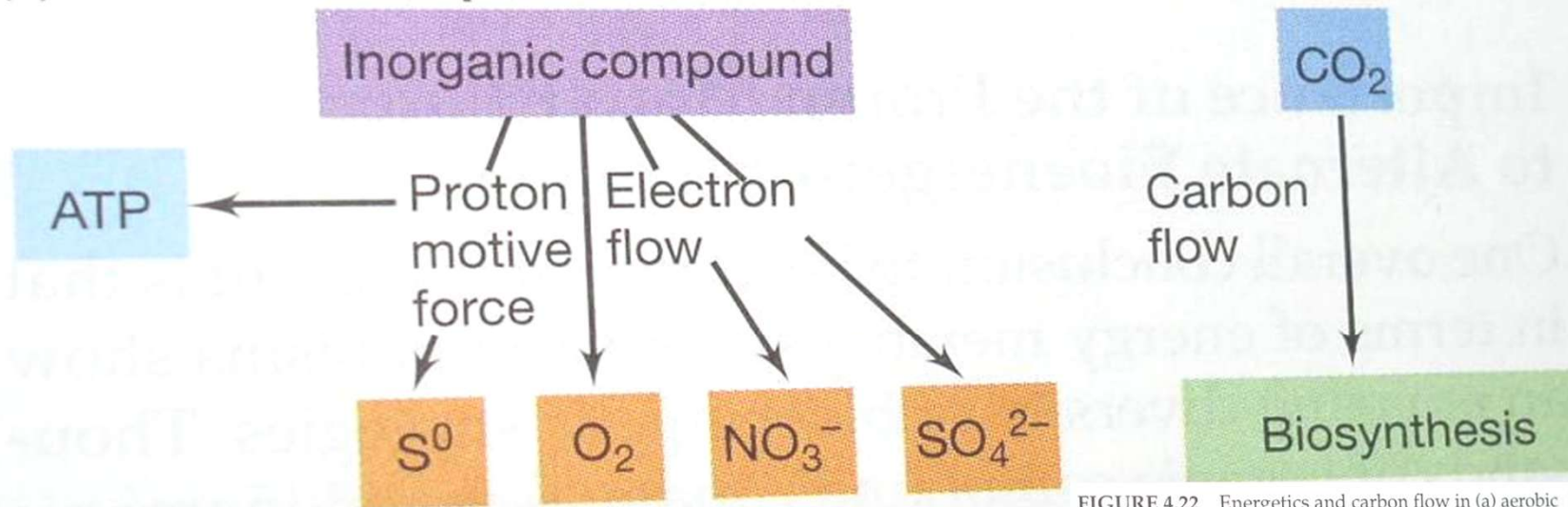
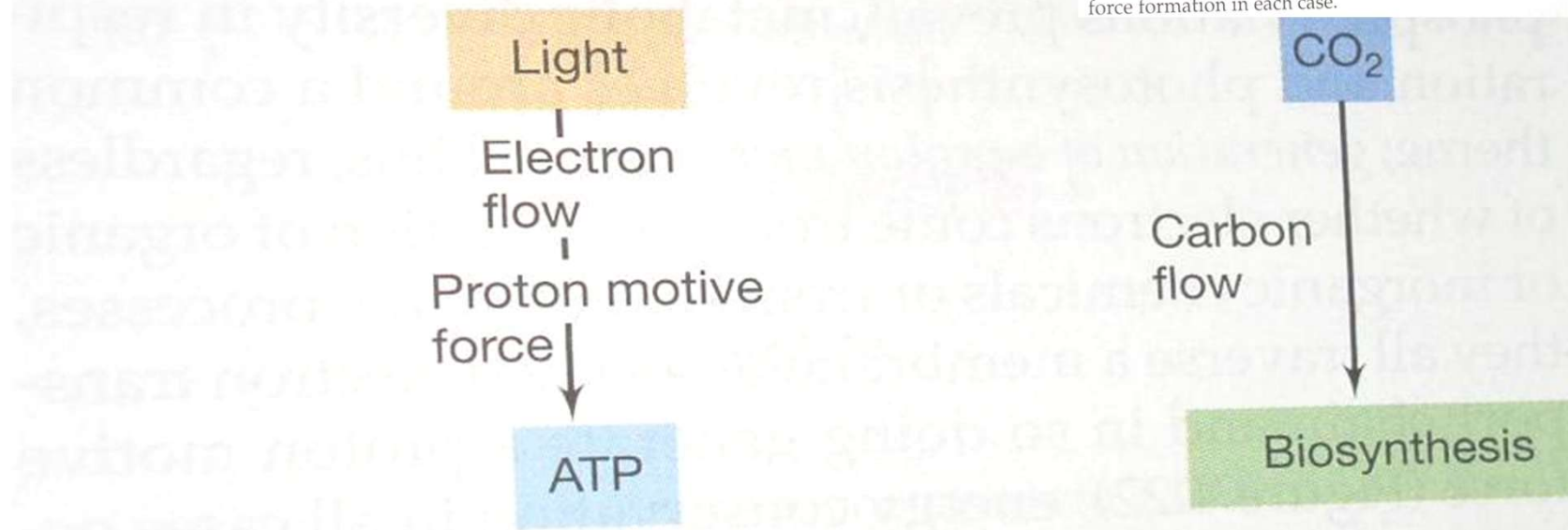
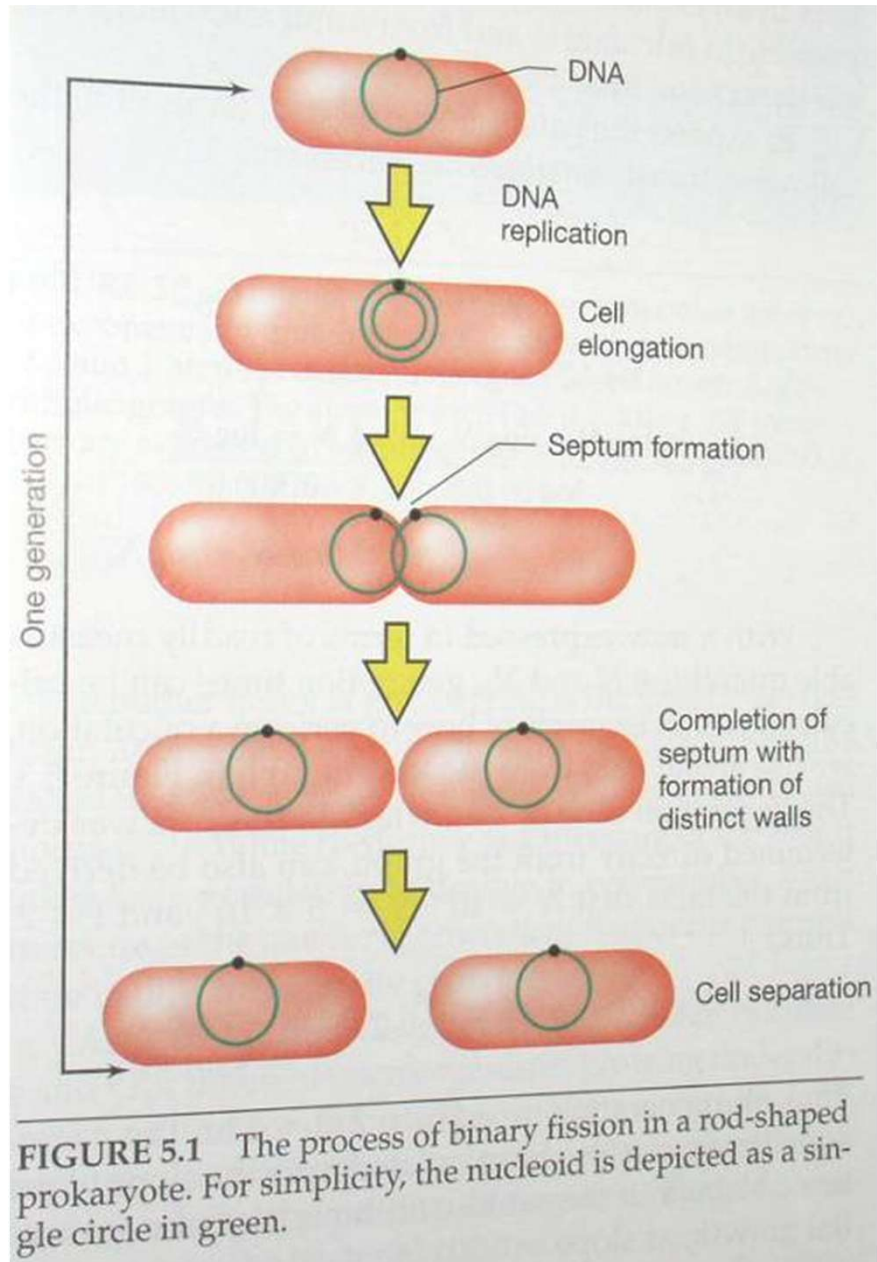


FIGURE 4.22 Energetics and carbon flow in (a) aerobic respiration, (b) anaerobic respiration, (c) chemolithotrophic metabolism, and (d) phototrophic metabolism. Note the importance of electron transport leading to proton motive force formation in each case.

(d) Phototrophic metabolism



Růst a množení bakterií



	Time (hr)	Total number of cells
	0	1
	0.5	2
	1	4
	1.5	8
	2	16
	2.5	32
	3	64
	3.5	128
	4	256
	4.5	512
	5	1,024
	5.5	2,048
	6	4,096
	.	.
	.	.
(a)	10	1,048,576

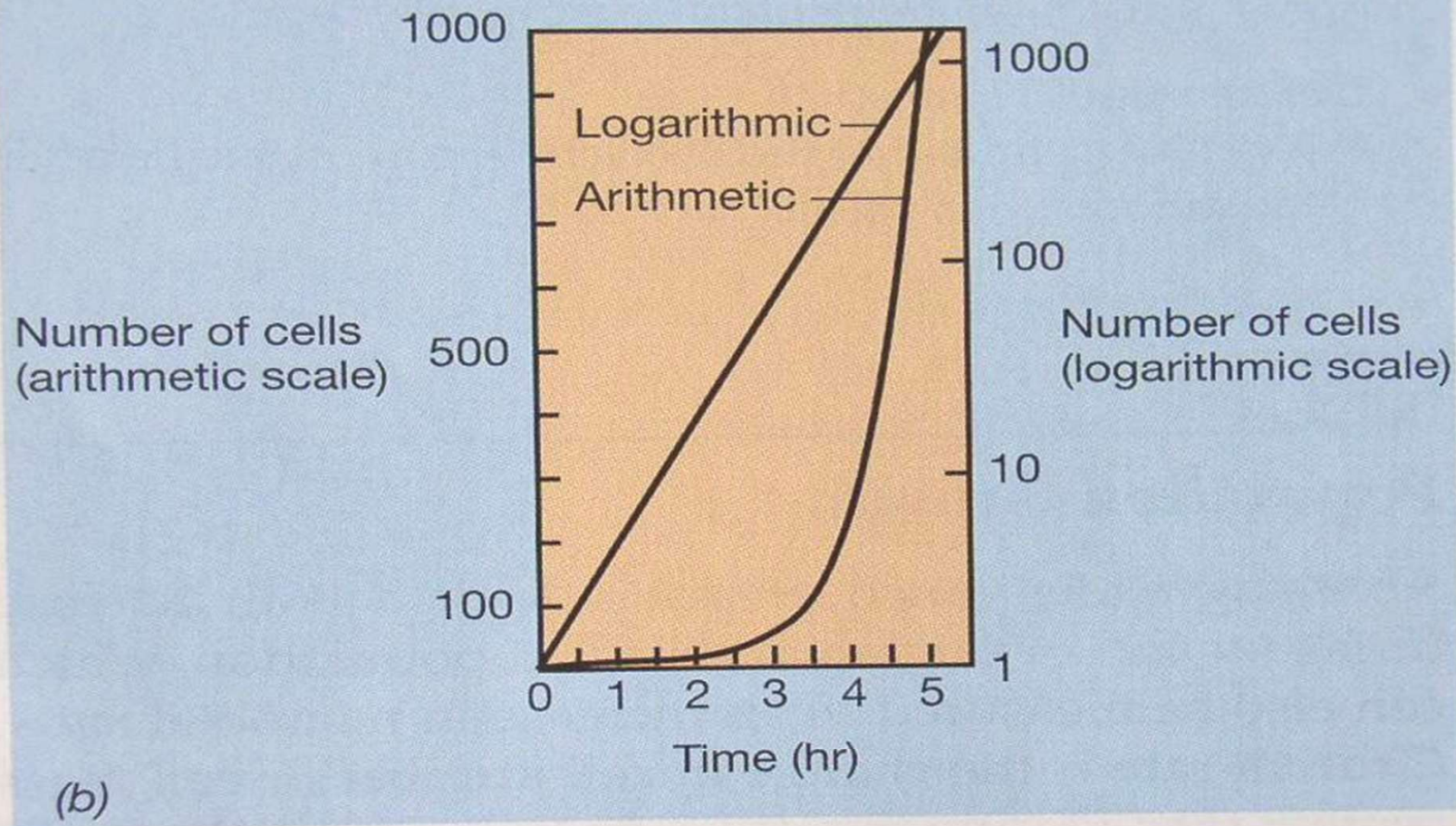
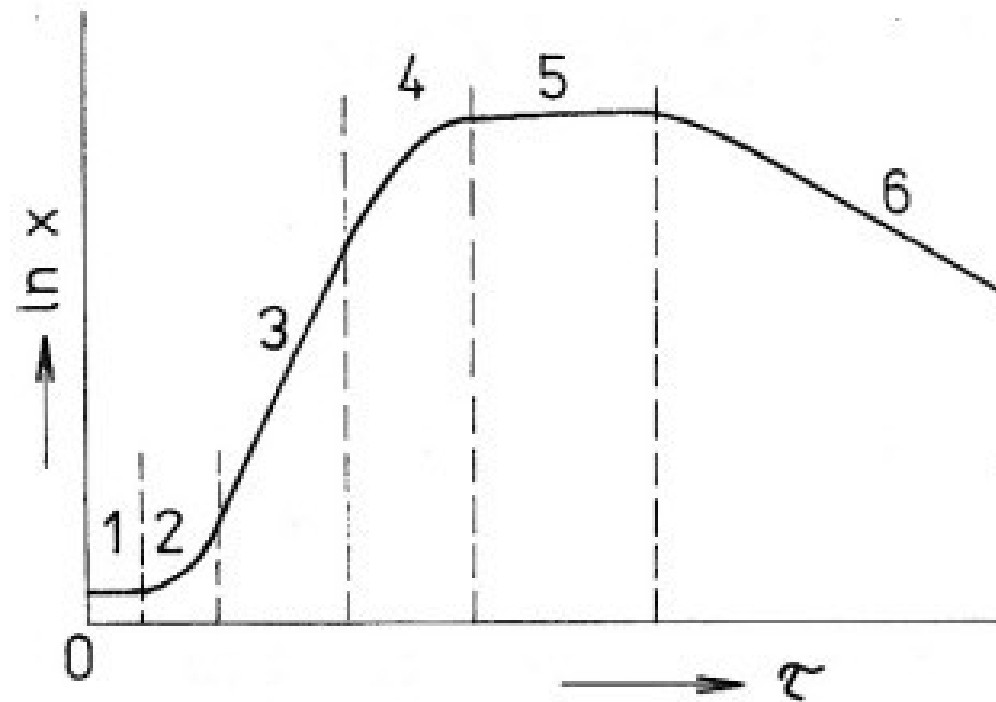


FIGURE 5.2 The rate of growth of a microbial culture.
(a) Data for a population that doubles every 30 min.
(b) Data plotted on an arithmetic (left ordinate) and a logarithmic (right ordinate) scale.



Růstová křivka čisté kultury mikroorganismů:

1) lag-fáze, 2) fáze zrychlujícího se růstu, 3) exponenciální fáze, 4) fáze zpomalujícího se růstu, 5) stacionární fáze, 6) fáze postupného odumírání buněk.

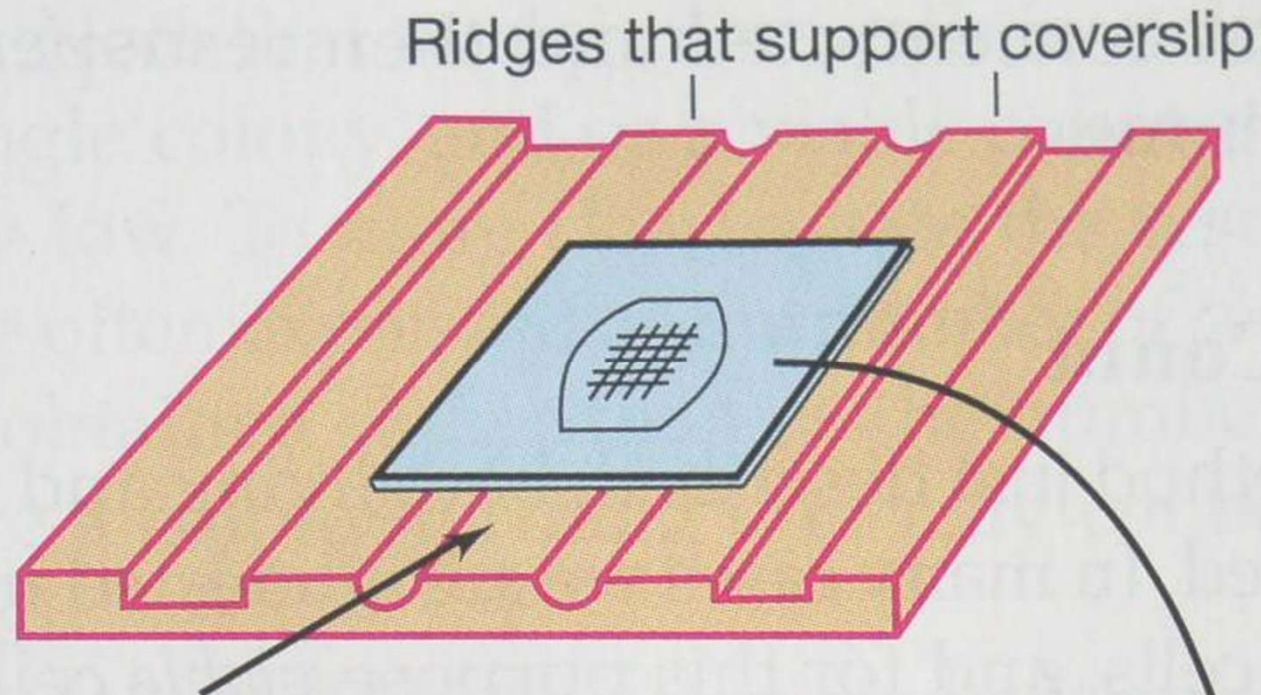
LAG-FÁZE: Počáteční fáze, buněk zatím nepřibývá. Buňky se nerozmnožují, ale zvětšují svůj objem a aktivuje se jejich enzymový systém. Délka lag-fáze závisí na druhu mikroorganismu, fyziologickém stavu buněk, velikosti inokula (k ní je nepřímo úměrná) a na složení růstového prostředí. U *E. coli* 30 – 180 min.

FÁZE ZRYCHLUJÍCÍHO SE RŮSTU: Přechodná fáze, kde se buňky začínají množit zvyšující se rychlostí a zkracující se generační dobou. Buněčná populace v této fázi přechází do fáze exponenciální.

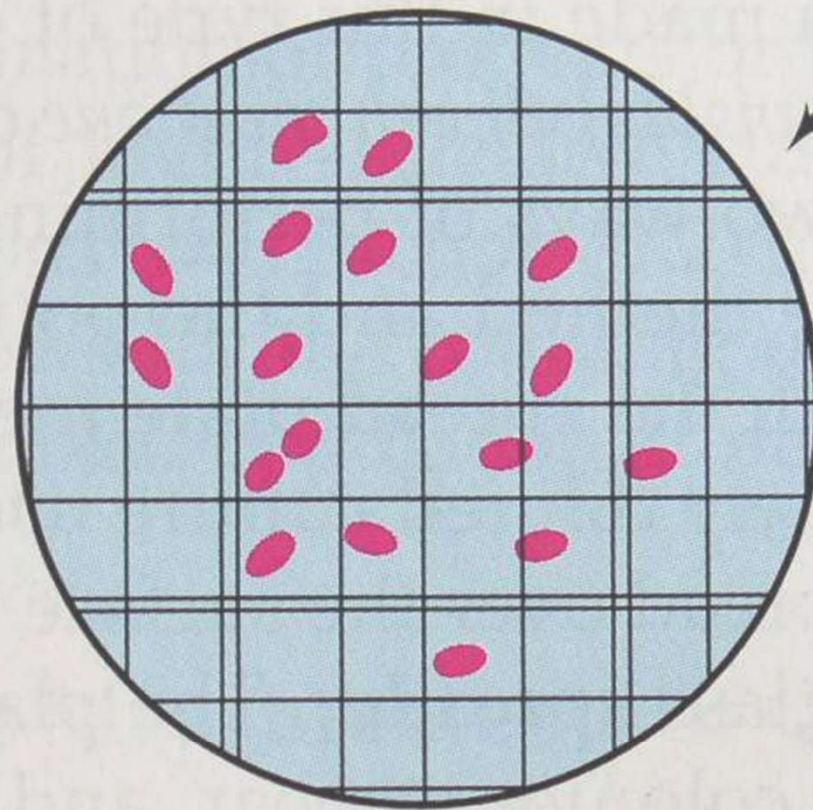
EXPONENCIÁLNÍ FÁZE: Je fáze intenzivního a pravidelného růstu. Buňky zde mají nejkratší generační dobu, která je po celou dobu exponenciální fáze konstantní. Počet buněk roste exponenciálně s časem. Tato fáze se také označuje jako **LOGARITMICKÁ**, vzhledem k lineární závislosti mezi logaritmem počtu buněk a dobou růstu. **FÁZE ZPOMALUJÍCÍHO SE RŮSTU:** Nastává po exponenciální fázi růstu. Rychlost rozmnožování postupně klesá až k rovnovážnému stavu s odumíráním buněk.

STACIONÁRNÍ FÁZE: Při vyčerpání některé živiny nebo při vzrůstu koncentrace toxického metabolitu nad určitou hranici dojde k zastavení růstu buněčné populace. V této fázi buňky nepřibývají, ale ani neubývají. Počet odumírajících buněk je kompenzován jejich pomalým rozmnožováním.

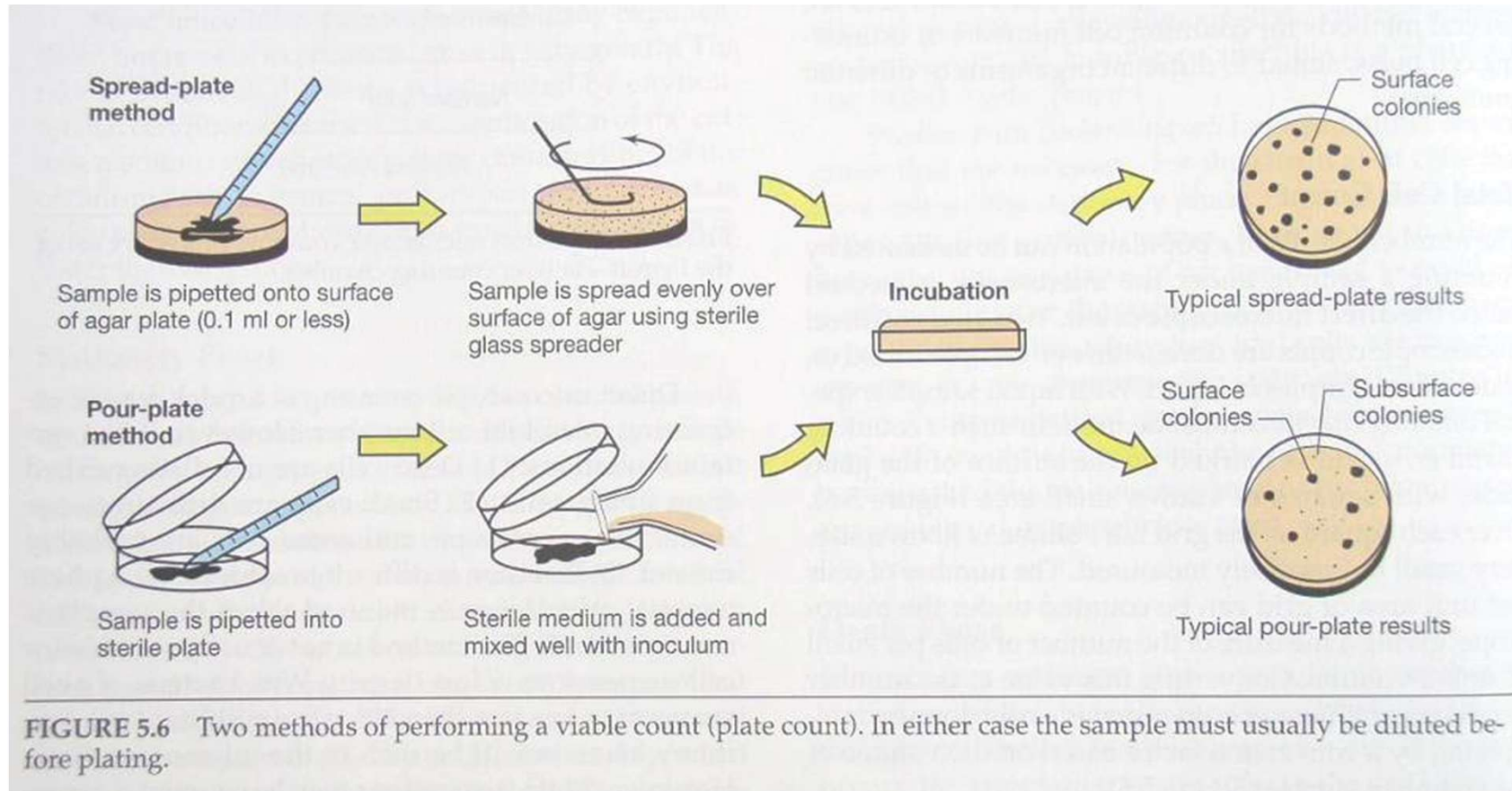
FÁZE POSTUPNÉHO ODUMÍRÁNÍ: Buňky se vůbec nerozmnožují, hynou a jejich koncentrace v čase klesá. U různých mikroorganismů může trvat dny, týdny, měsíce.



