

# Základy 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  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  ... 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 dvojhlíkaté sloučeniny ( $\text{CO}_2$  a acetylkoenzym A), získáno malé množství energie, získány aktivované vodíky bohaté na energii

### **III. fáze**

acetyl-CoA oxidován na  $\text{CO}_2$  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

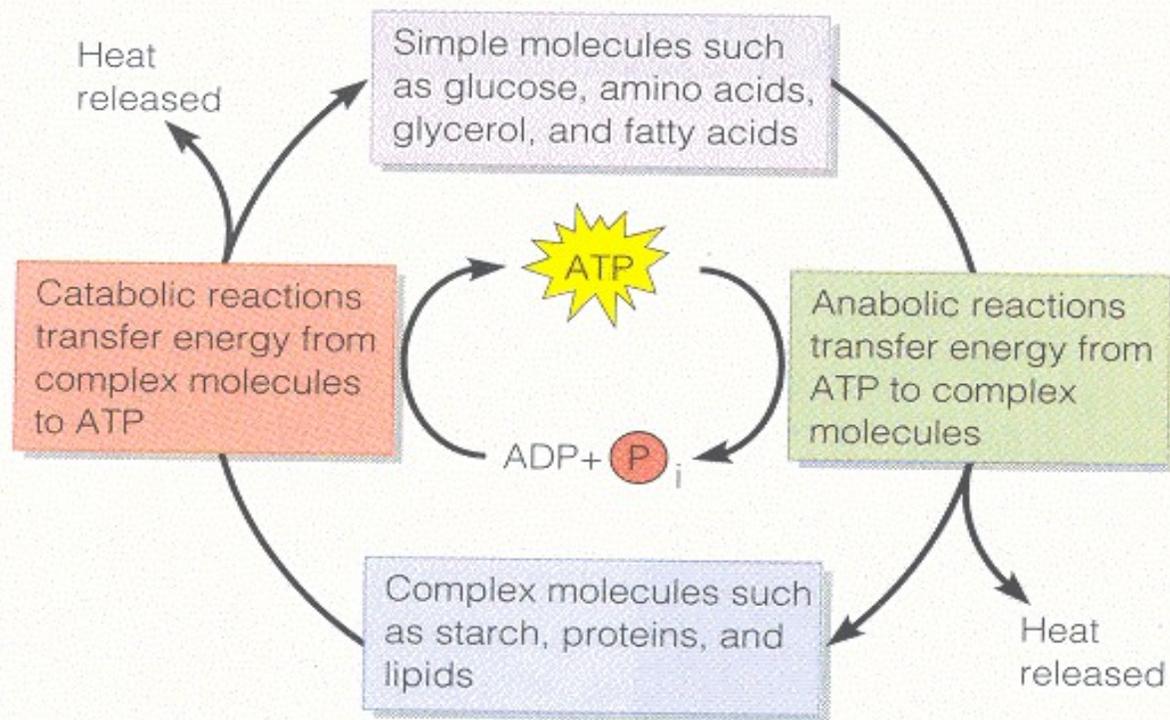
**Anabolismus** - syntetická část  
metabolismu

**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.)

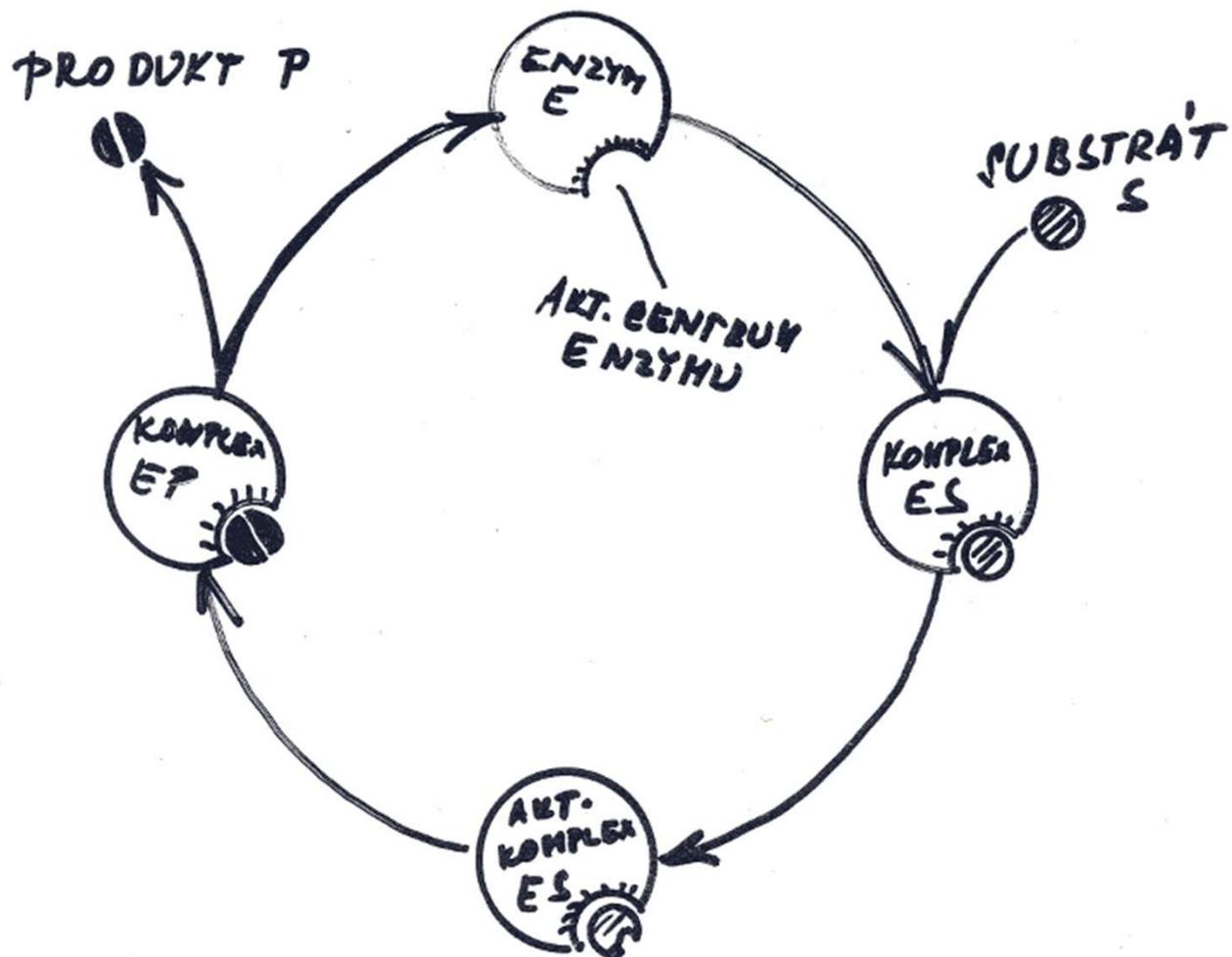
**Substrát – biomakromolekuly**

(proteáza, amyláza, celuláza, lipáza, ....)

jsou odolnější, větší produkce



## 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