Sample added here; care must be taken not to allow overflow; space between coverslip and slide is 0.02 mm ($\frac{1}{50}$ mm). Whole grid has 25 large squares, a total area of 1 mm² and a total volume of 0.02 mm³.



Microscopic observation; all cells are counted in large square: 12 cells (in practice, several squares are counted and the numbers averaged.)



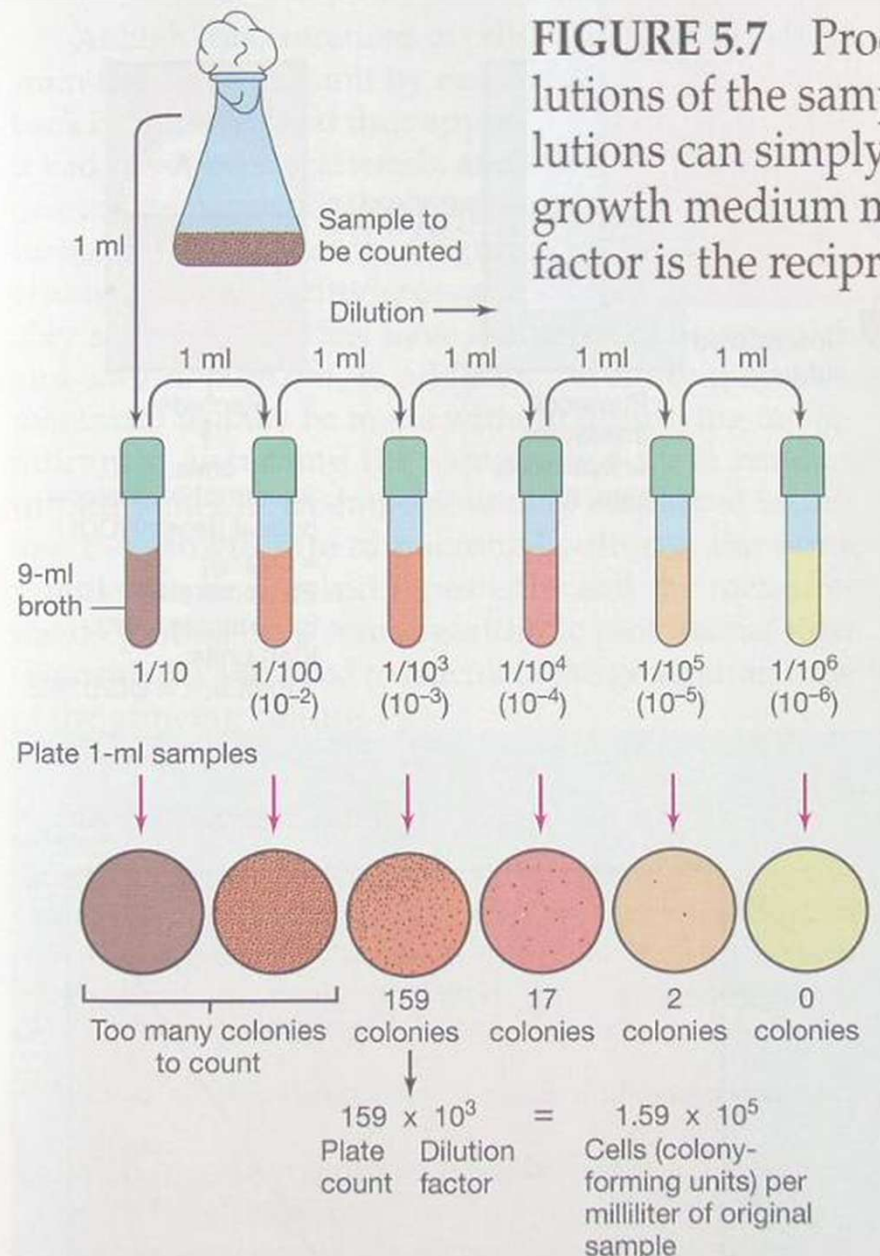
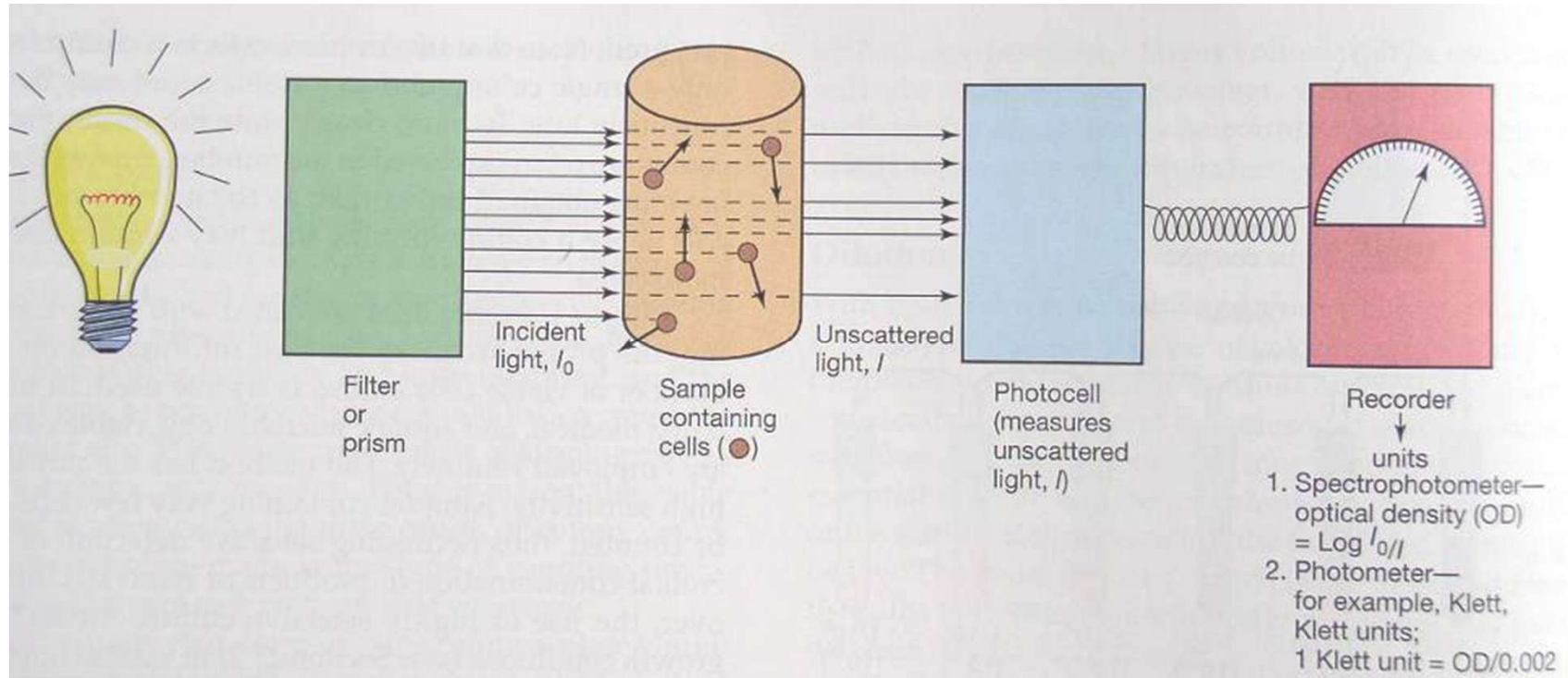
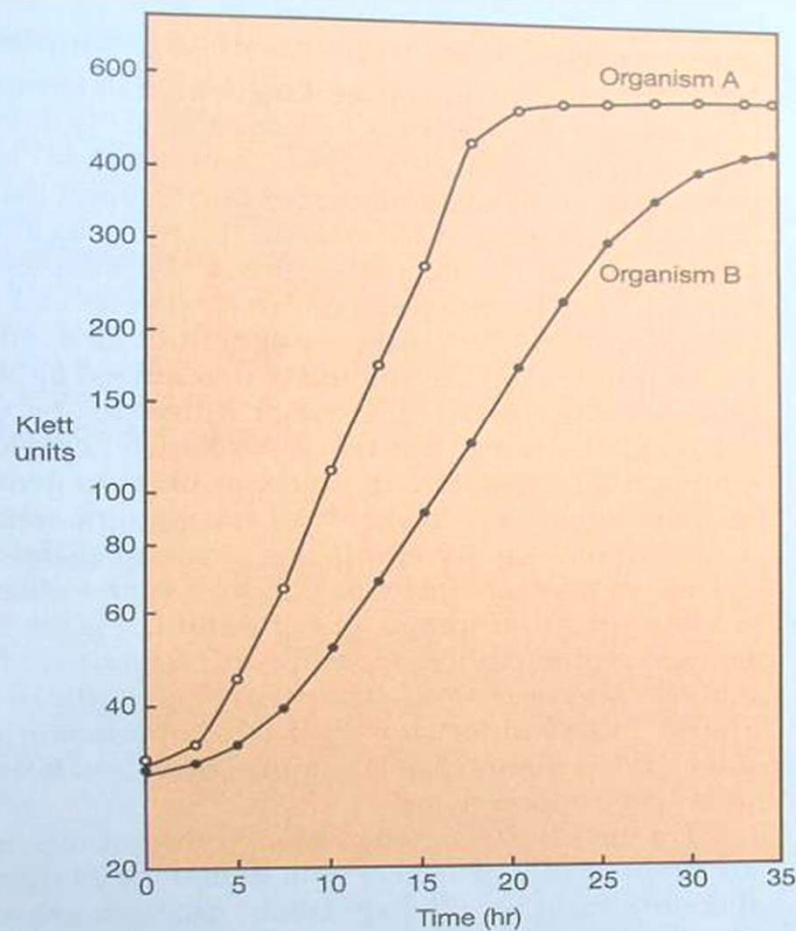


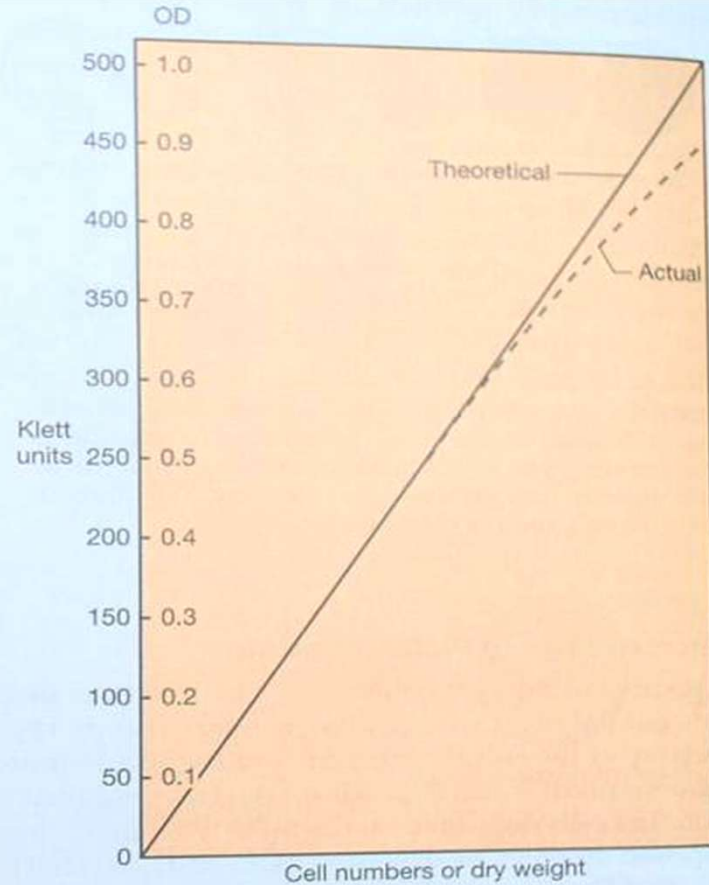
FIGURE 5.7 Procedure for viable counting using serial dilutions of the sample. The sterile liquid used for making dilutions can simply be water, but a balanced salt solution or growth medium may yield a higher recovery. The dilution factor is the reciprocal of the dilution.



Princip turbidimetrie



(b)



(c)

FIGURE 5.8 Turbidity measurements of microbial growth. (a) Measurements of turbidity are made in a spectrophotometer or photometer. The photocell measures incident light unscattered by cells in suspension and gives readings in optical density or photometer units. (b) Typical growth curve data obtained in Klett units for two organisms growing at different growth rates. For practice, calculate the generation time (g) of the two cultures using the formula $n = 3.3(\log N - \log N_0)$ where N and N_0 are two different Klett values taken between a time interval t . Which organism is growing faster, A or B? (c) Relationship between cell number or dry weight and turbidity readings. Note that the one-to-one correspondence between these relationship breaks down at high turbidities.

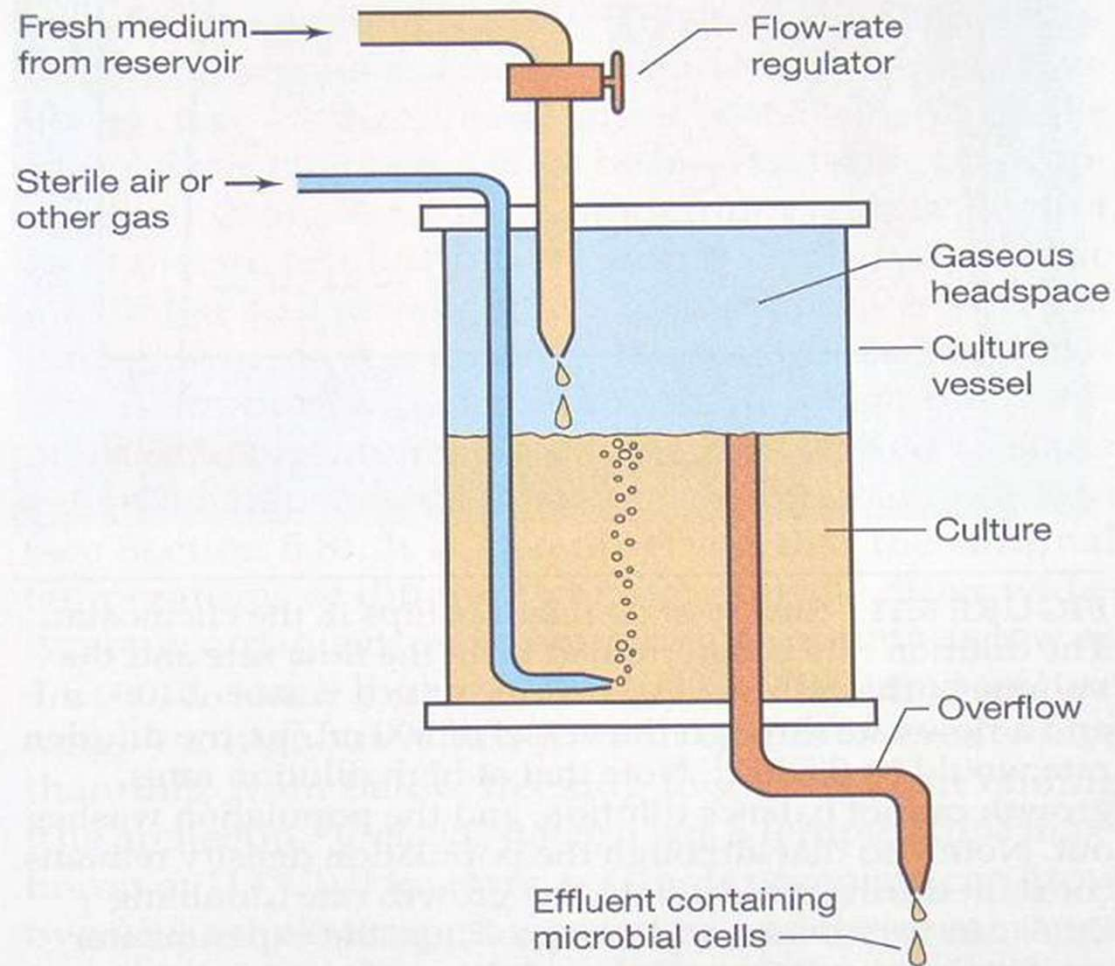


FIGURE 5.9 Schematic for a continuous culture device (chemostat). In such a device, the population density is controlled by the concentration of limiting nutrient in the reservoir, and the growth rate is controlled by the flow rate (see Figure 5.11). Both parameters can be set by the experimenter.

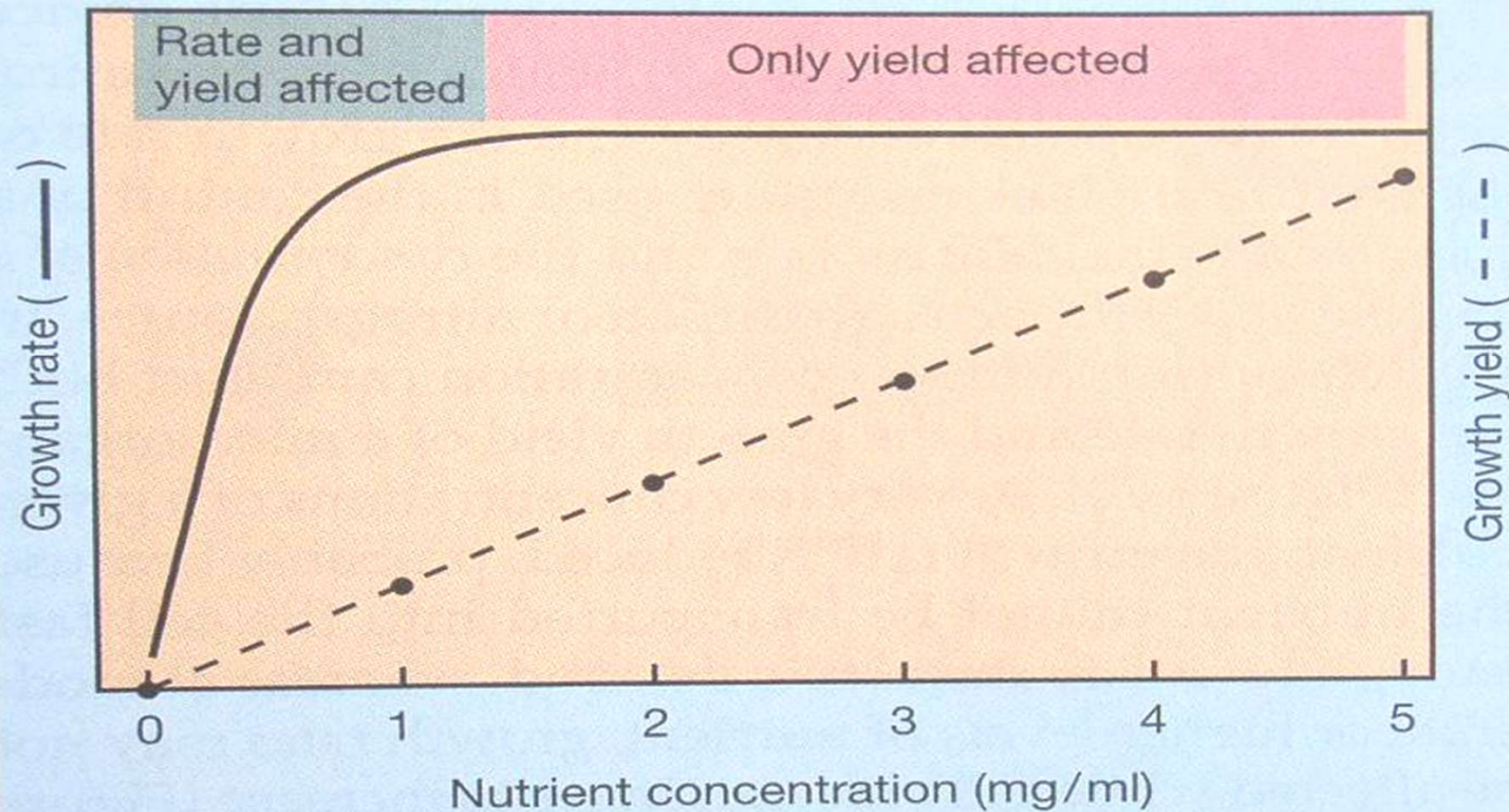
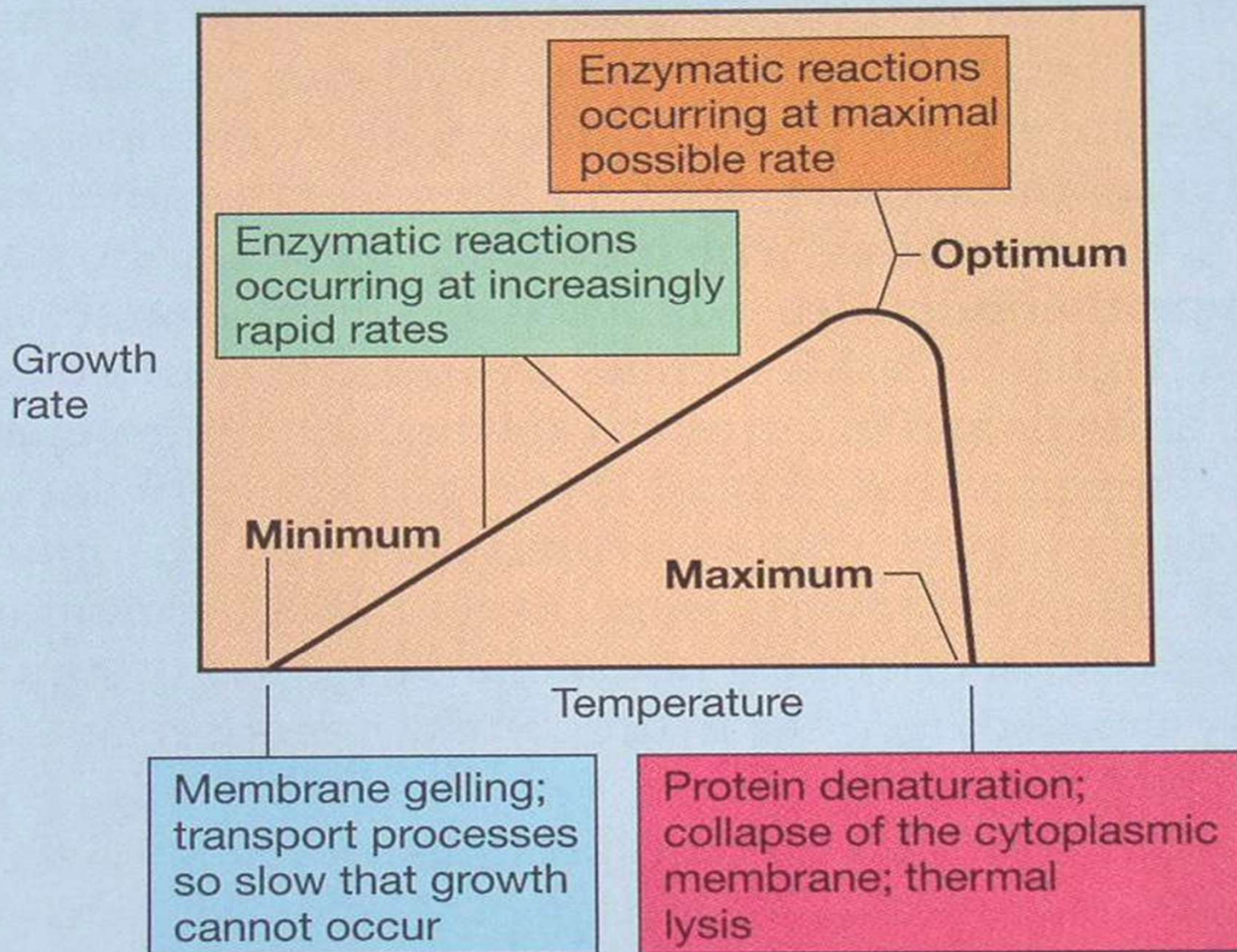


FIGURE 5.10 Relationship among nutrient concentration, growth rate (solid line), and growth yield (dashed line) in a batch culture (closed system). At low nutrient concentrations both growth rate and growth yield are affected.

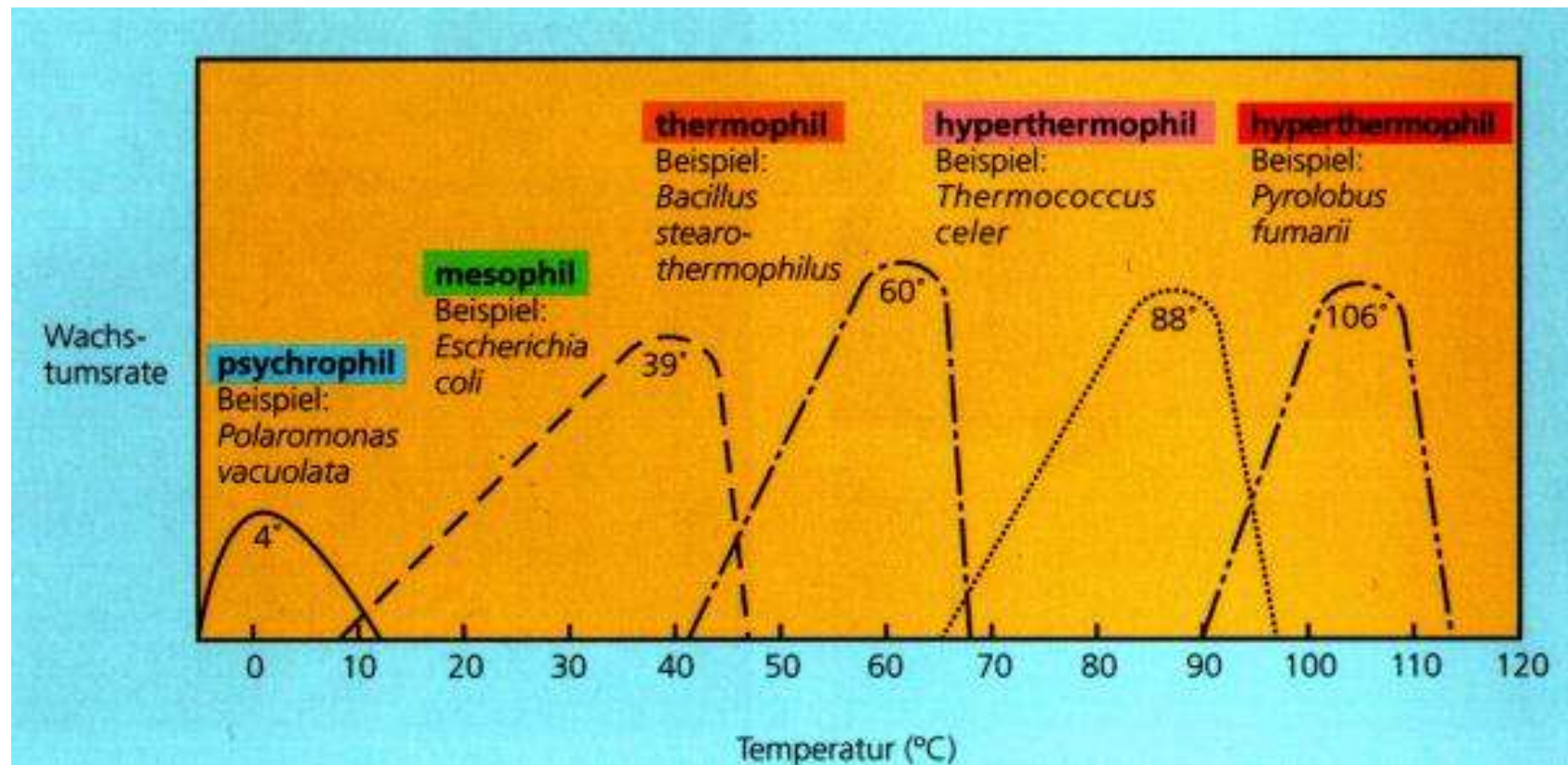
TABLE 5.1**Presently known upper temperature limits for growth of living organisms**

Group	Upper temperature limits (°C)
Animals	
Fish and other aquatic vertebrates ^a	38
Insects	45–50
Ostracods (crustaceans)	49–50
Plants	
Vascular plants	45
Mosses	50
Eukaryotic microorganisms	
Protozoa	56
Algae	55–60
Fungi	60–62
Prokaryotes	
Bacteria	
Cyanobacteria	70–74
Anoxygenic phototrophs	70–73
Chemoorganotrophic/chemolithotrophic	95
Archaea	
Chemoorganotrophic/chemolithotrophic	113
Archaea	

^a See a possible exception in Section 16.12 and Figure 16.34.



Bezeichnung	Temperaturfenster	Beispiel Lebensraum
psychrophil	unterhalb 15° C	Gletscher
mesophil	15 - 40° C	gemäßigte Zonen, Meere
thermophil	40 - 100° C	Komposthaufen
hyperthermophil	über 100° C	heiße Quellen



- **Letální účinek tepla-** výše teploty, doba expozice, podmínky prostředí, kondice MO
- Účinek především na koagulaci bílkovin
- Denaturace bílkovin – inaktivace enzymů, destrukce jedinného esenciálního – odumření buňky
- Ochlazení pod bod mrazu – rozdíl spočívá v tom, zda se jedná o pomalé – vznik velkých krystalů a poškození buňky
- Při rychlém ochlazení vznikají malé krystalky a buňky se nepoškodí
- Lyofilizace buněk – dehydratace zmrazených mikroorganismů se používá u sbírkových MO

Bezeichnung	pH-Bereich	Beispiel-lebensraum
acidophil	$\text{pH} < 5$	Moorgewässer
neutrophil	$\text{pH} = 5..9$	menschlicher Darm
alkalophil	$\text{pH} > 9$	Sodasee

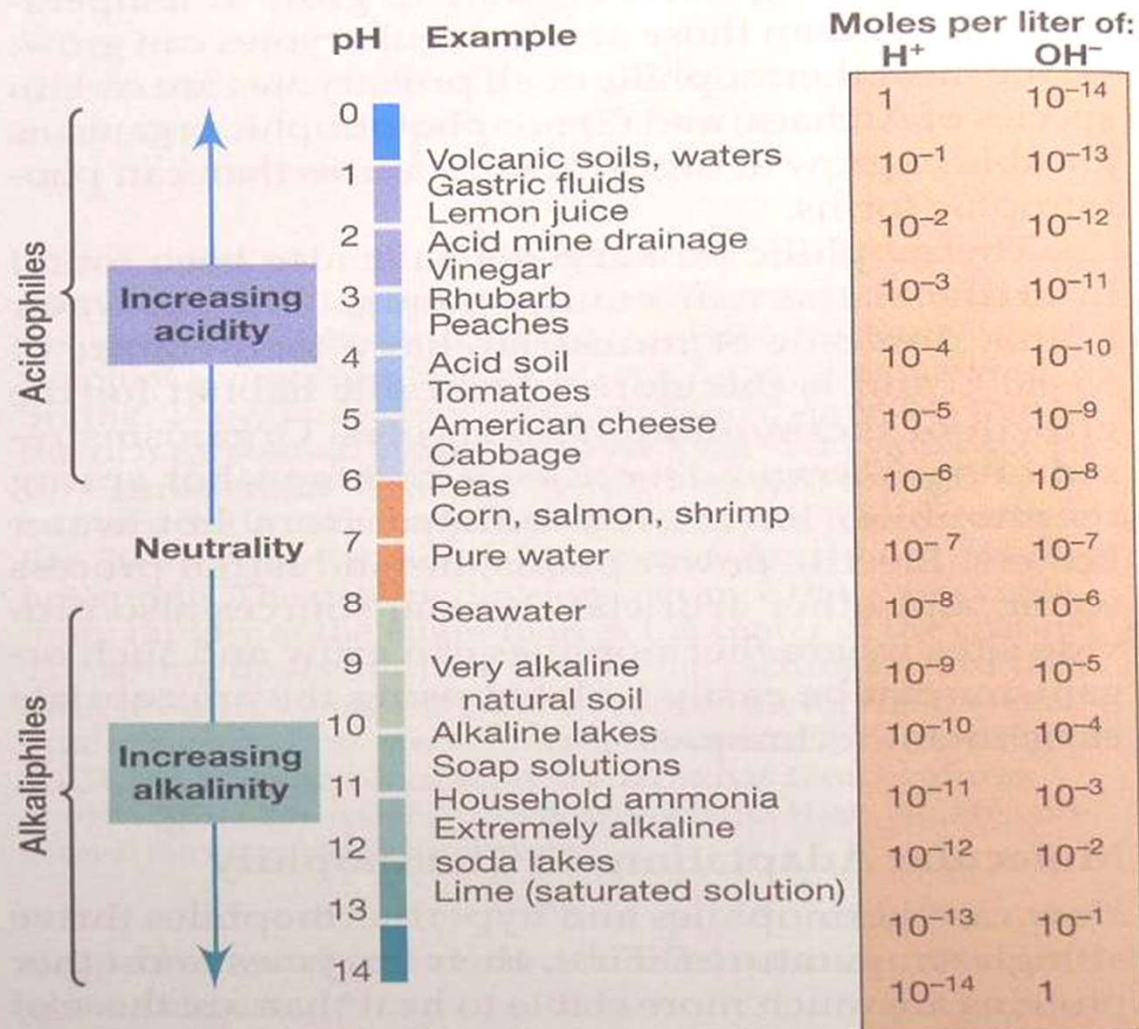


FIGURE 5.18 The pH scale. Note that although some microorganisms can live at very low or very high pH, the cell's internal pH remains near neutrality.

Salzkonzentration	Bezeichnung	Beispiel-lebensraum
obligatorisch geringe Salzkonzentration	nichthalophil	Süßwasser, Boden
fakultativ mittlere Salzkonzentration	halotolerant	menschliche Haut
obligatorisch mittlere Salzkonzentration	halophil	Meerwasser
obligatorisch hohe Salzkonzentration	extrem halophil	Solequellen, totes Meer

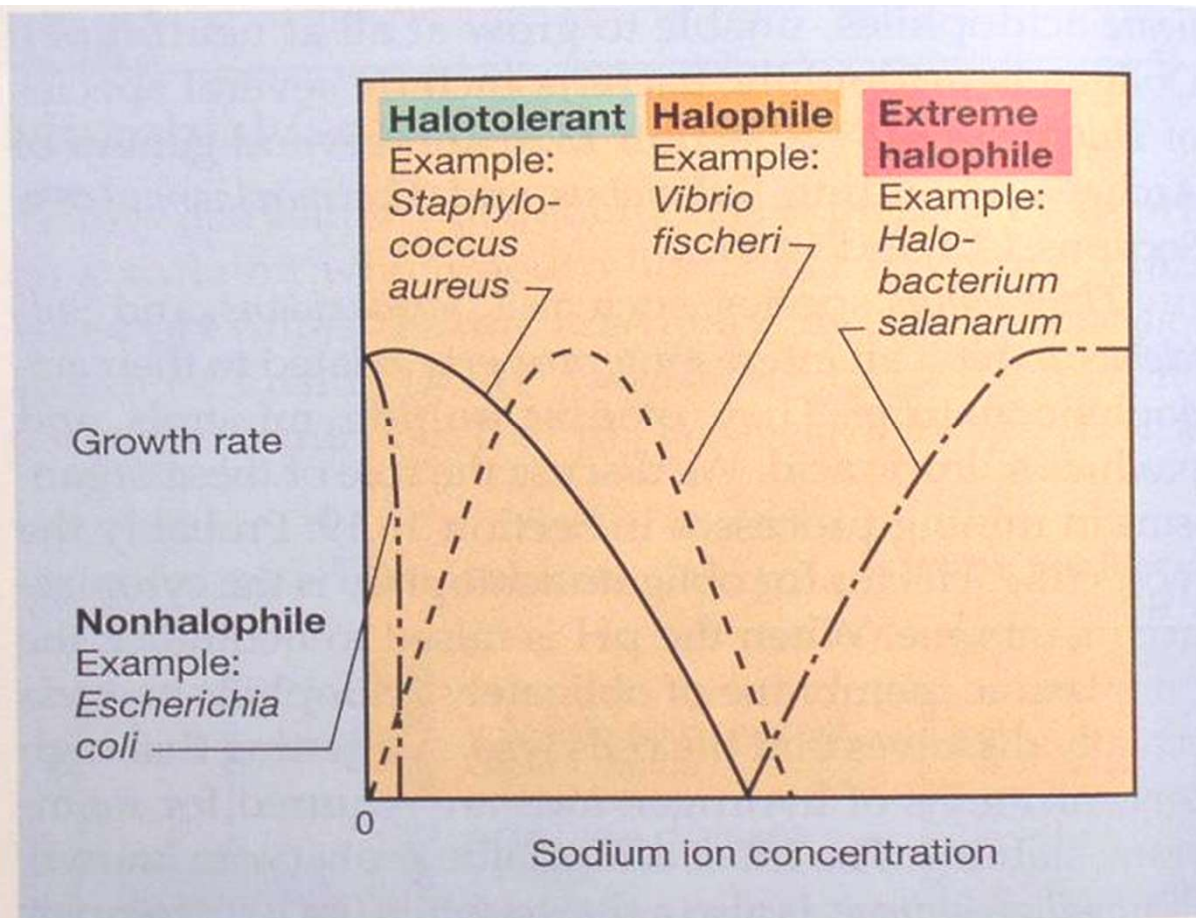


FIGURE 5.19 Effect of sodium ion concentration on growth of microorganisms of different salt tolerances. The optimum NaCl concentration for marine microorganisms such as *V. fischeri* is about 3%; for extreme halophiles, it is between 15 and 30%, depending on the organism.

TABLE 5.2 Water activity of several substances

Water activity, a_w	Material	Examples of organisms growing at stated water activity
1.000	Pure water	<i>Caulobacter</i> , <i>Spirillum</i>
0.995	Human blood	<i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia</i>
0.980	Seawater	<i>Pseudomonas</i> , <i>Vibrio</i>
0.950	Bread	Most gram-positive rods
0.900	Maple syrup, ham	Gram-positive cocci such as <i>Staphylococcus</i>
0.850	Salami	<i>Saccharomyces rouxii</i> (yeast)
0.800	Fruit cake, jams	<i>Saccharomyces bailii</i> , <i>Penicillium</i> (fungus)
0.750	Salt lakes, salted fish	<i>Halobacterium</i> , <i>Halococcus</i>
0.700	Cereals, candy, dried fruit	<i>Xeromyces bisporus</i> and other xerophilic fungi

- **Podle nároků na vlhkost**

- Xerofilní (mikromycety, streptomycety)
- Mezofilní (bakterie, řasy, prvoci)
- Hydrofilní (*Azotobacter*, *Rhizobia*)

- **Osmotický tlak**

- prostředí hypo (nastává plasmoptýza – prasknutí buňky a vyhřeznutí b. obsahu) a hypertonické (ztráta vody – plasmolýza) *S. aureus* snáší i koncentraci 6,5 % NaCl, *E. coli* nikoliv, **halofilní b.** V mořské vodě (i v Mrtvém moři)

TABLE 5.4 Oxygen relationships of microorganisms

Group	Relationship to O ₂	Type of metabolism	Example	Habitat ^a
Aerobes				
Obligate	Required	Aerobic respiration	<i>Micrococcus luteus</i>	Skin, dust
Facultative	Not required, but growth better with O ₂	Aerobic, anaerobic respiration, fermentation	<i>Escherichia coli</i>	Mammalian large intestine
Microaerophilic	Required but at levels lower than atmospheric	Aerobic respiration	<i>Spirillum volutans</i>	Lake water
Anaerobes				
Aerotolerant	Not required, and growth no better when O ₂ present	Fermentation	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Upper respiratory tract
Obligate	Harmful or lethal	Fermentation or anaerobic respiration	<i>Methanobacterium formicicum</i>	Sewage sludge digestors, anoxic lake sediments

^a Listed are typical habitats of the example organism.

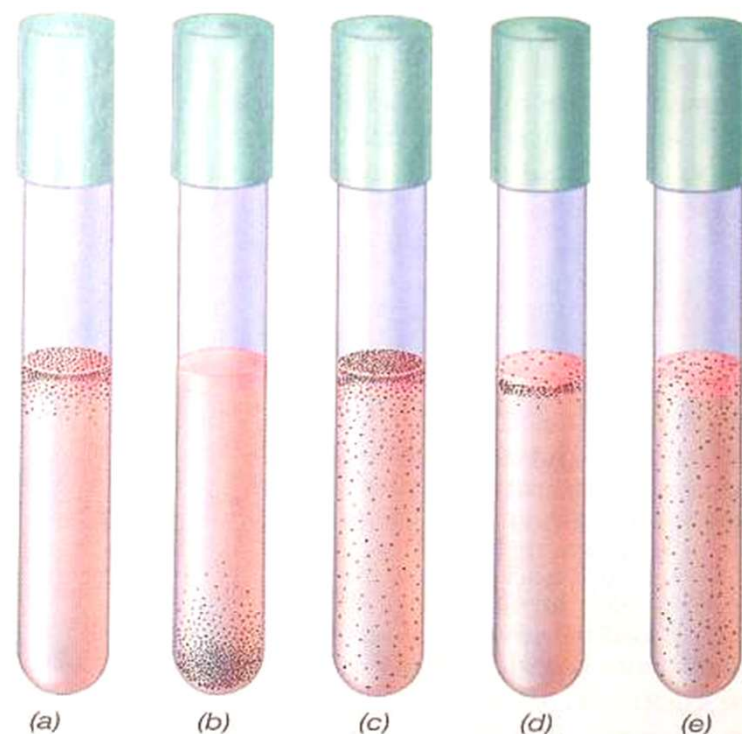


FIGURE 5.21 Aerobic, anaerobic, facultative, microaerophilic, and aerotolerant anaerobe growth, as revealed by the position of microbial colonies (depicted here as black dots) within tubes of a culture medium. A small amount of agar has been added to keep the liquid from becoming disturbed and the redox dye, resazurin, which is pink when oxidized and colorless when reduced, is added as a redox indicator. (a) Oxygen penetrates only a short distance into the tube, so obligate aerobes grow only at the surface. (b) Anaerobes, being sensitive to oxygen, grow only away from the surface. (c) Facultative aerobes are able to grow in either the presence or the absence of oxygen and thus grow throughout the tube. (d) Microaerophiles grow away from the most oxidic zone. (e) Aerotolerant anaerobes grow throughout the tube.

- **Hydrostatický tlak**

- – jsou známy MO, žijící ve Filipínské rýze v hloubce více jak 10 km žijí **barofilní** MO,

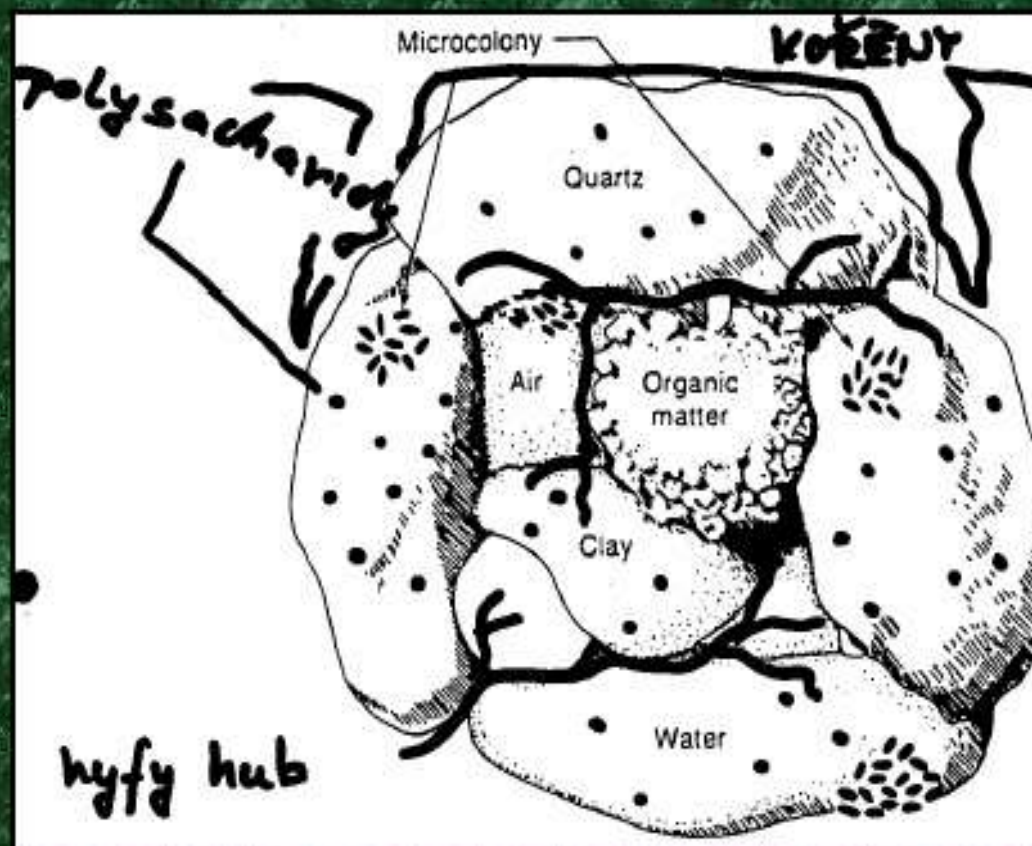
- **barotolerantní** ty které rostou a rozmnožují se při normálním atm. tlaku, ale jsou schopny překonat i tyto extrémní podmínky

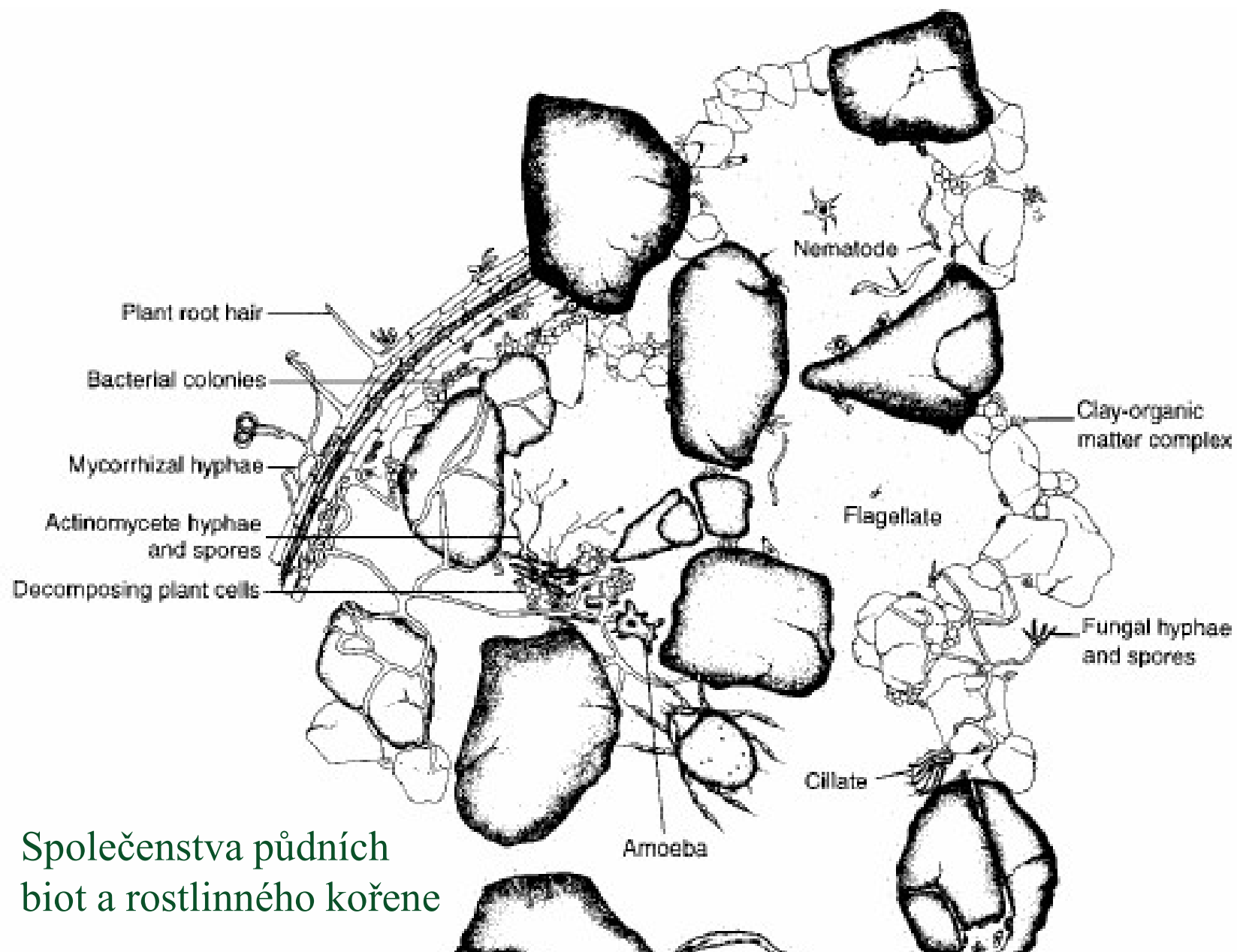
Kontrolní otázky

1. **Metabolismus**
2. Zvláštnosti metabolismu mikrobů
3. Mikrobiální enzymy a průběh enz. reakce
4. **Dělení enzymů**
5. **Fototrofy x chemotrofy, autotrofy x heterotrofy**
6. **Litotrofy x organotrofy, aeroby x anaeroby**
7. Fototrofní bakterie
8. Jak získávají MO energii?
9. Biol. oxidace, $\text{NAD}^+ \times \text{NADH} + \text{H}^+$
10. **Glykolýza**
11. Fermentace mléčná
12. Ostatní druhy fermentace
13. **Srovnání respirace a fermentace**
14. Ana- a katab., syntéza OL (glukoneogeneze.)
15. Růst a množení MO
16. **Fáze růstu mikrobiální populace**
17. Zřed'ovací metoda stanovení MO
18. Turbidimetrie, chemostat
19. **Vztah MO k teplotě**
20. Vztah MO k pH, k osmotickému tlaku
21. Vztah MO k vodě a hydrostatickému tlaku
22. **Vztah MO ke kyslíku**

Mikrobiální společenstvo půdy =

- bakterie (řetízky či kolonie)
- aktinomycéty (pseudomycelia)
- houby (hyfy)
- řasy
- prvoci
- kvasinky
- viry





Společenstva půdních
biot a rostlinného kořene

Význam mikroorganismů v půdě

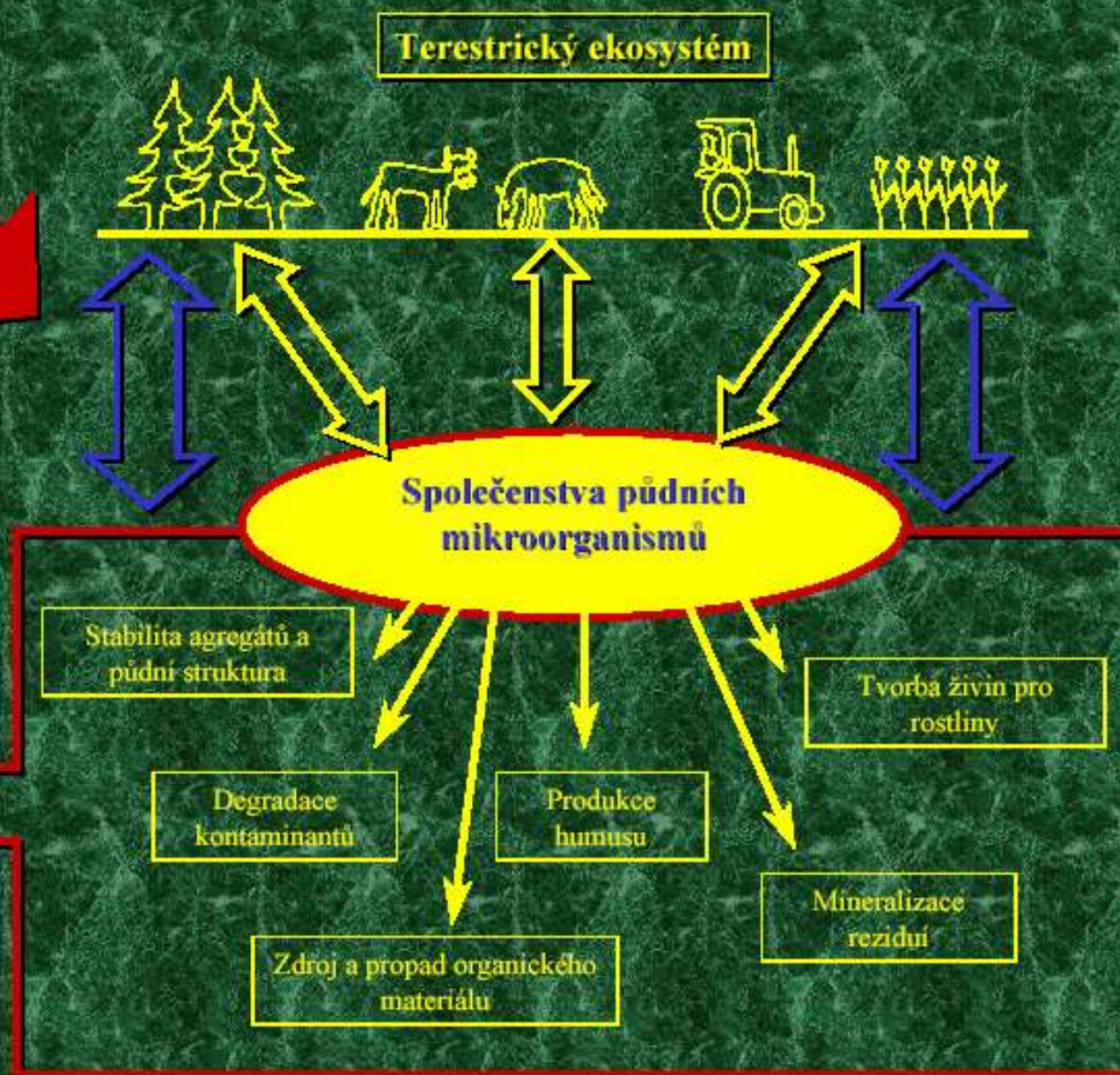
- stěžejní v cyklech živin a energií
- stojí na počátku potravních řetězců
- rozklad organické hmoty (mineralizace)
- syntéza nových sloučenin (immobilizace)
- tvorba humusu
- udržování půdní struktury
- prospěšný vliv na půdní úrodnost a pro růst rostlin
- vliv na vodní a vzdušný režim půdy



Indikátory půdní kvality:

- Fyzikální
- Chemické
- Biologické

- ✓ Kvalita půdy
- ✓ Zdraví půdy
- ✓ Fungování půdy
- ✓ Úrodnost půdy



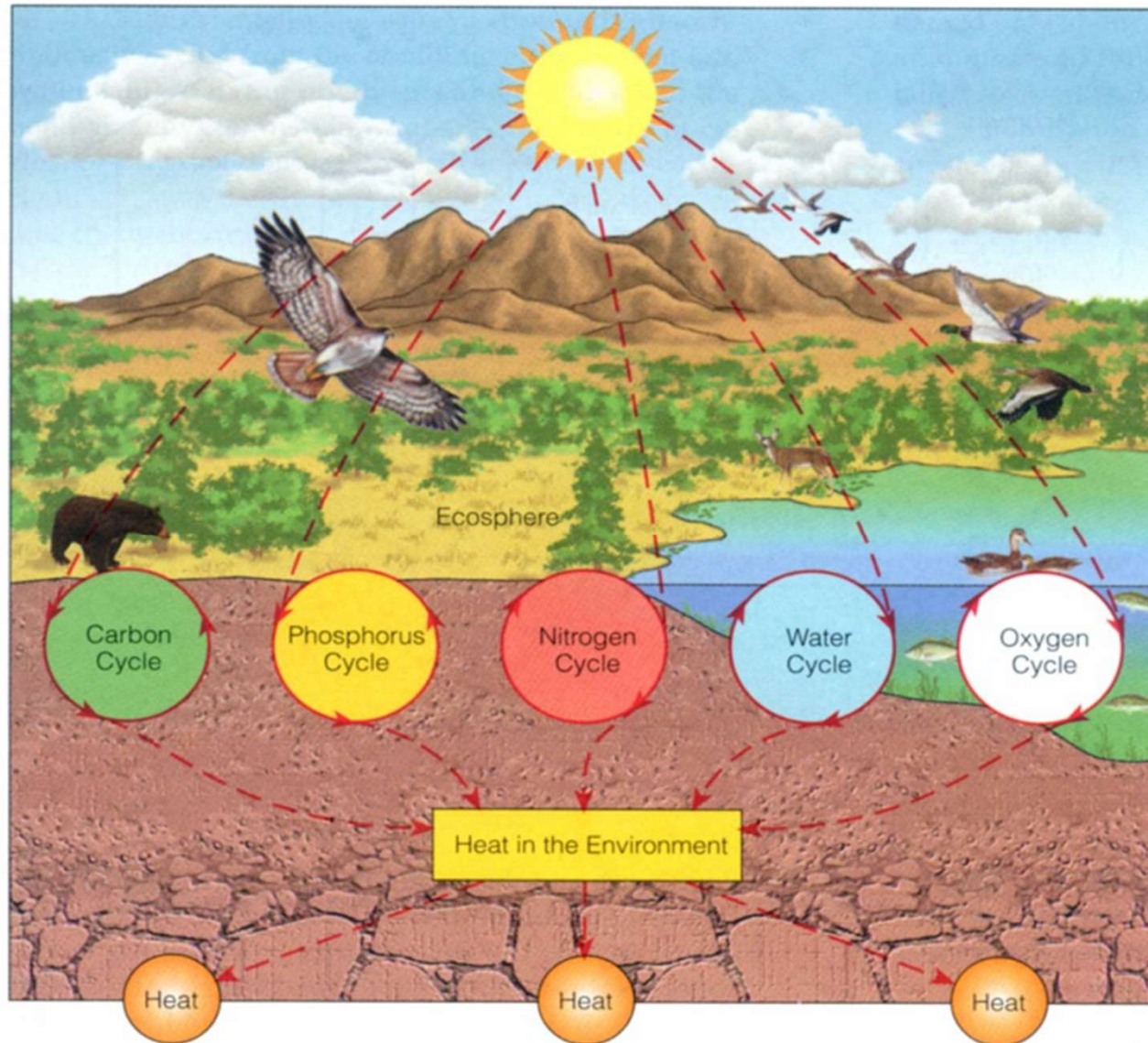
- 0,05 - 0,5% hmoty půdy jsou mikroorganismy
- 10^5 až 10^9 jedinců v 1 g suché půdy
- toto množství stačí na zabezpečení veškerých procesů mineralizace a immobilizace a dalších procesů
- v půdě se vyskytují volně, či ve složité a dynamické vazbě na povrchích a uvnitř agregátů a částic organominerálního komplexu



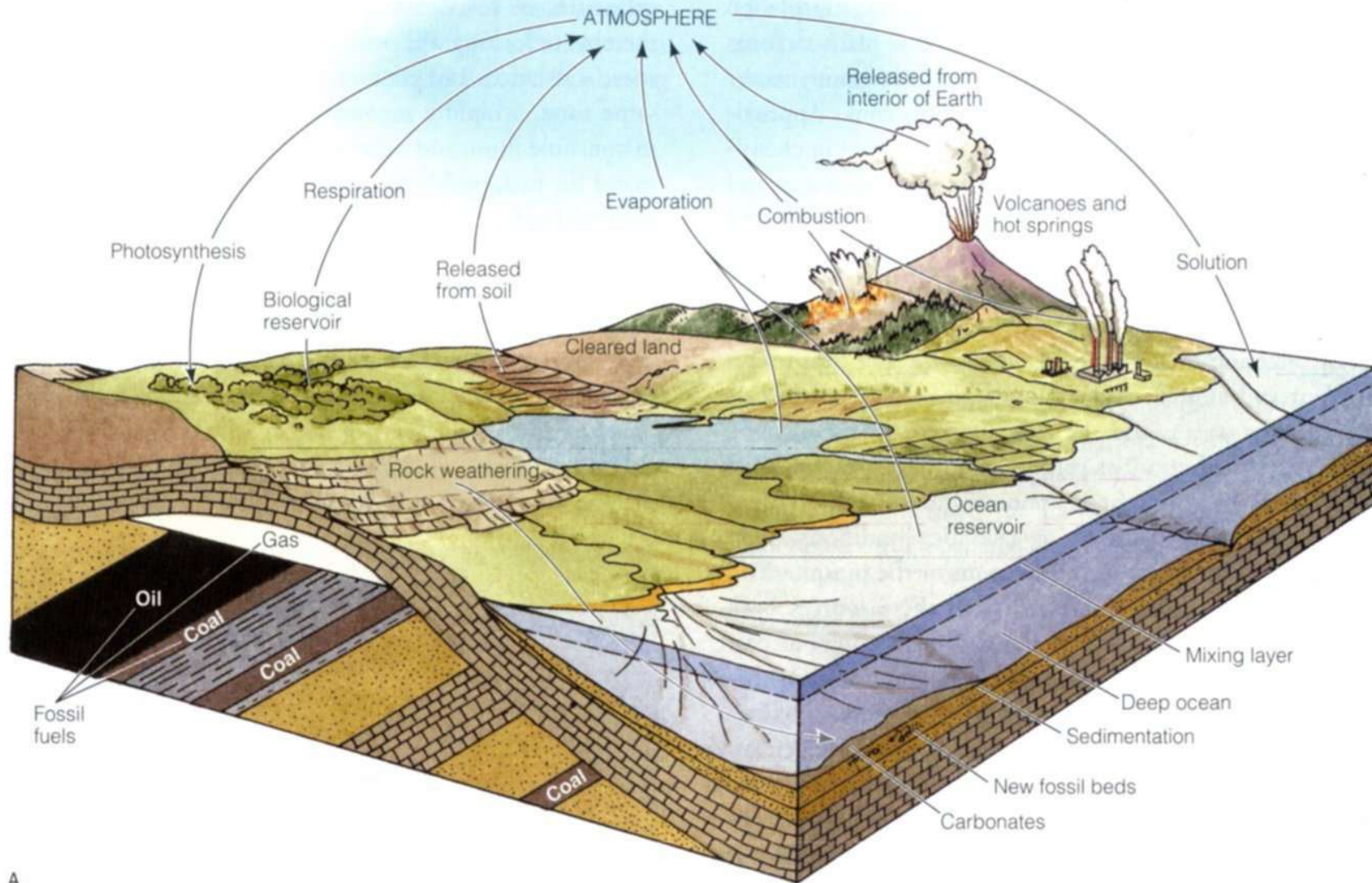
Imobilizace versus mineralizace

- **Imobilizace** ... proces, kdy je část minerálních živin včleněna do organické hmoty, např. při růstu zelených rostlin, ale stejně tak i při příjmu živin mikroorganismy.
- **Mineralizace** ... proces postupného rozkladu organických látek až na minerální látky výchozí.

Biogeochemické cykly

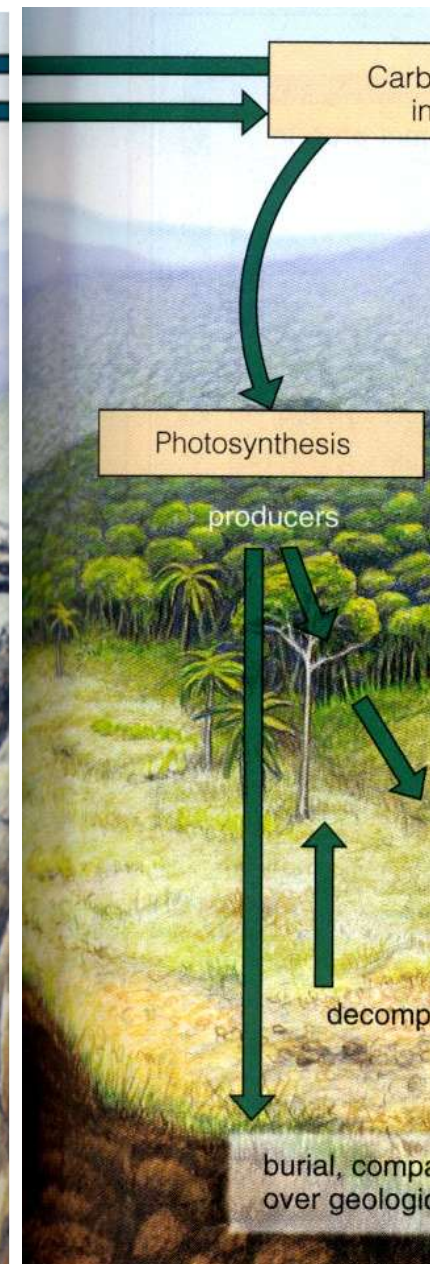
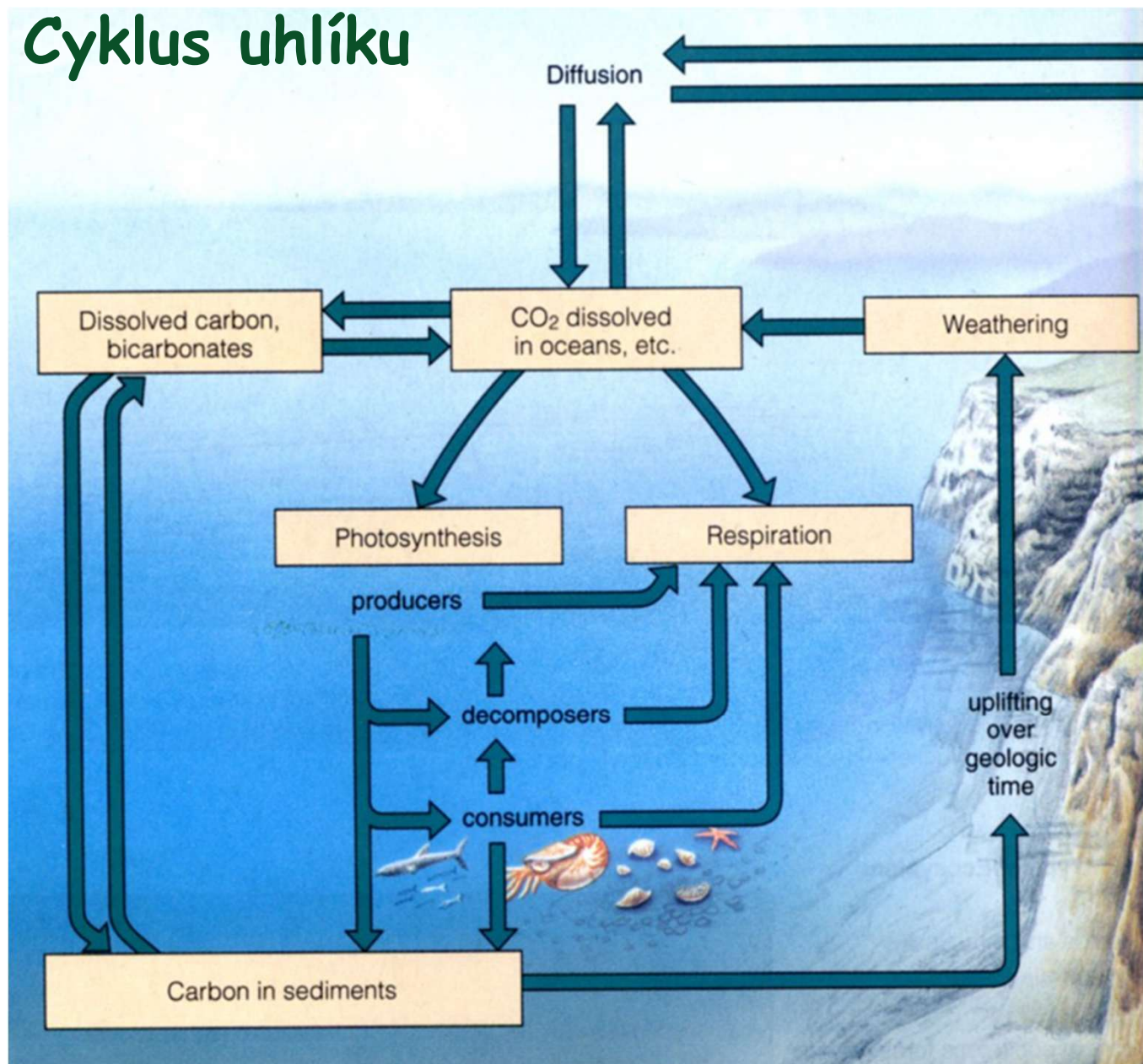


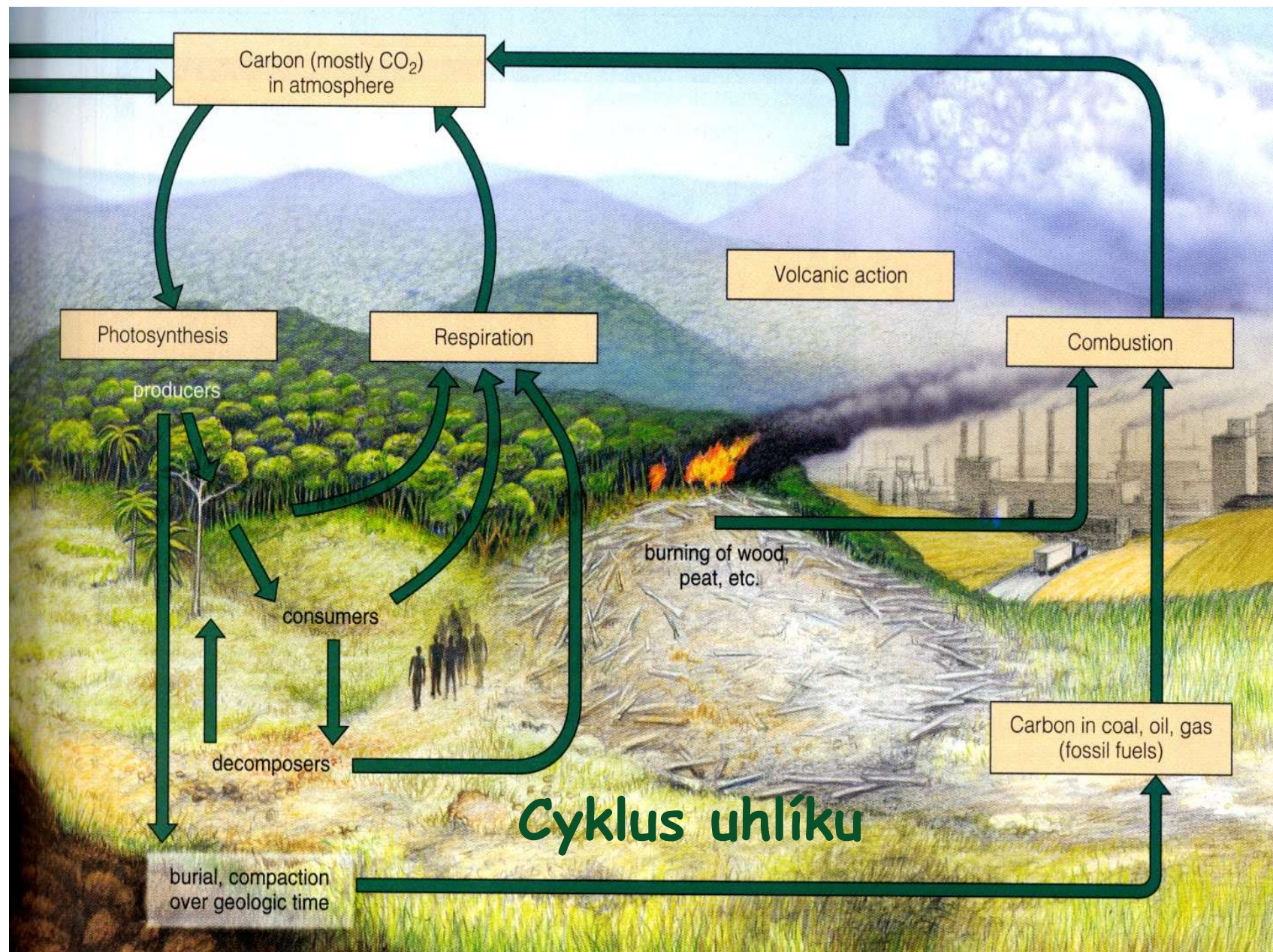
Cyklus uhlíku



A.

Cyklus uhlíku





Cyklus uhlíku

Tři části:

- **Biochemický – výměna látek v organismech (cca – 20 let)**
- **Biogeochemický – část biomasy z biochemického cyklu přechází do sedimentů, ze kterých se postupně uvolňuje (cca – 20 000 let)**
- **Geochemický – vznik uhličitánů a jejich ukládání v mořích a oceánech (cca – 200 000 000 let)**

Antropogenní ovlivnění

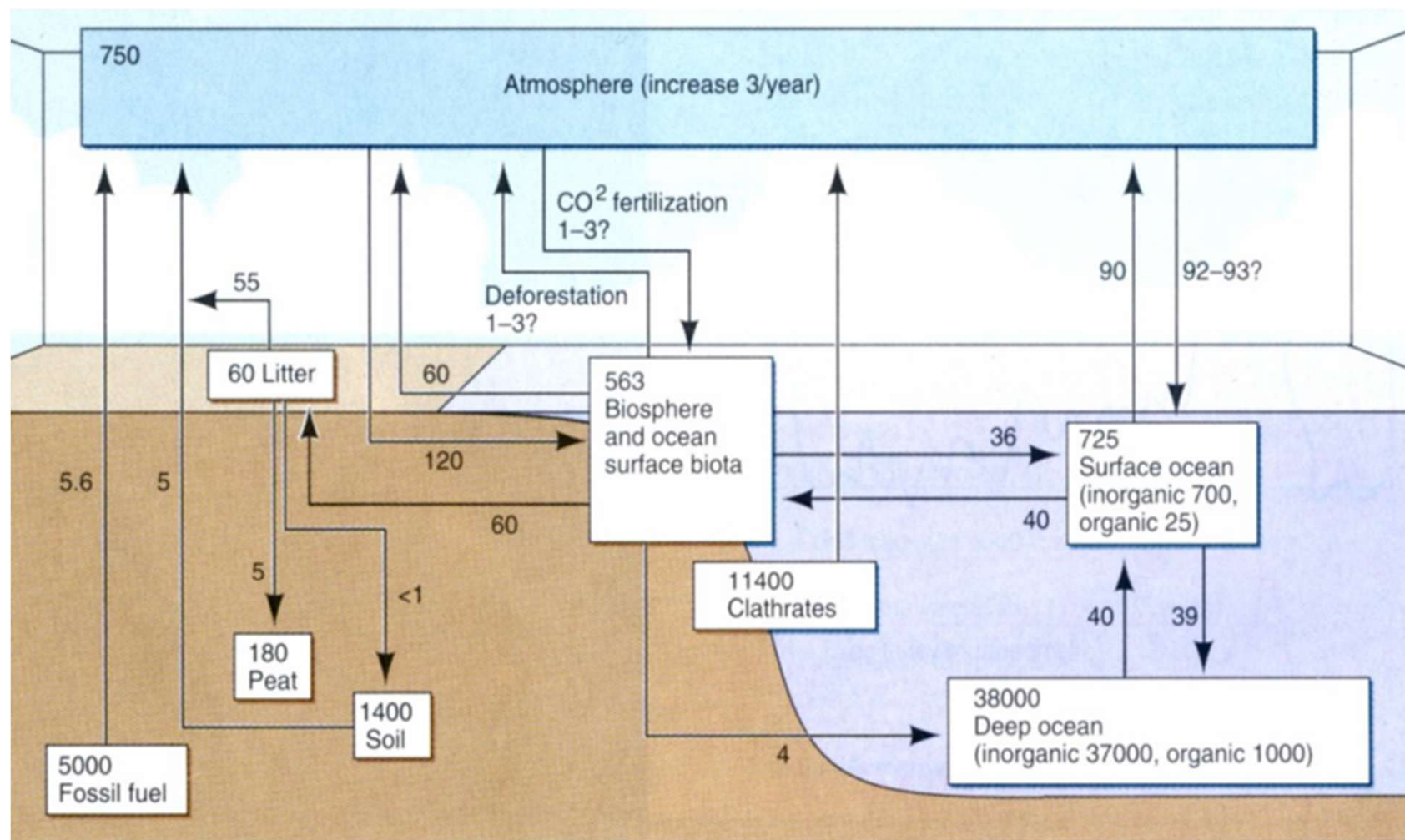
Cyklus uhlíku

Uhlík se nachází se ve všech velkých systémech a rezervoárech

- **Biosféra:** základní stavební částice živých organismů
- **Litosféra:** vápencové horniny, fosilní paliva
- **Hydrosféra:** (rozpuštěný CO_2 a karbonátové látky)
- **Atmosféra:** (CO_2 , CH_4 ...): 0,036 %

Největším rezervoárem uhlíku jsou oceánské a pevninské sedimenty.

Cyklus uhlíku a člověk



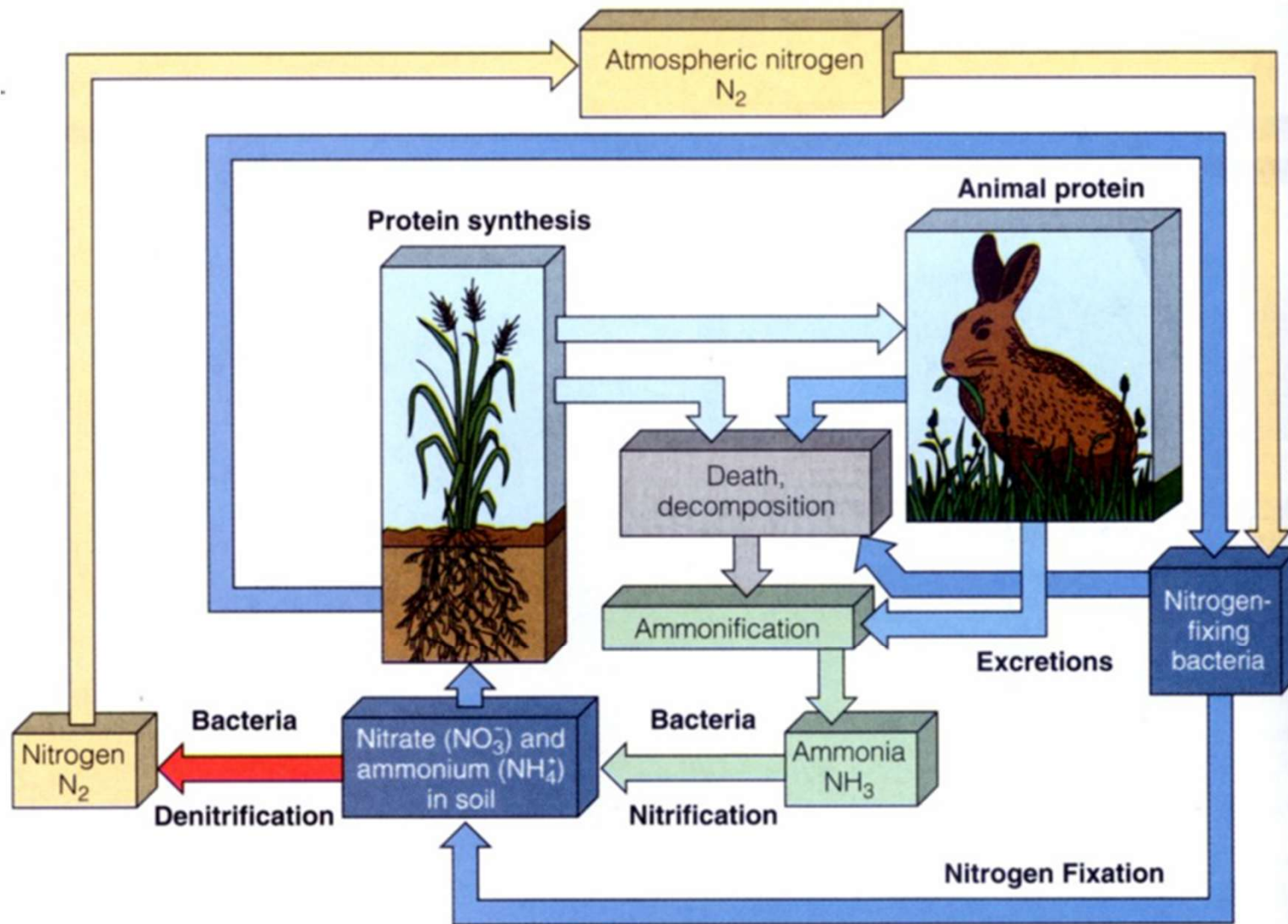
Cyklus uhlíku

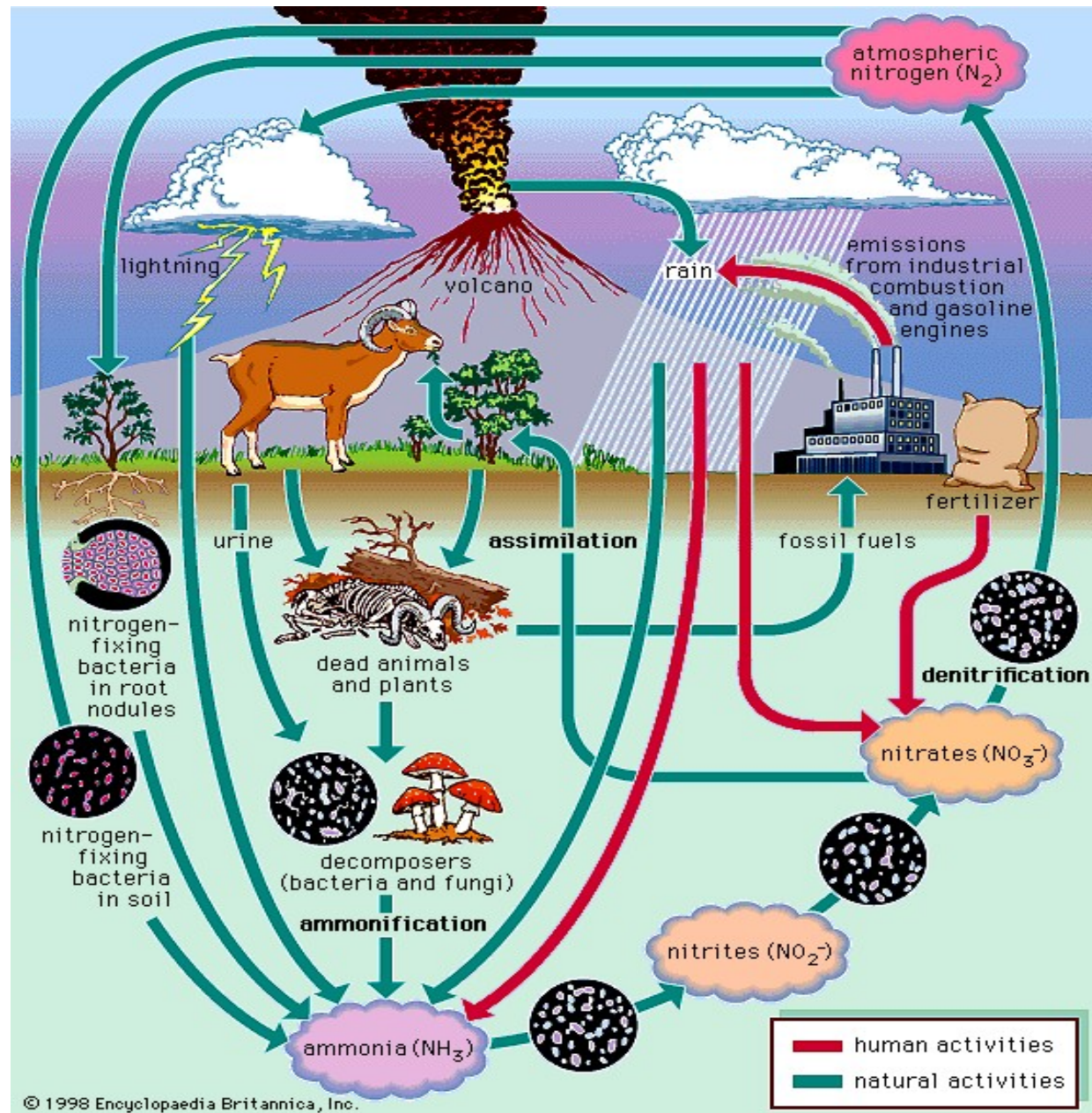
a člověk

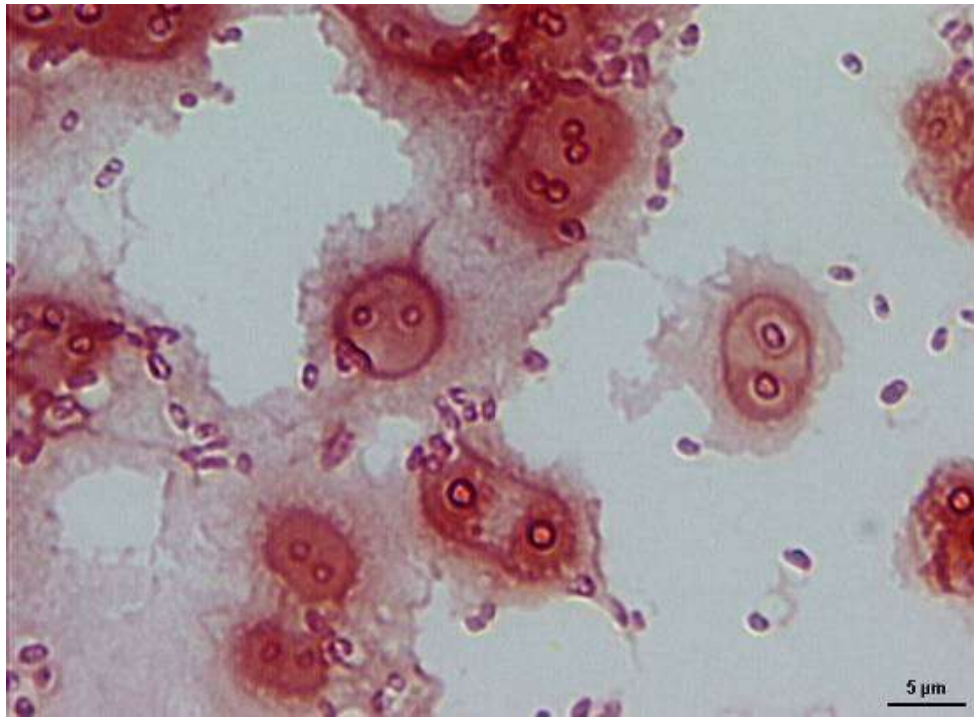
- do atmosféry 6 miliard t/rok spalováním fosilních paliv
- kolem 2 miliard t/rok odlesňováním
- důsledek: místo přirozené spotřeby z atmosféry produkce CO₂

Dlouhodobá přirozená celková nevyrovnanost toků je pravděpodobně menší než 1 miliarda C t/rok. Toto množství se zdá malé ve srovnání s ostatními toky. Přesto je zásah člověka obrovský.

Cyklus dusíku







Fixace vzdušného dusíku volně žijícími bakteriemi

Azotobacter

nesymbiotická fixace vzdušného dusíku

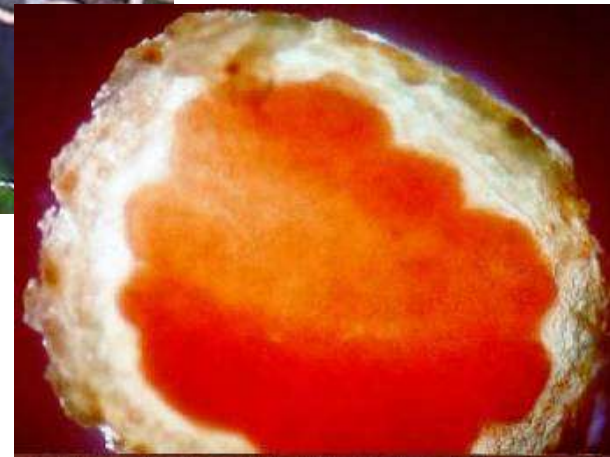
žije obvykle v symbioze s pseudomonádami,

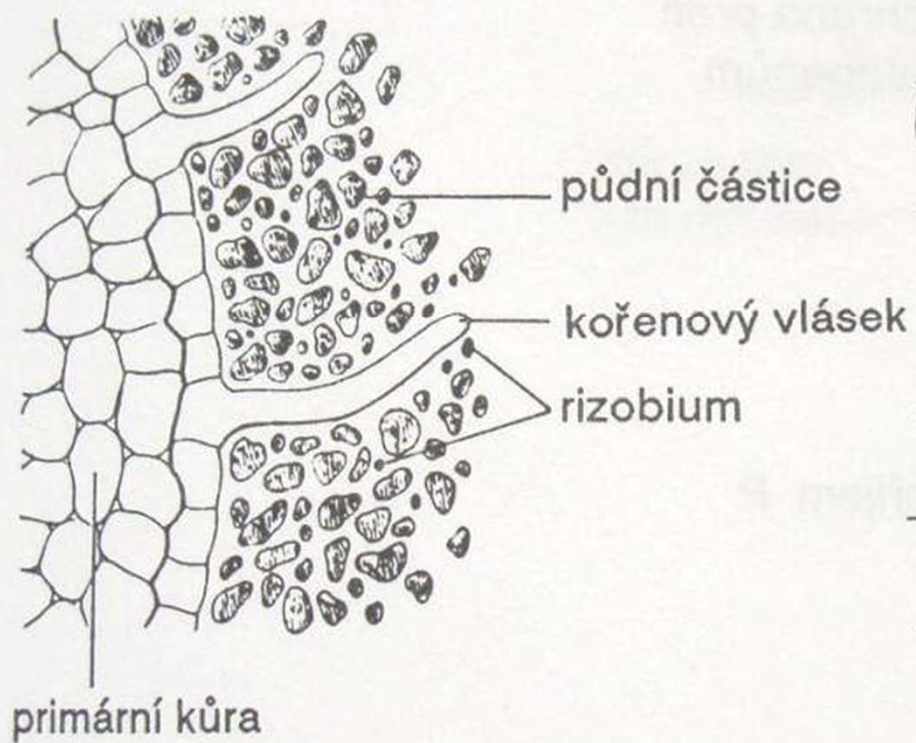
Symbiózu mezi bakteriemi fixujícími molekulární dusík a rostlinami lze rozdělit na následující typy:

- a) **nodulující symbiózu,**
- b) **nenodulující symbiózu a**
- c) **asociativní symbiózu.**

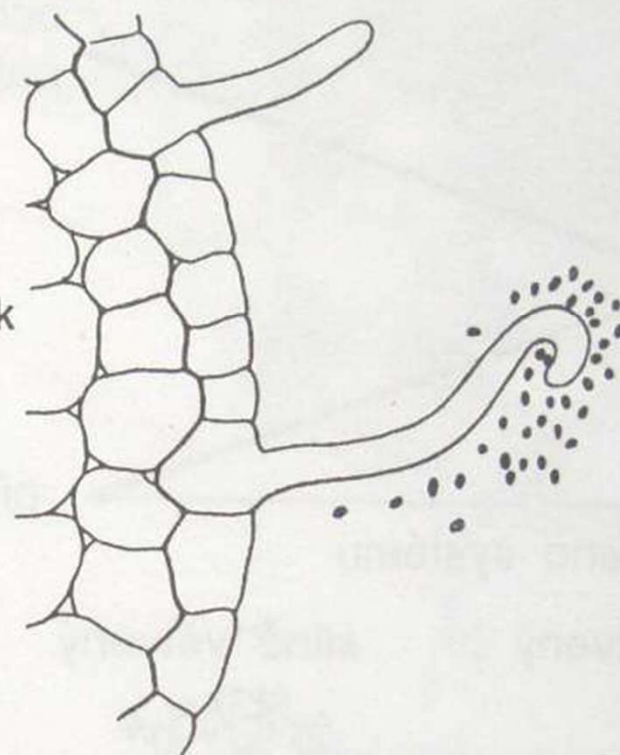
Fixace vzdušného dusíku - symbiotická

Leghemoglobin- v hlízkách bakterií rodu *Rhizobium* má pyrolovou povahu a obsahuje Fe



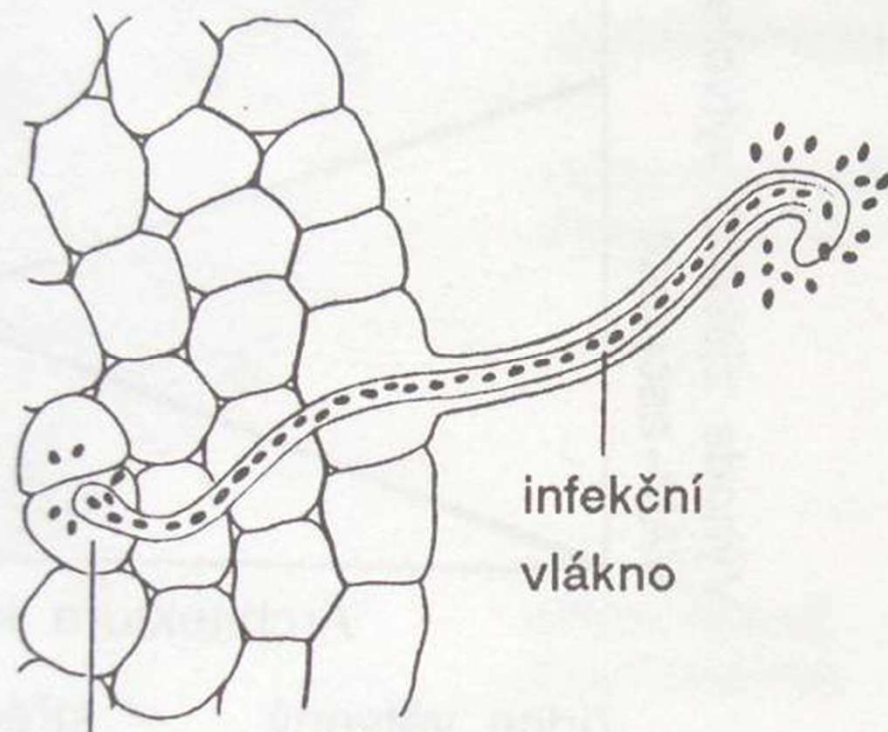


a



b

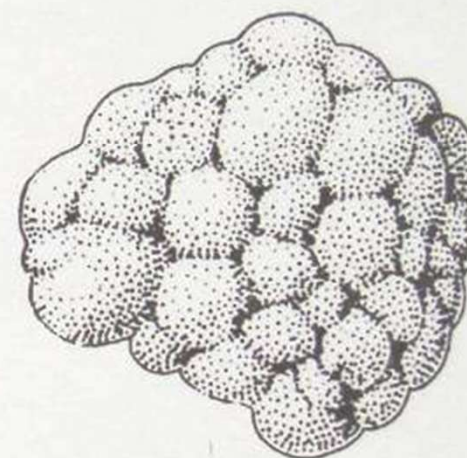
Obr. 7.3 Tvorba hlízky u sóji. (a), (b) Bakterie rodu *Rhizobium* se shromažďují v kořeni, které vyvolávají dělení buněk kořene a vznik hlízky. (d) Hlíзка. (Převzat



infekční
vlákno

dělicí se buňky
primární kůry

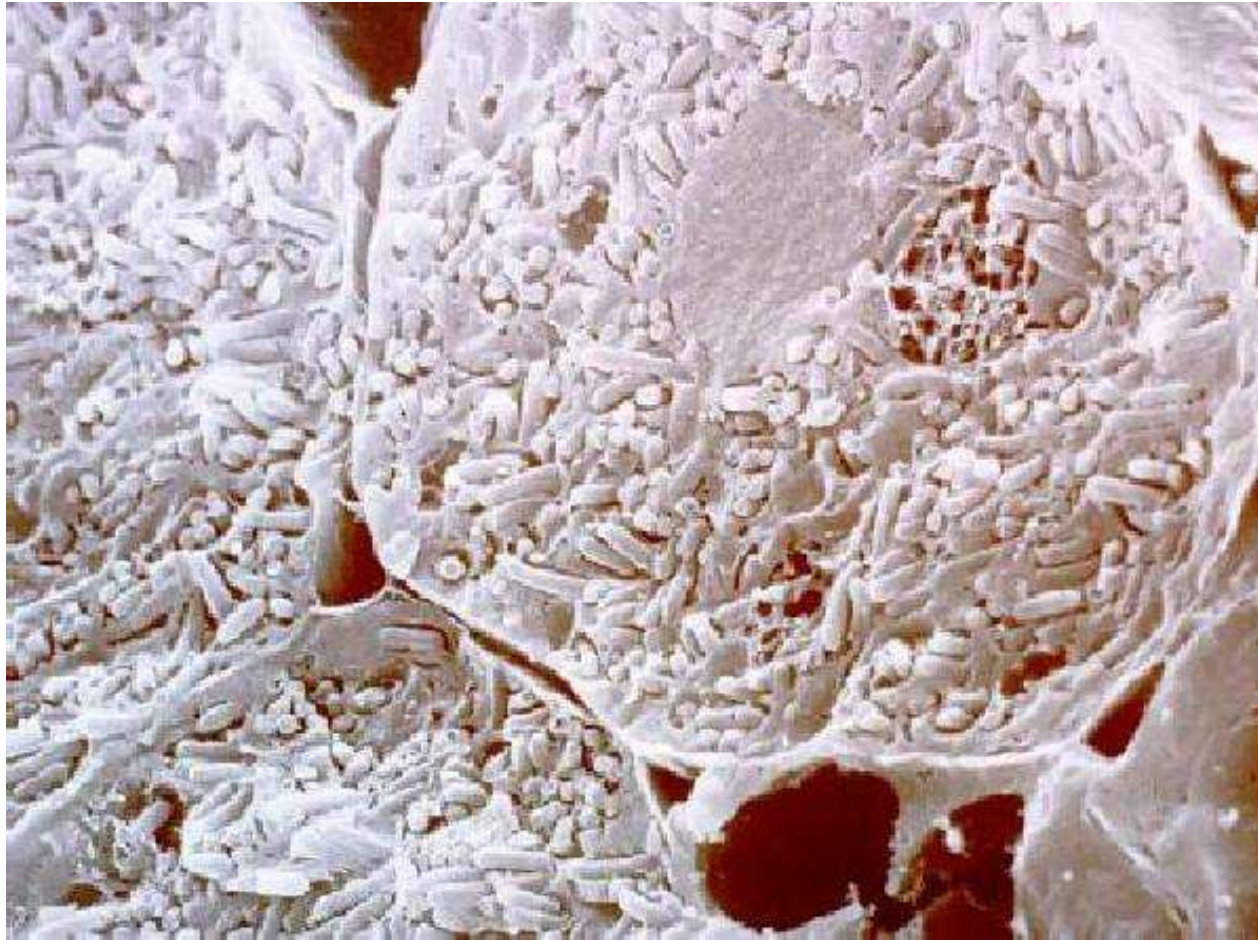
c



hlízka

d

žďují v okolí kořenového vlásku. (c) Infekční vlákno s bakteriemi,
ato ze Salisburyho a Rosse 1991.)



Scanning electron micrograph of an infected cell. The rod-like structures are the micro-symbiont, *Bradyrhizobium japonicum*. There may be up to 20,000 individual bacteroids in an infected cell!



Transmission electron micrograph of an infected cell. Bacteroids appear as either dark circles or as rods depending on whether they were sectioned transversely or longitudinally, respectively. Bacteroids are grouped in units of three or four, which comprise a symbiosome. The symbiosome is separated from the host-cell cytosol by the symbiosome membrane that was derived from the infection thread. An uninfected cell is in the lower left hand corner of the micrograph

Cyklus dusíku

Aminokyseliny jsou důležitými sloučeninami všech živých organismů ($-\text{NH}_2$ skupiny; bílkoviny).

Dusík ve třech formách:

- plynný jako prvek N_2
- v redukované podobě jako amoniak NH_3
- v oxidované podobě jako dusičnanový NO_3^- ion

Pouze jako **redukováný** se zúčastňuje biochemických reakcí. N_2 nemůže být přímo využíván organismy. Největším rezervoárem dusíku je atmosféra: 78 %

Cyklus dusíku

Člověk:

- spalování paliv (vznik NO za vysokých teplot z N_2 a O_2), ten se dále oxiduje na NO_2 a s vodou tvoří HNO_3 (kyselý déšť)
- N_2O (skleníkový plyn) uvolňován bakteriemi ze zemědělských odpadů
- uvolňování z půdy zavlažováním, vypalováním pralesů
- hnojení a komunální odpad (sinice)

Cyklus dusíku

Mikroorganismy jsou naprosto stěžejní:

- 1) kromě sinic a symbiotických bakterií nedovedou organismy poutat N_2
- 2) zpětné uvolňování dusíku do atmosféry
- 3) transformace forem dusíkatých sloučenin

AKTÉRIE A PROCESY ZÚČASTNĚNÉ NA KOLOBĚHU DUSÍKU.						
Fixace dusíku			Oxidace sloučenin dusíku (tvorba dusitanů a dusičnanů)		Redukce dusičnanů (tvorba amoniaku a denitrifikace)	
Nesymbiotické bakterie (volně žijící bakterie)		Symbiotické bakterie (žijící symbioticky s vřkovitými rostlinami)	Nitrobacteraceae	Jiné bakterie oxidující NO_2^- na NO_3^-	Bakterie způsobující amonifikaci bílkovin a denitrifikaci, využívající NO_2^- a NO_3^- jako akceptory vodíku	
Azotobacteraceae	Jiné bakterie		Oxidace			
			NH_3 na NO_2^-	NO_2^- na NO_3^-		
Azotobacter Azomonas Beijerinckia Derxia	Enterobacter Nocardia Clostridium Rhodospirillales	Rhizobium	Nitrosomonas Nitrosococcus Nitrosolobus	Nitrobacter Nitrospina Nitrococcus	Nocardia Streptomyces	Thiobacillus denitrificans Pseudomonas stutzeri Některé druhy rodu Bacillus aj.

Cyklus dusíku

Mineralizace dusíkatých látek

Má dva kroky:

amonifikace

množství mikroorganismů; organický N je mineralizován na NH_4^+ hlavní zdroj dusíku pro rostliny a mikroorganismy

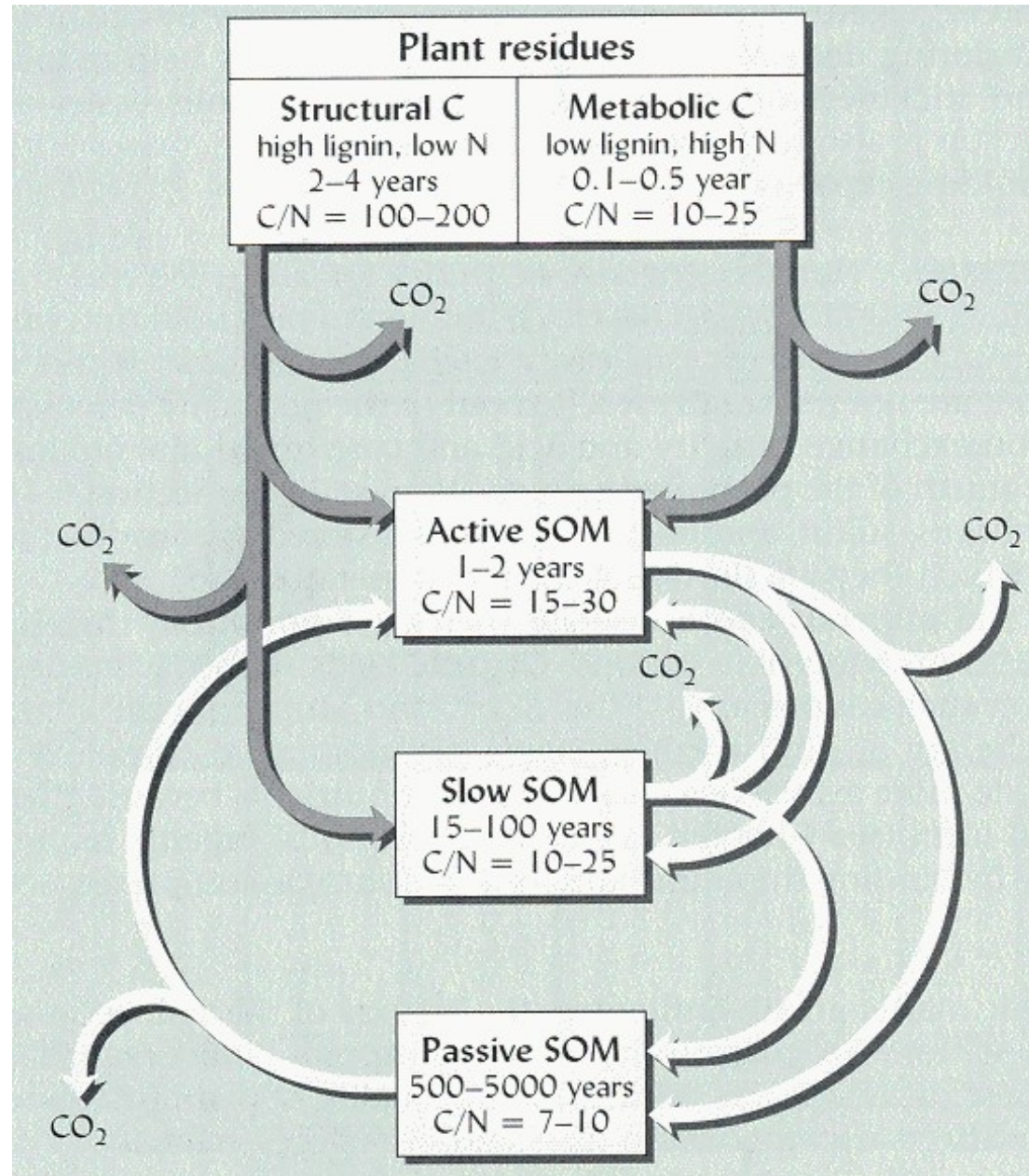
nitrifikace

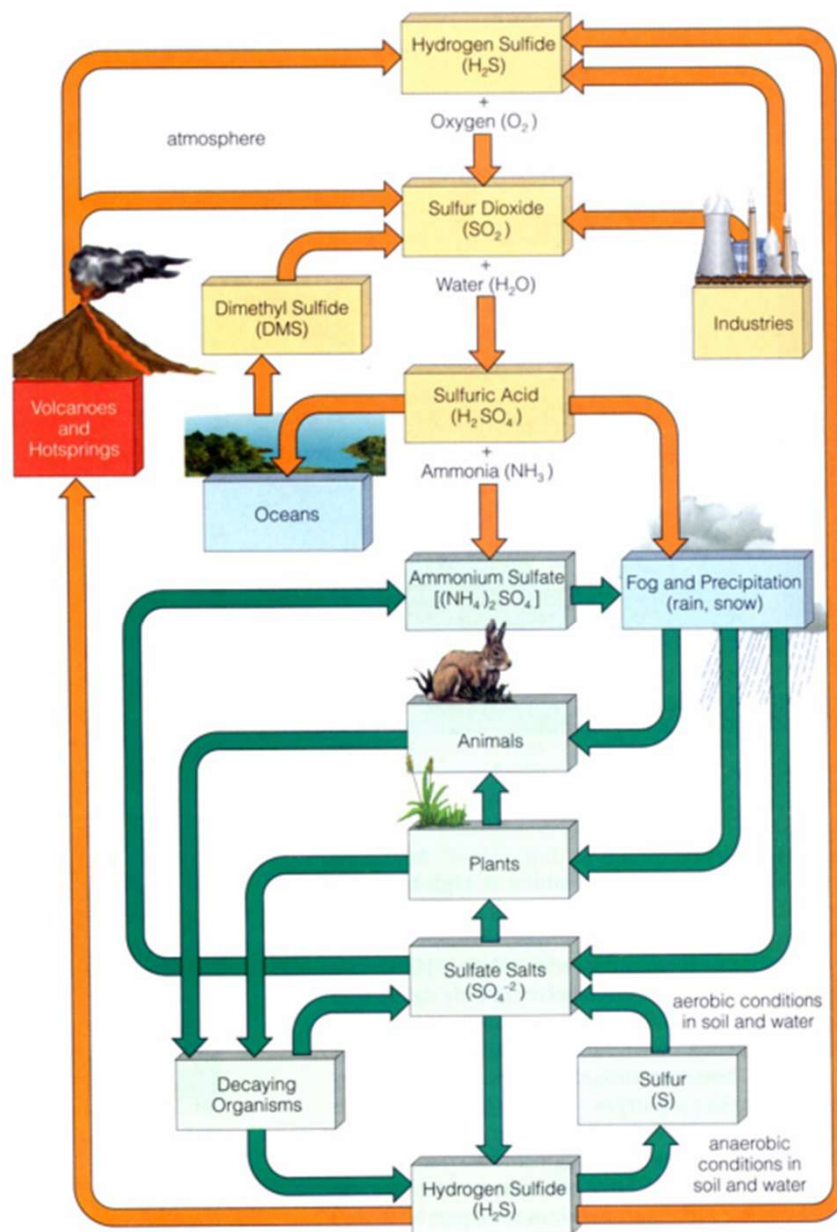
menší množství autotrofních bakterií;



mineralizace N je funkcí teploty, vlhkosti, provzdušnění, typu dusíkatých organických látek v prostředí a také pH

NH_4^+ se v půdě váže na částice × NO_3^- se z půdy vymývá





Cyklus síry

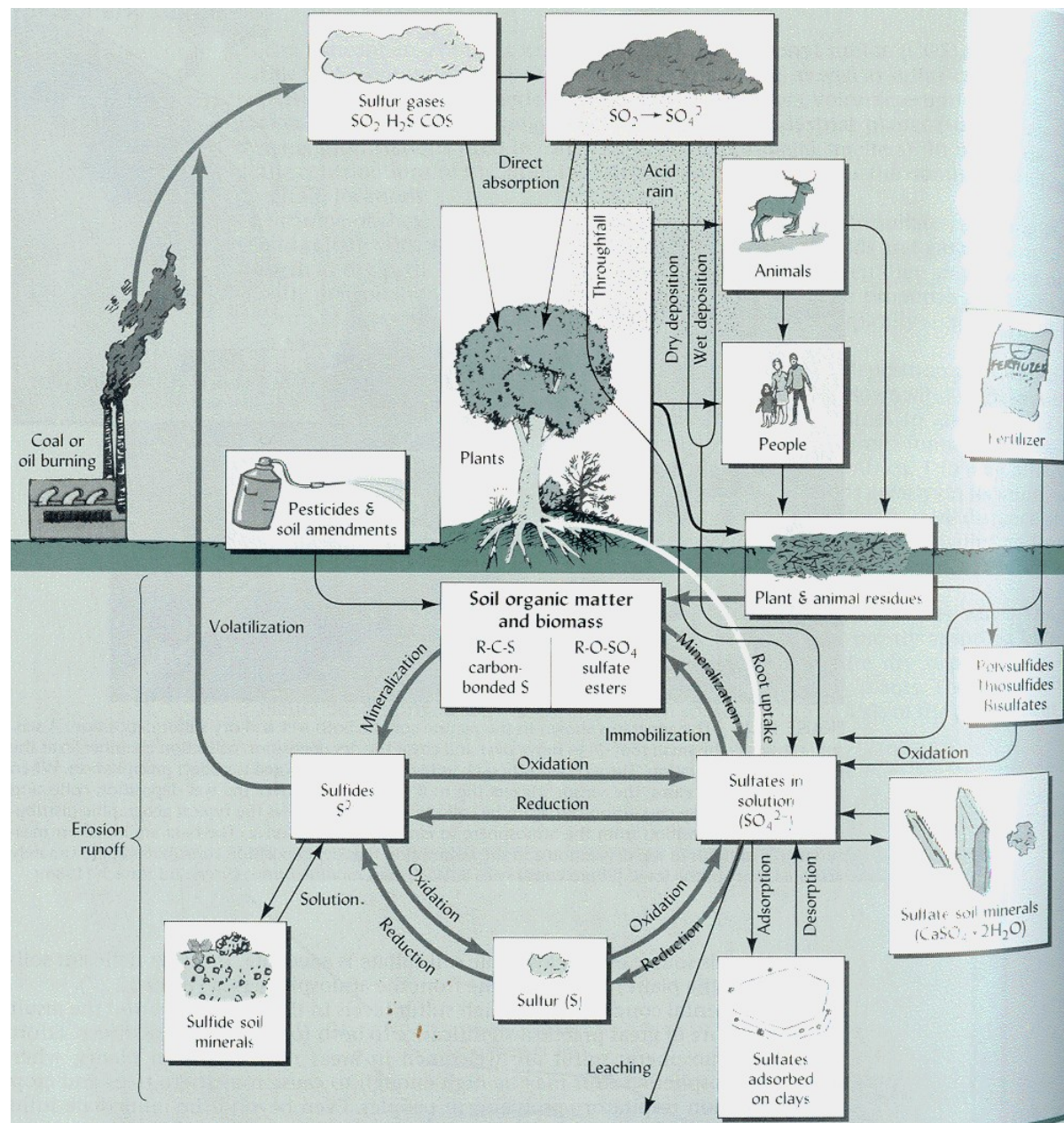
Většina síry vázána minerálně (pyrit, sádrovec).

- H_2S a SO_2 uvolňován z aktivních vulkánů
- rozkladem organické hmoty
- SO_4^{2-} do atmosféry tříštěním slané vody
- DMS (dimethylsulfoxid) uvolňován do atmosféry planktonem

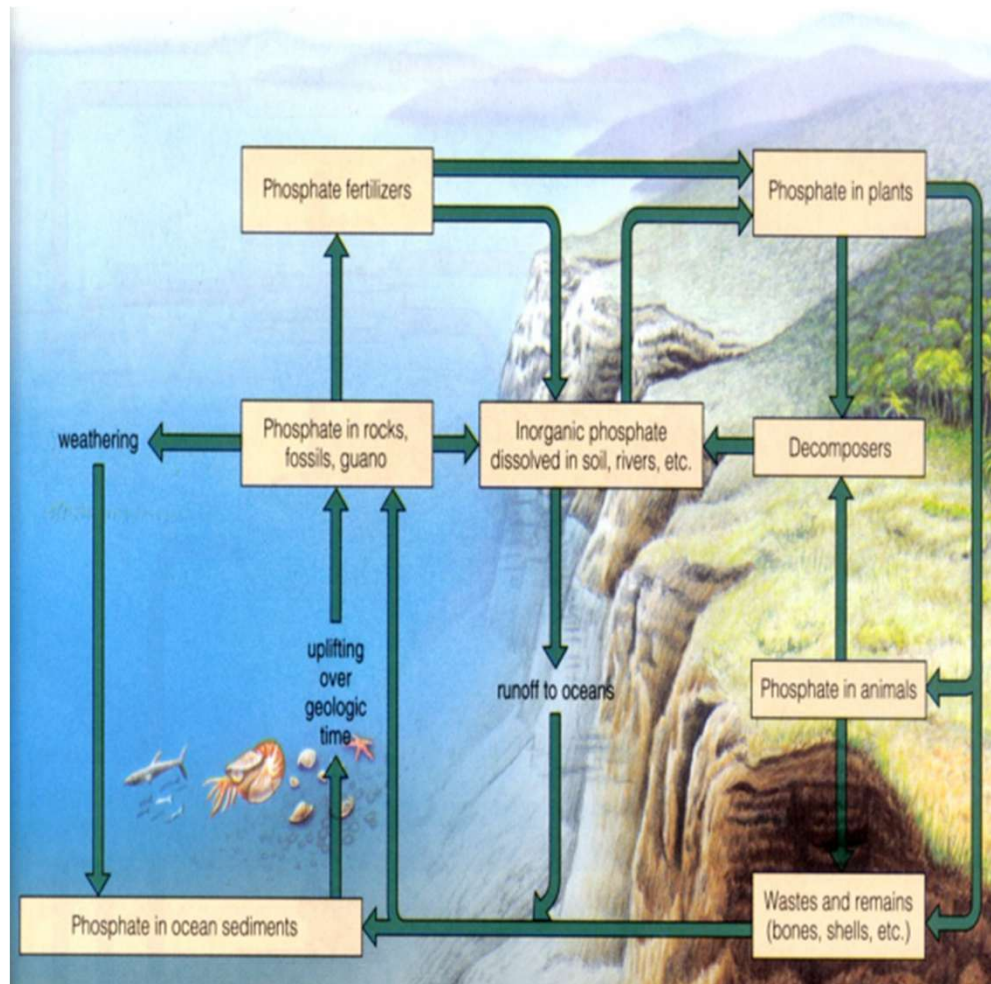
Člověk: kolem 1/3 z celkového množství síry do atmosféry (99 % SO_2)

- spalování fosilních paliv (2/3)
- zpracování ropy, minerálních zdrojů

Cyklus síry



Cyklus fosforu



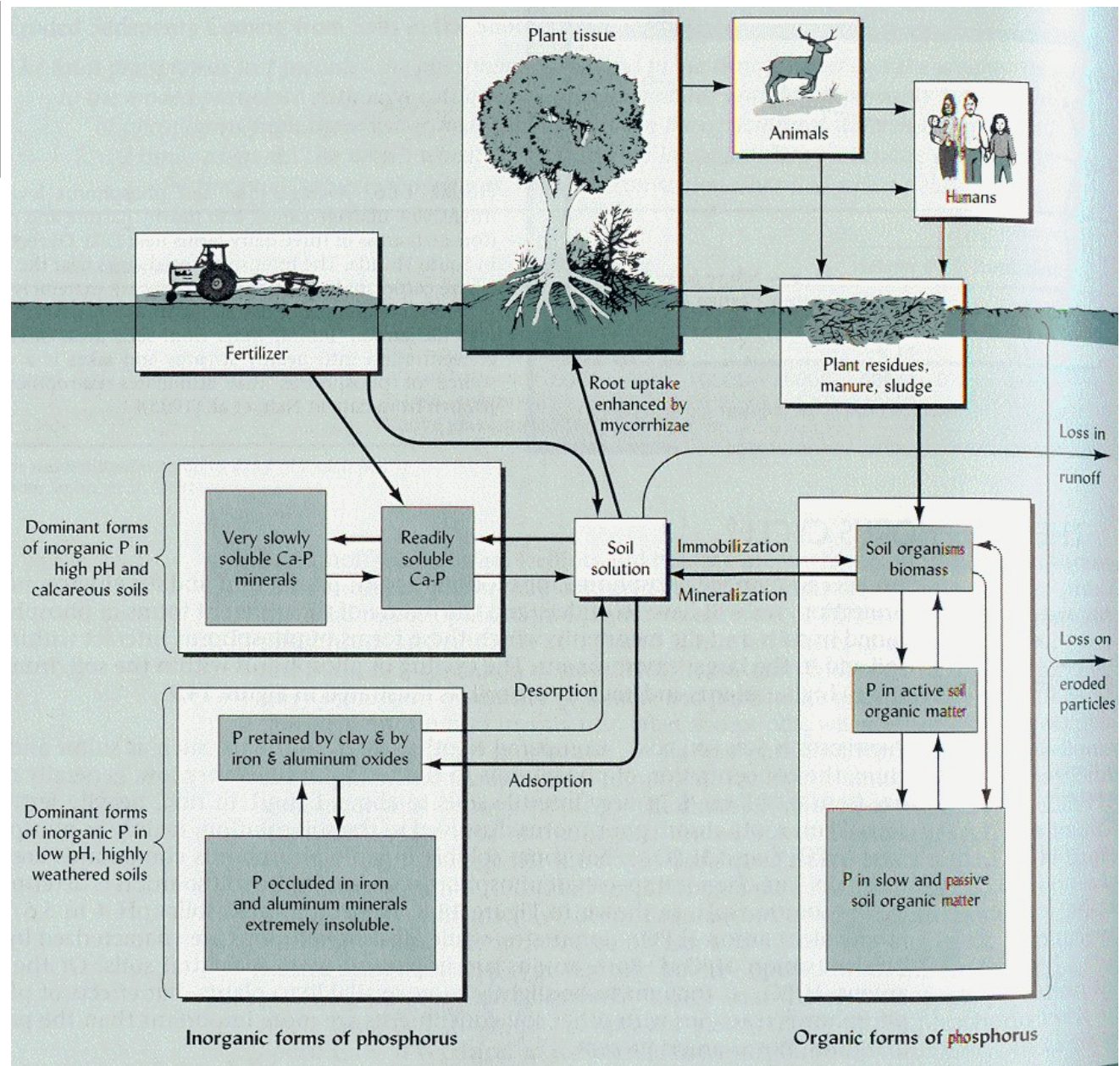
Důležitá složka RNA, DNA a přenašečů energie (ADP, ATP)

- fosfor se jen pomalu uvolňuje z hornin (apatit ...)
- nevstupuje do atmosféry
- je většinou limitujícím faktorem růstu rostlin

Člověk:

- hnojiva a prací prostředky
- zemědělské a komunální odpady

Cyklus fosforu



Cyklus kyslíku

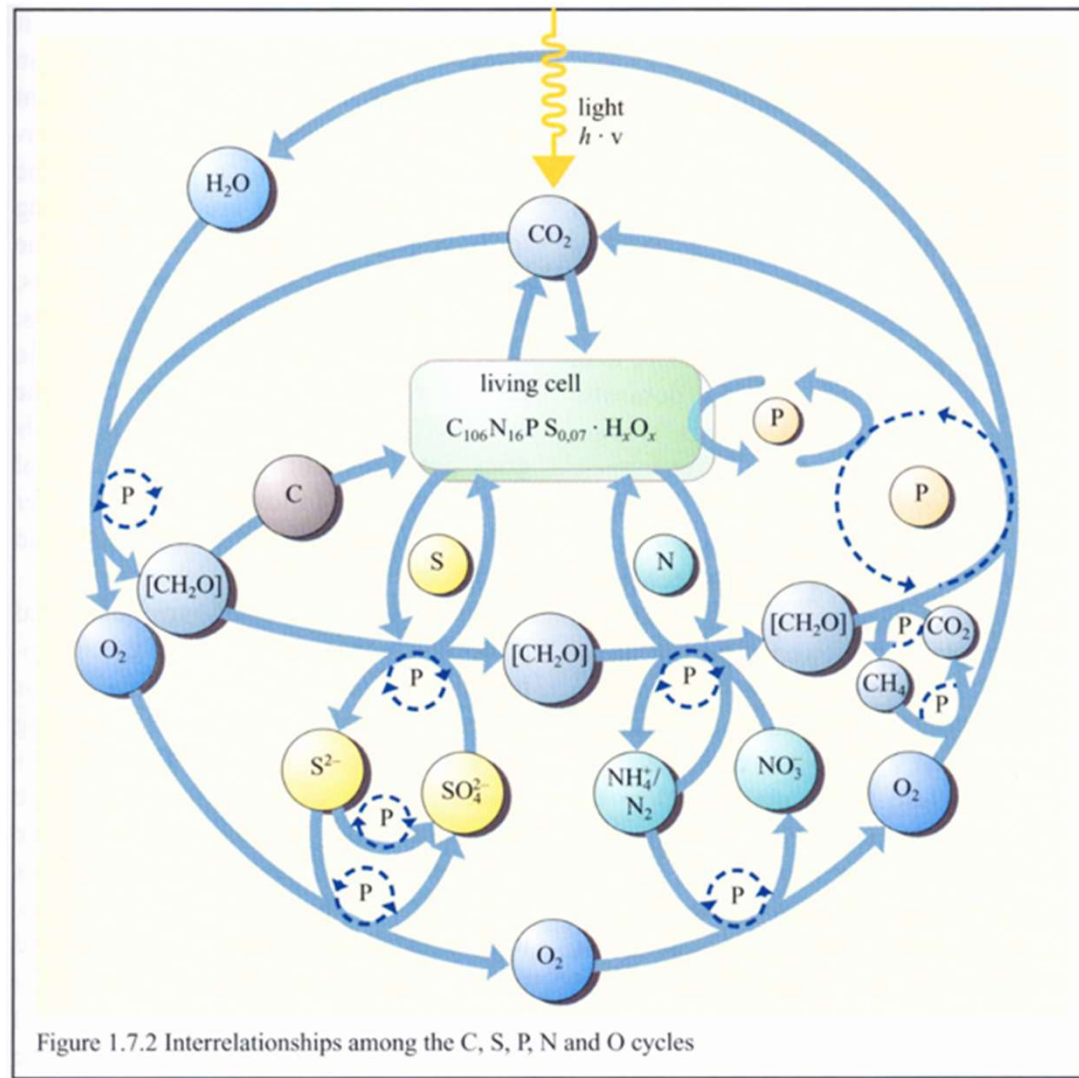
Stabilita atmosféry:

Obsah O_2 v atmosféře v porovnání s obsahem CO_2 je stabilnější.

Biologický zpětně vazebný mechanismus (kontrola tlaku O_2 v atmosféře):

- **nárůst koncentrace kyslíku** – nárůst parciálního tlaku kyslíku – inhibice fotosyntézy
- **nárůst koncentrace oxidu uhličitého** – nárůst parciálního tlaku CO_2 – vyšší rychlost fotosyntézy, zvětšuje se rostlinná složka biosféry, větší fytohmota více respiruje – roste koncentrace O_2 , klesá produkce O_2 , roste koncentrace CO_2 , zvyšuje se rychlost fotosyntézy

Vztahy mezi cykly C, S, P, N a O



Aeromicrobiology (Maier)

The air is a hostile environment, yet it is the medium through which many pathogens are dispersed!

Die-off of air born microbes:

$$X_t = X_0^{-kt}$$

k – inactivation coefficient. Depends on the type of microbe and environmental conditions.

Factors contributing to k:

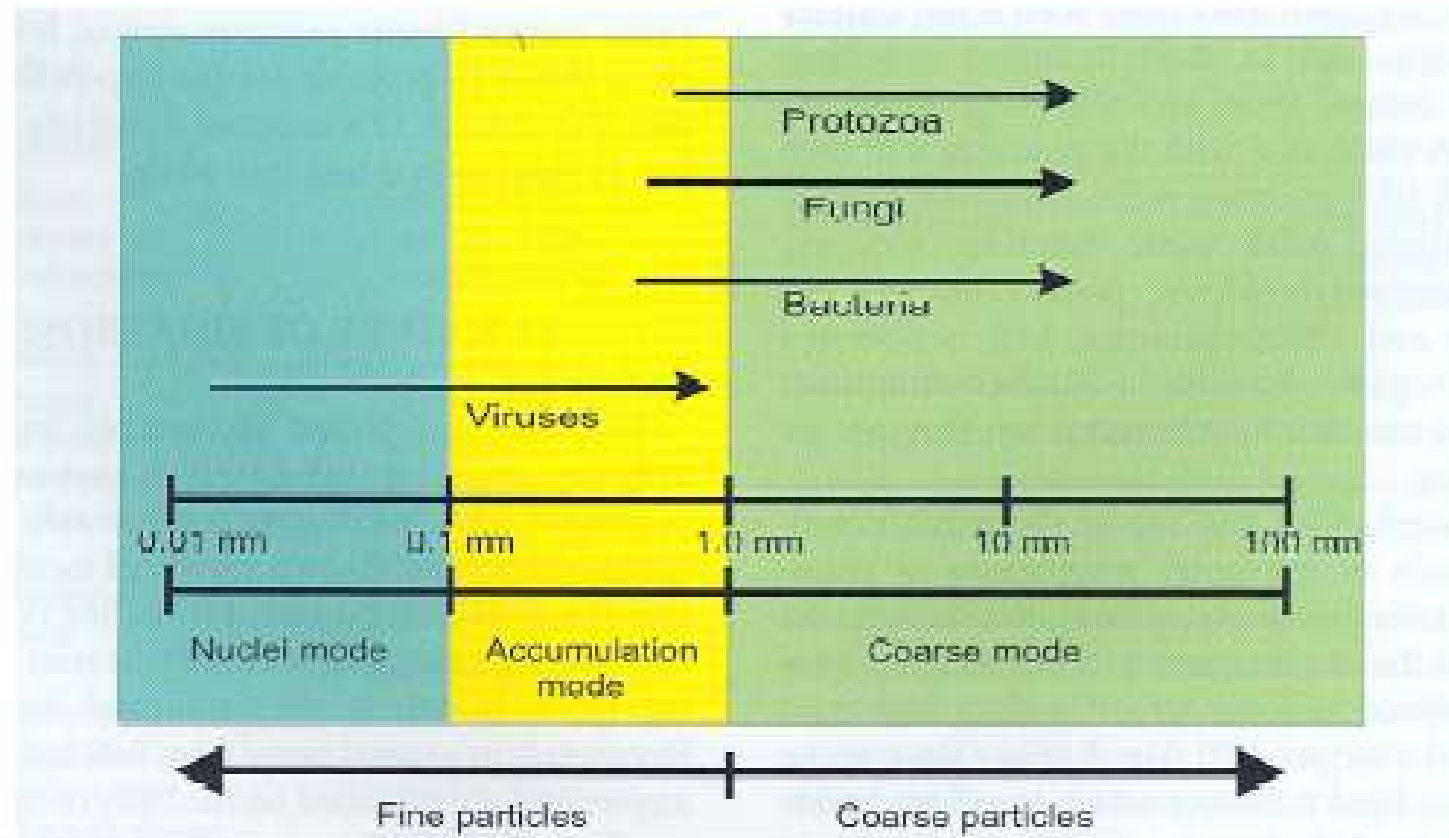
- Relative humidity
- Temperature
- Radiation

Protection by association with particles, pigmentation, cloud cover, DNA repair

- O₂ radicals
- Open air factors
- Ions

Microbes reach the air by **aerosolization**

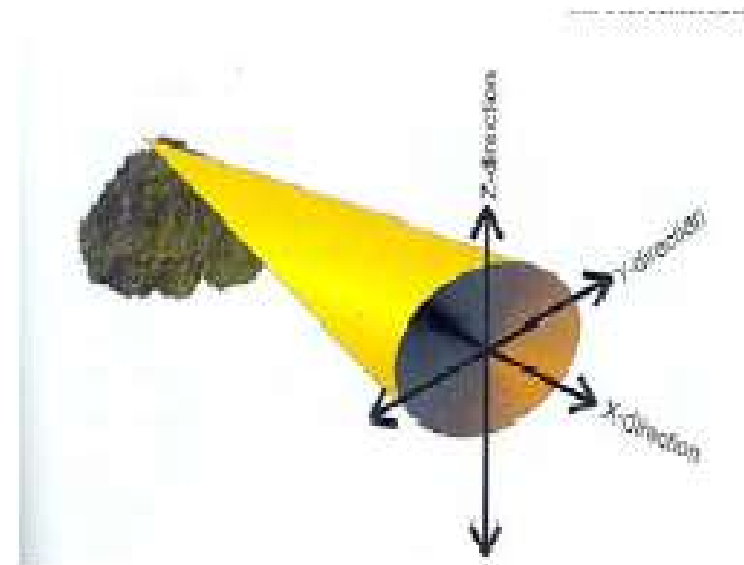
Depends on type of organisms, particles and gaseous phase



Transport	Time	Distance
Submicroscale	<10 min	<100 m
Microscale	10 – 60 min	100 m – 1 km
Mesoscale	Days	1 – 100 km
Macroscale	<Days	>100 km

But global distribution of pathogens

Depend on diffusion and wind velocity



III. Deposition

Mostly, Gravitational: Stokes law: Terminal velocity of a particle depends on its size, density, gravity, and the air viscosity.

Air sampling – Simulation of breathing (particle size [0.8 – 15 μm], air flow and velocity)

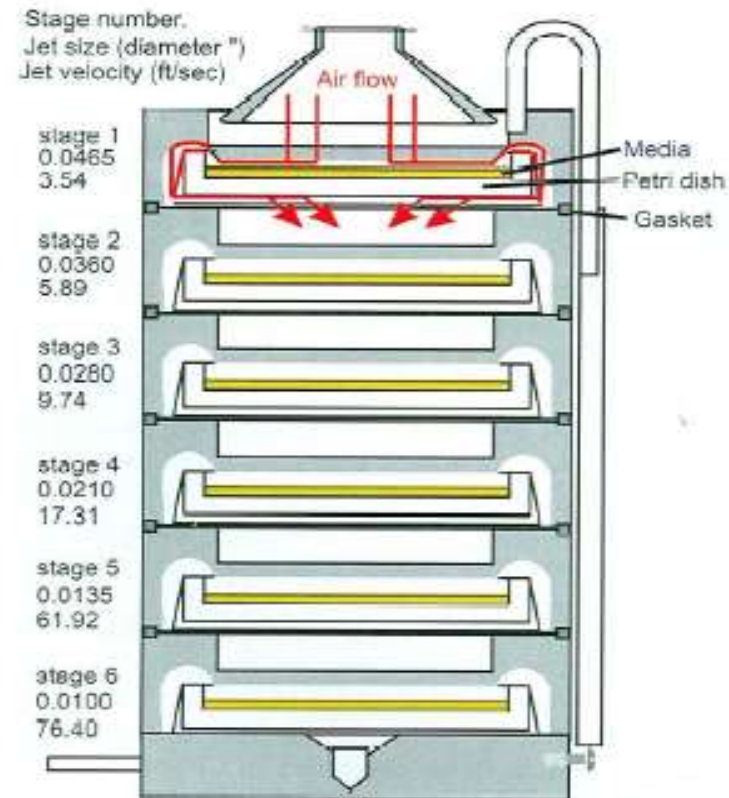
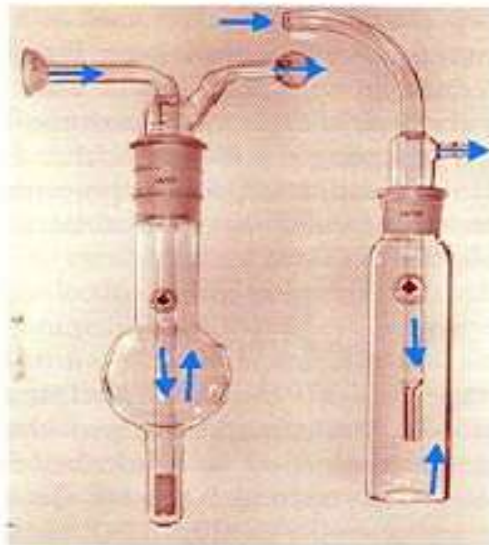
Impingement – trapping in liquid, e.g., AG-30

Impaction – deposition on solid surface, e.g., Anderson six-stage sampler

Centrifugation

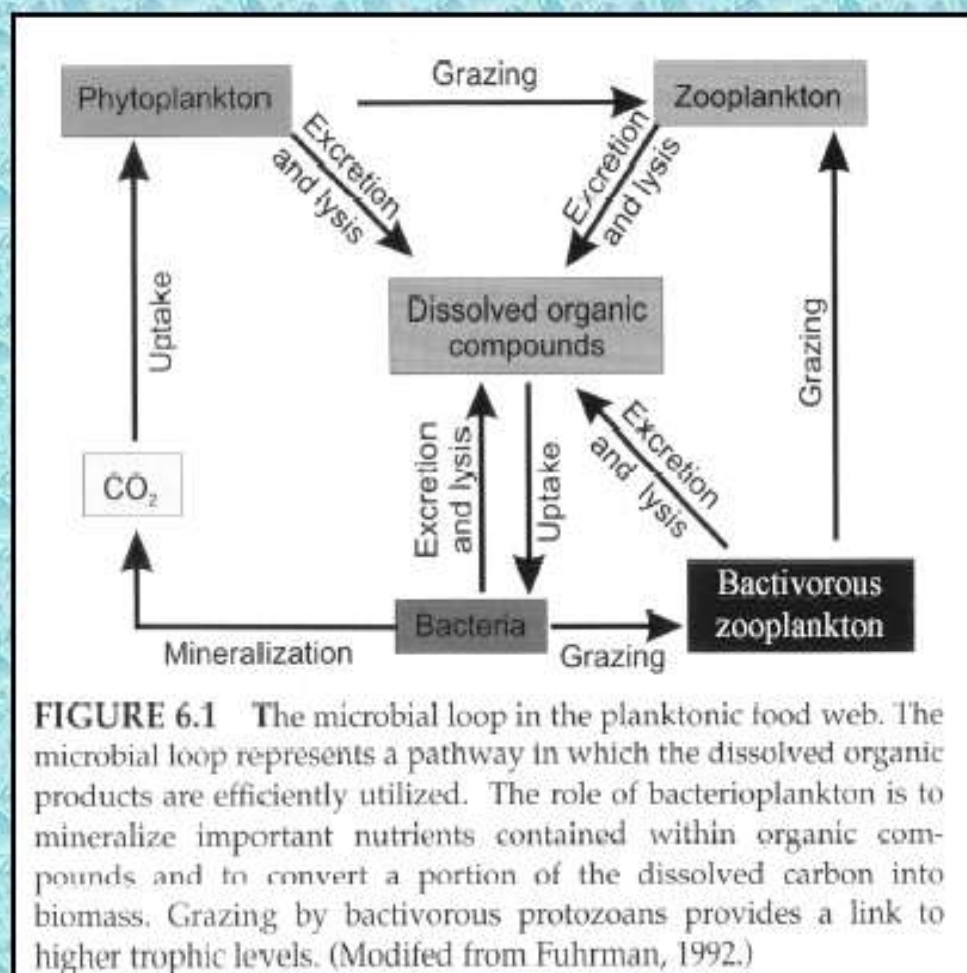
Filtration

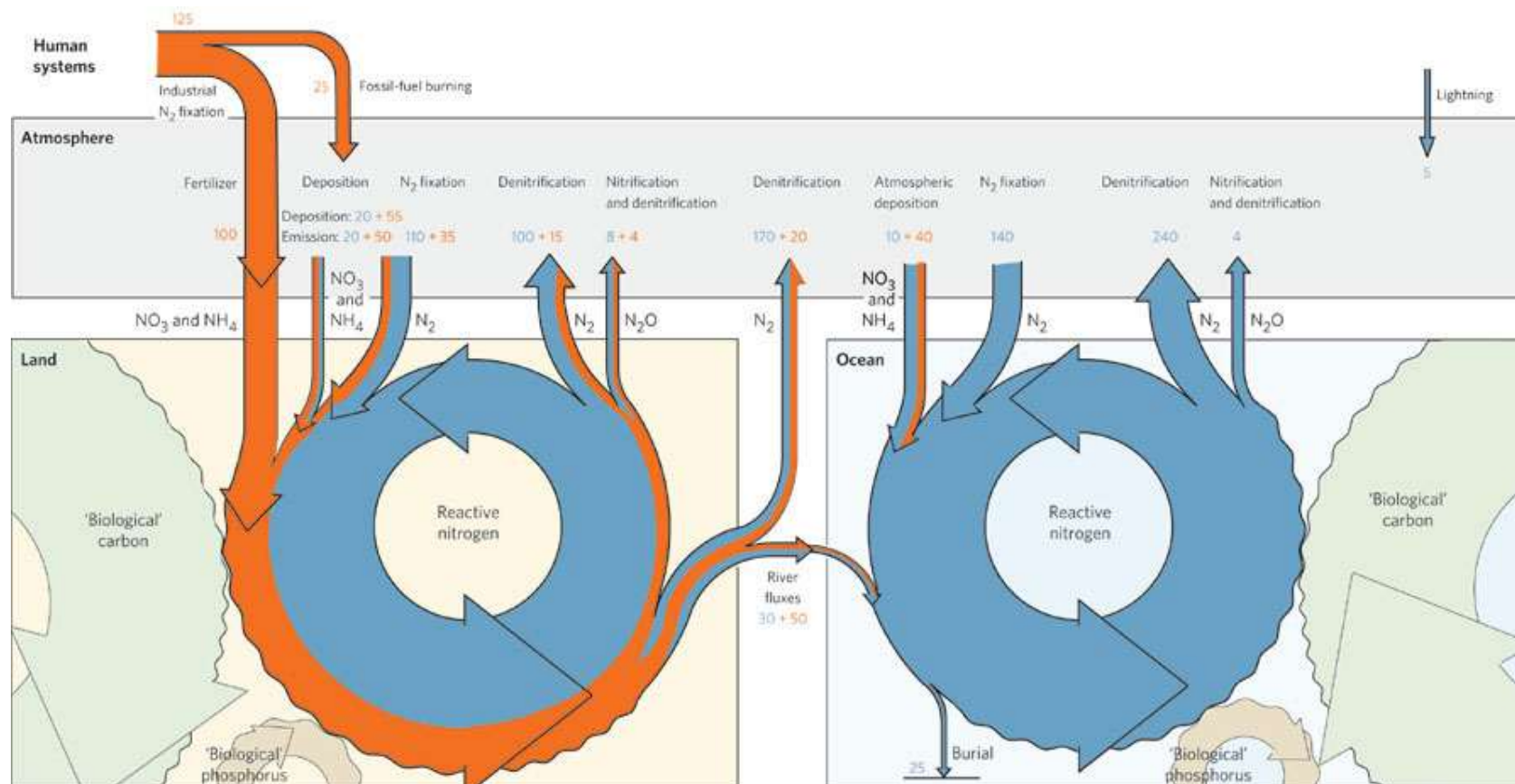
Deposition – passive collection



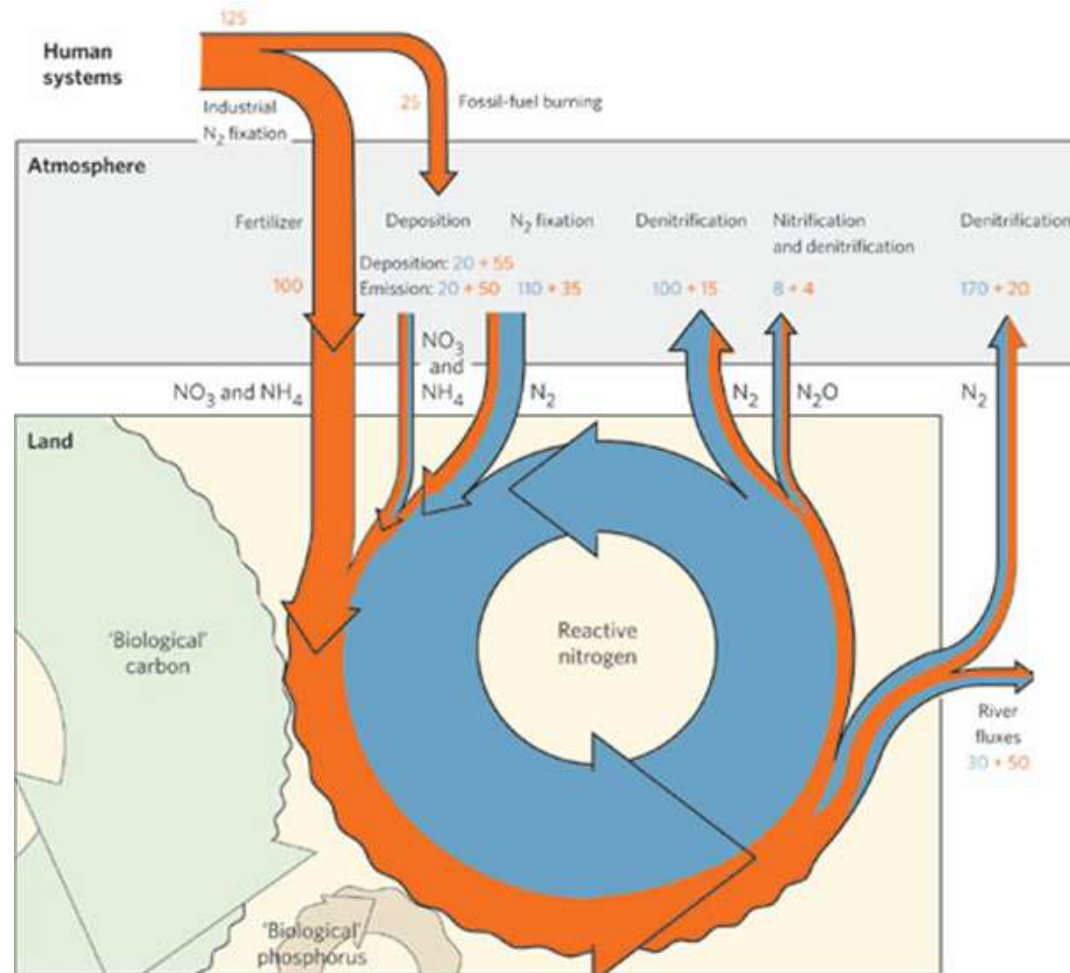
Opět specifika daná akvatickým prostředím

- hlavní rozdíl je, že v akvatických ekosystémech zastávají mikroorganismy také roli producentů (i tzv. heterotrofni producenti - microbial loop)

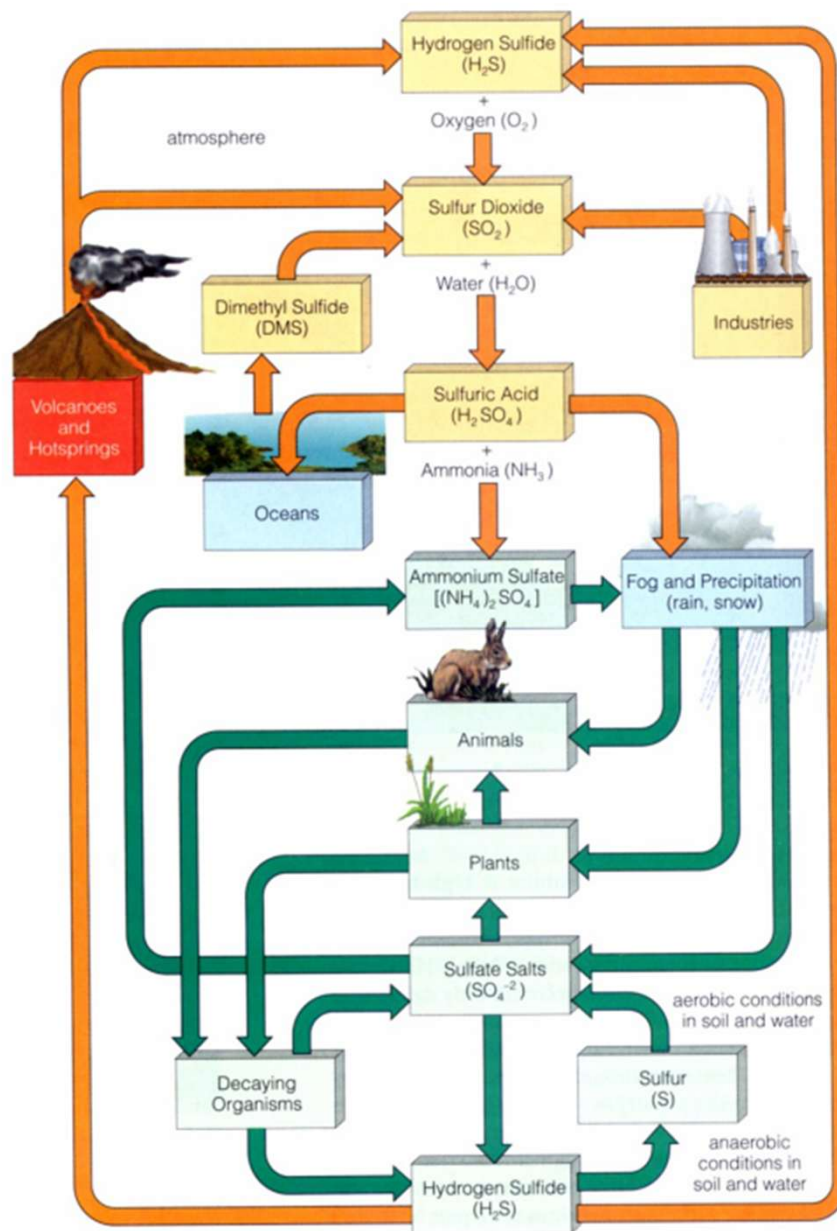




Dominantní procesy přeměn molekulárního dusíku na reaktivní dusík a zpět (Erisman et al., 2008). Zřetelné je těsné spojení mezi cykly uhlíku, dusíku a fosforu v půdě a na dně oceánu. Modře jsou označeny přírodní toky, oranžově antropogenní narušení nebo přesněji navýšení toků.



Detailnější pohled na terestrickou část procesů přeměn molekulárního dusíku na reaktivní dusík a zpět. Číselné hodnoty (v Tg N za rok) odpovídají roku 1990. Pouze několik málo z těchto toků je známo s pravděpodobností vyšší než 20%, mnohé mají hladinu nejistoty 50% a vyšší (Erisman et al., 2008).



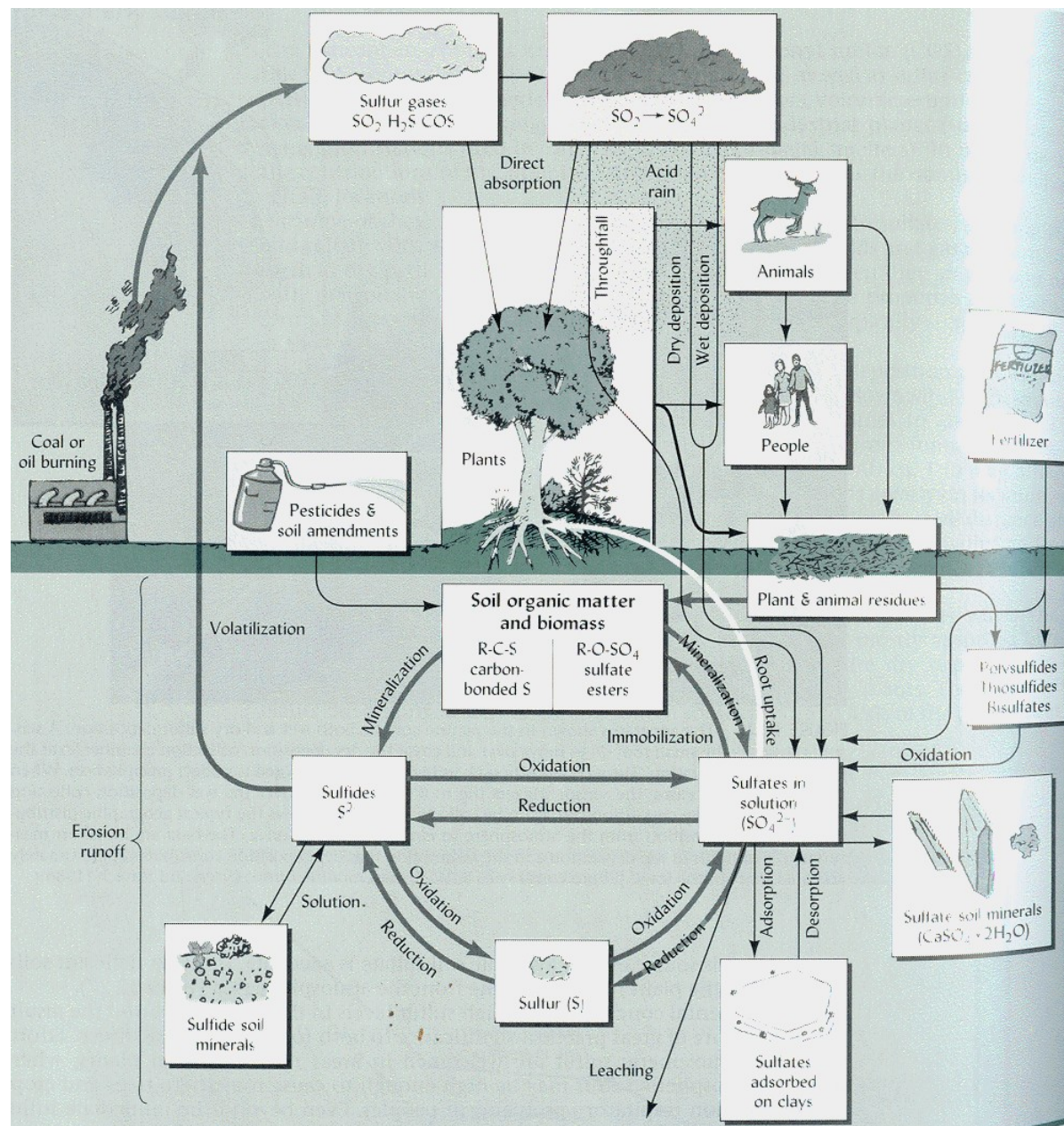
Cyklus síry

Většina síry vázána minerálně (pyrit, sádrovec).

- H_2S a SO_2 uvolňován z aktivních vulkánů
- rozkladem organické hmoty
- SO_4^{2-} do atmosféry tříštěním slané vody
- DMS (dimethylsulfoxid) uvolňován do atmosféry planktonem

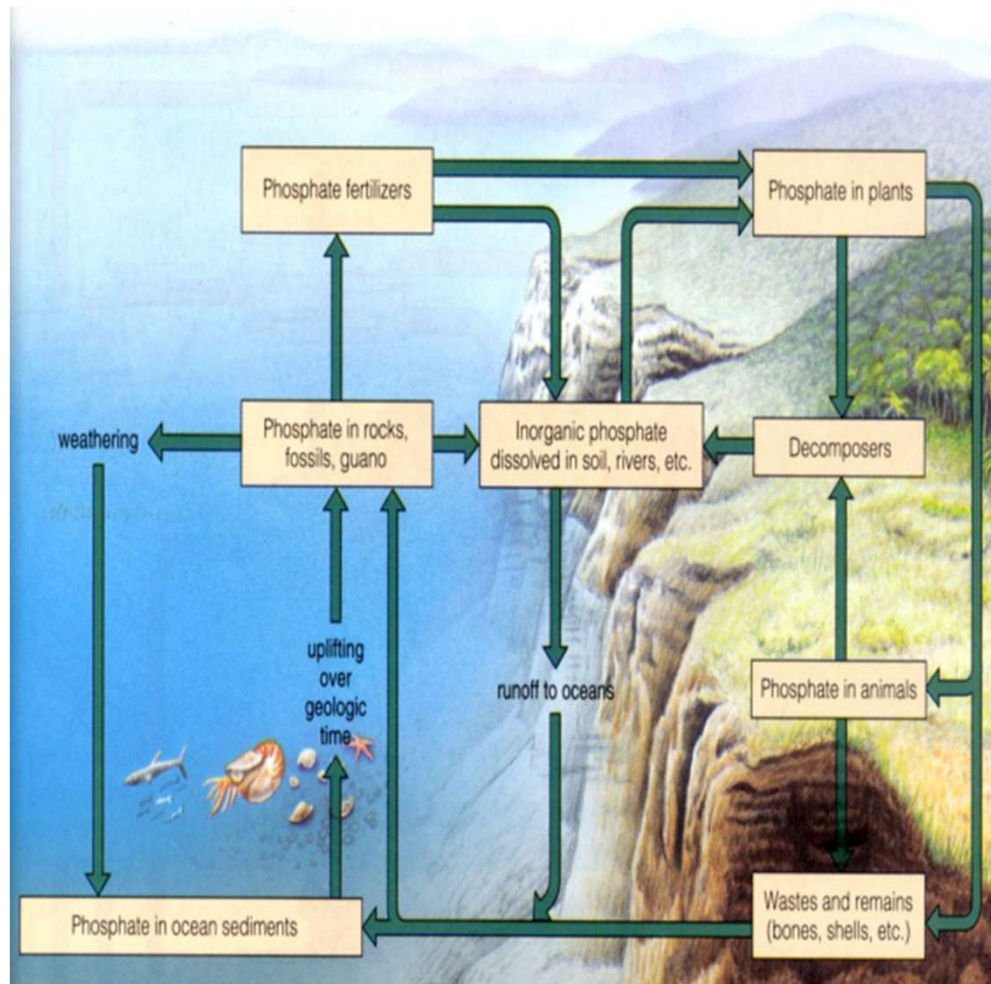
Člověk: kolem 1/3 z celkového množství síry do atmosféry (99 % SO_2)

- spalování fosilních paliv (2/3)
- zpracování ropy, minerálních zdrojů



Cyklus síry

Cyklus fosforu



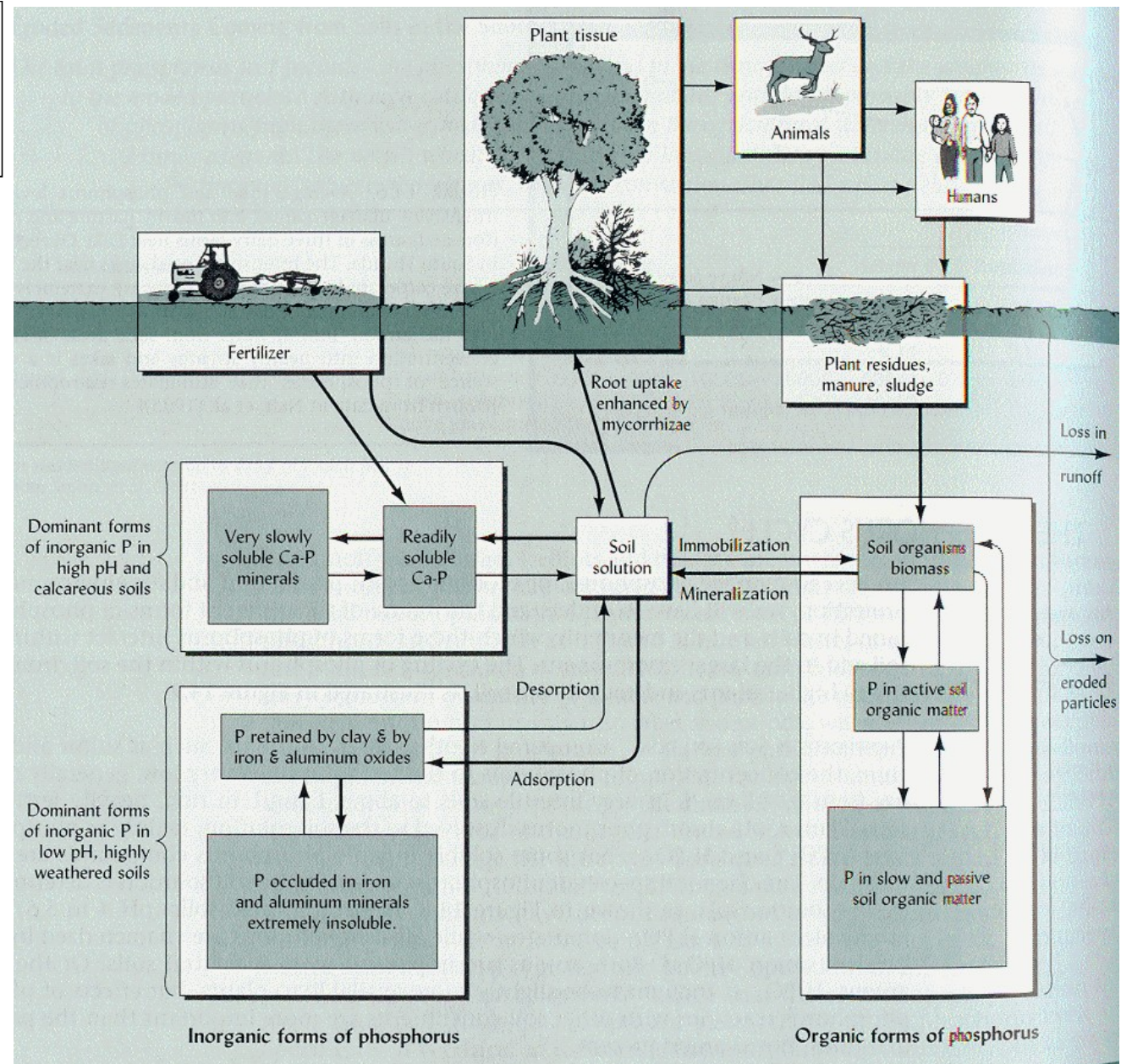
Důležitá složka RNA, DNA a přenašečů energie (ADP, ATP)

- fosfor se jen pomalu uvolňuje z hornin (apatit ...)
- nevstupuje do atmosféry
- je většinou limitujícím faktorem růstu rostlin

Člověk:

- hnojiva a prací prostředky
- zemědělské a komunální odpady

Cyklus fosforu



Cyklus kyslíku

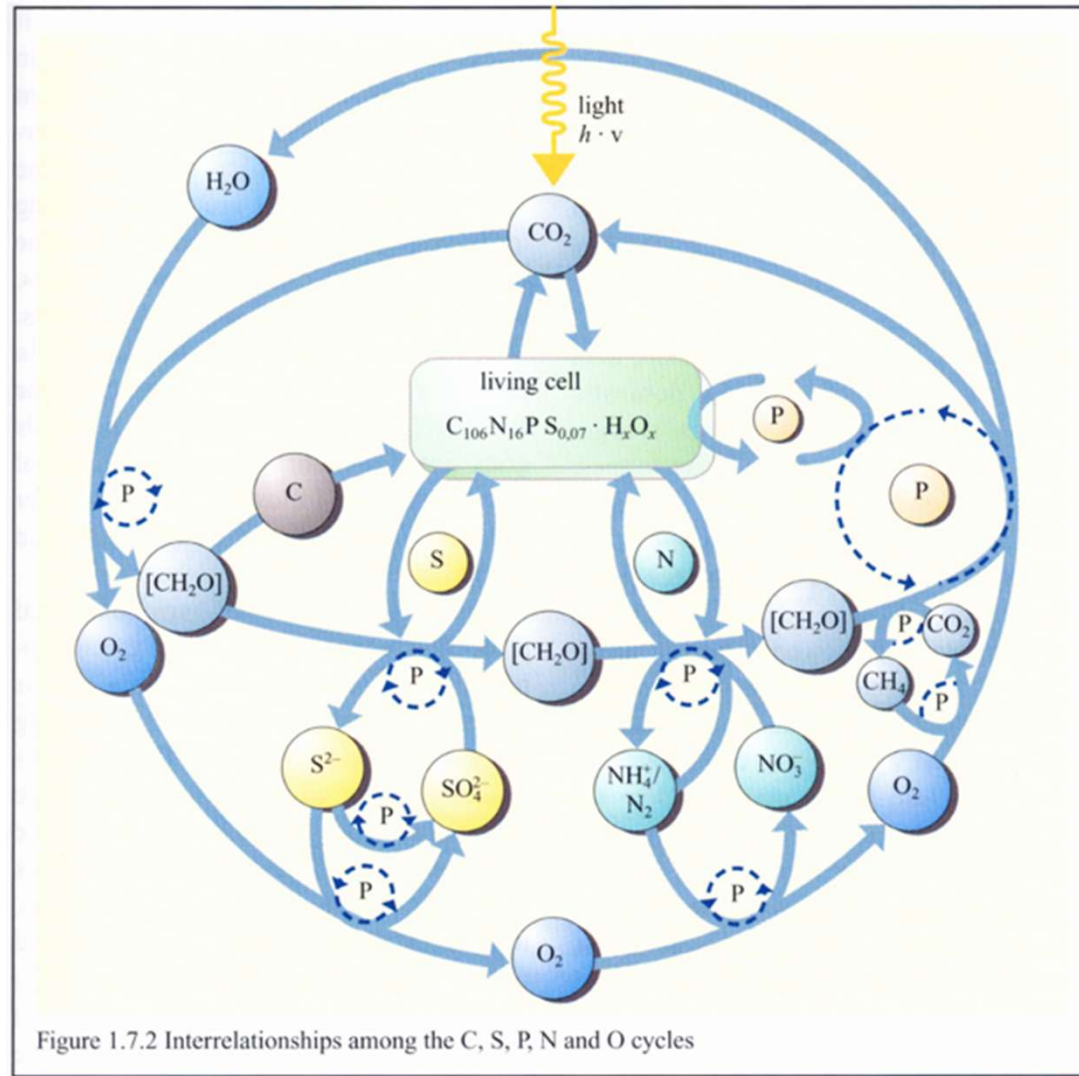
Stabilita atmosféry:

Obsah O_2 v atmosféře v porovnání s obsahem CO_2 je stabilnější.

Biologický zpětně vazebný mechanismus (kontrola tlaku O_2 v atmosféře):

- **nárůst koncentrace kyslíku** – nárůst parciálního tlaku kyslíku – inhibice fotosyntézy
- **nárůst koncentrace oxidu uhličitého** – nárůst parciálního tlaku CO_2 – vyšší rychlost fotosyntézy, zvětšuje se rostlinná složka biosféry, větší fytohmota více respiruje – roste koncentrace O_2 , klesá produkce O_2 , roste koncentrace CO_2 , zvyšuje se rychlost fotosyntézy

Vztahy mezi cykly C, S, P, N a O



Aeromicrobiology (Maier)

The air is a hostile environment, yet it is the medium through which many pathogens are dispersed!

Die-off of air born microbes:

$$X_t = X_0 \cdot e^{-kt}$$

k – inactivation coefficient. Depends on the type of microbe and environmental conditions.

Factors contributing to k:

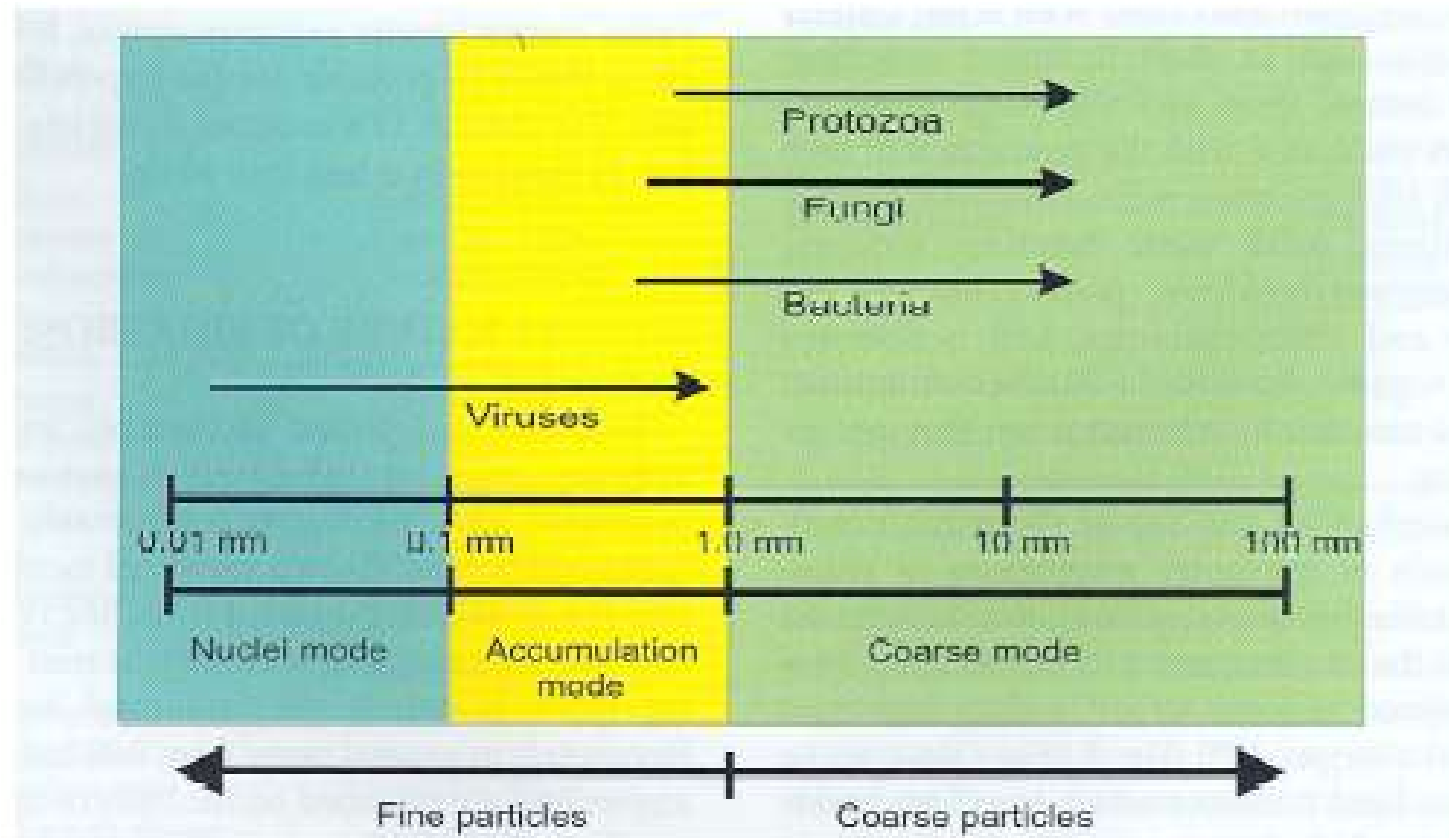
- Relative humidity
- Temperature
- Radiation

Protection by association with particles, pigmentation, cloud cover, DNA repair

- O₂ radicals
- Open air factors
- Ions

Microbes reach the air by **aerosolization**

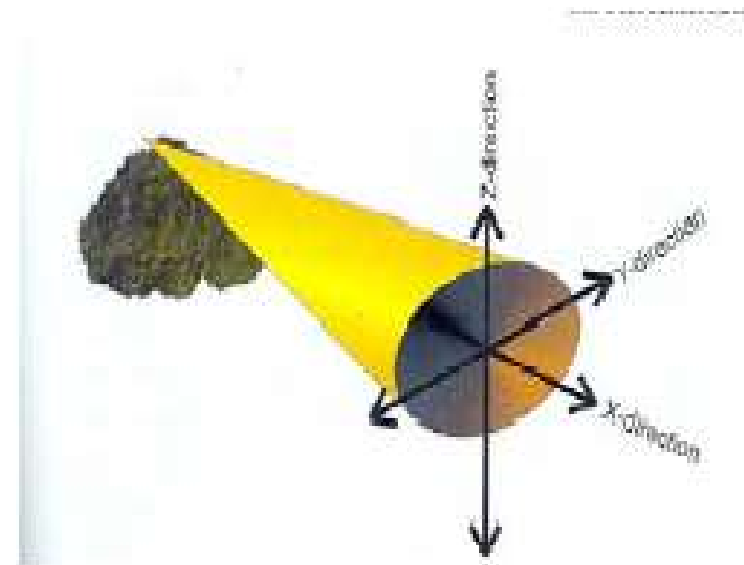
Depends on type of organisms, particles and gaseous phase



Transport	Time	Distance
Submicroscale	<10 min	<100 m
Microscale	10 – 60 min	100 m – 1 km
Mesoscale	Days	1 – 100 km
Macroscale	<Days	>100 km

But global distribution of pathogens

Depend on diffusion and wind velocity



III. Deposition

Mostly, Gravitational: Stokes law: Terminal velocity of a particle depends on its size, density, gravity, and the air viscosity.

Air sampling – Simulation of breathing (particle size [0.8 – 15 μm], air flow and velocity)

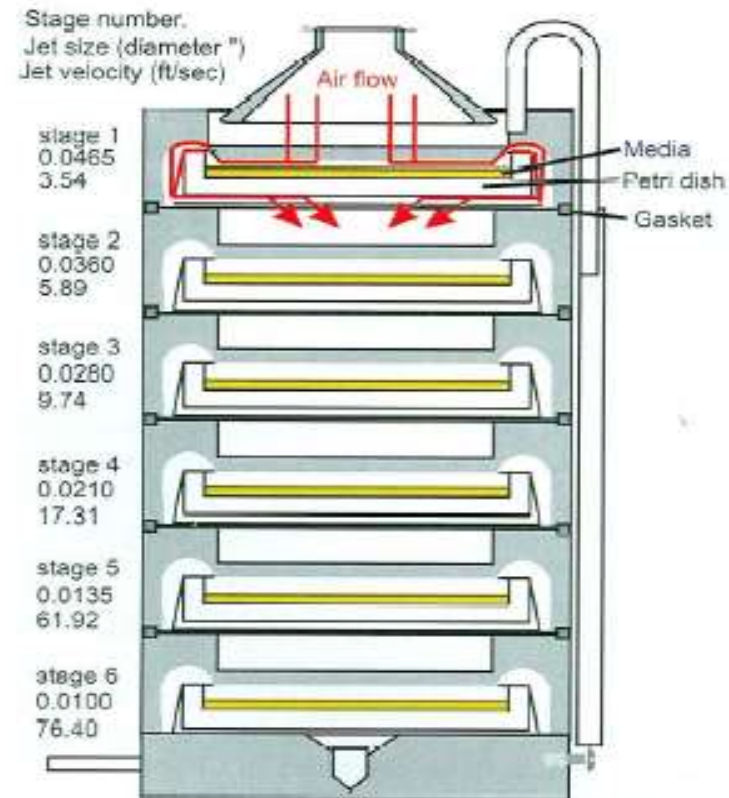
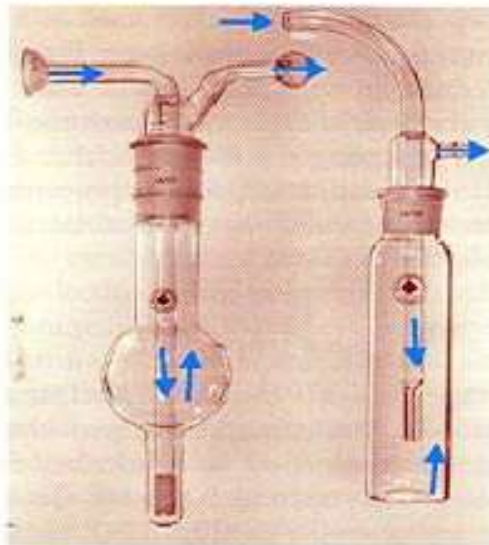
Impingement – trapping in liquid, e.g., AG-30

Impaction – deposition on solid surface, e.g., Anderson six-stage sampler

Centrifugation

Filtration

Deposition – passive collection



Opět specifika daná akvatickým prostředím

- hlavní rozdíl je, že v akvatických ekosystémech zastávají mikroorganismy také roli producentů (i tzv. heterotrofni producenti - microbial loop)

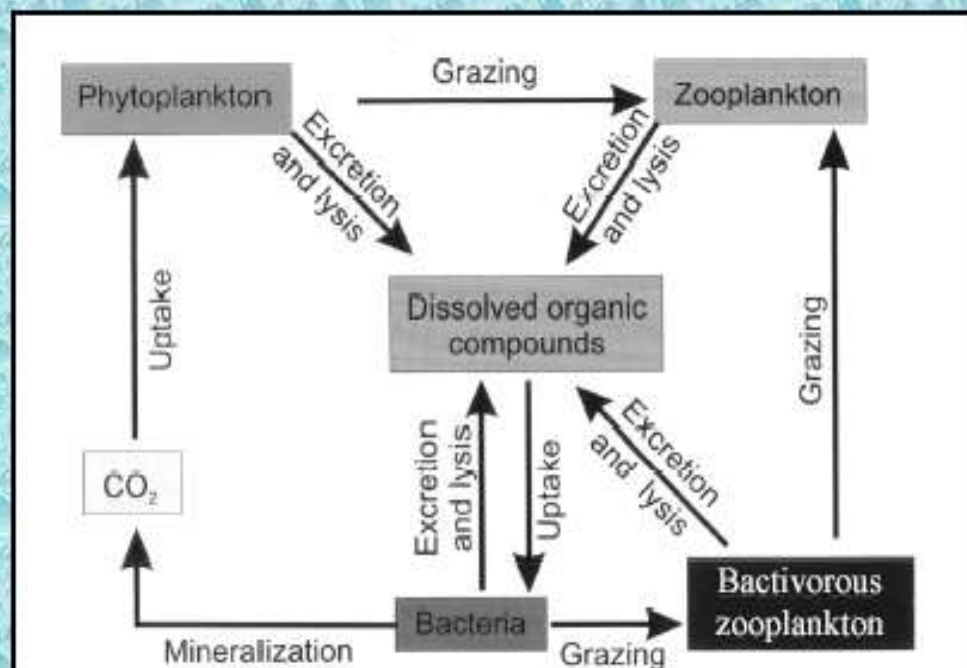


FIGURE 6.1 The microbial loop in the planktonic food web. The microbial loop represents a pathway in which the dissolved organic products are efficiently utilized. The role of bacterioplankton is to mineralize important nutrients contained within organic compounds and to convert a portion of the dissolved carbon into biomass. Grazing by bacterivorous protozoans provides a link to higher trophic levels. (Modified from Fuhrman, 1992.)

Kontrolní otázky

1. Mikrobiální společenstvo půdy
2. **Imobilizace x mineralizace**
3. **Vliv MO na koloběh uhlíku**
4. Vliv člověka na koloběh uhlíku
5. **Vliv MO na koloběh dusíku**
6. **Vliv MO na koloběh fosforu**
7. Vliv MO na koloběh síry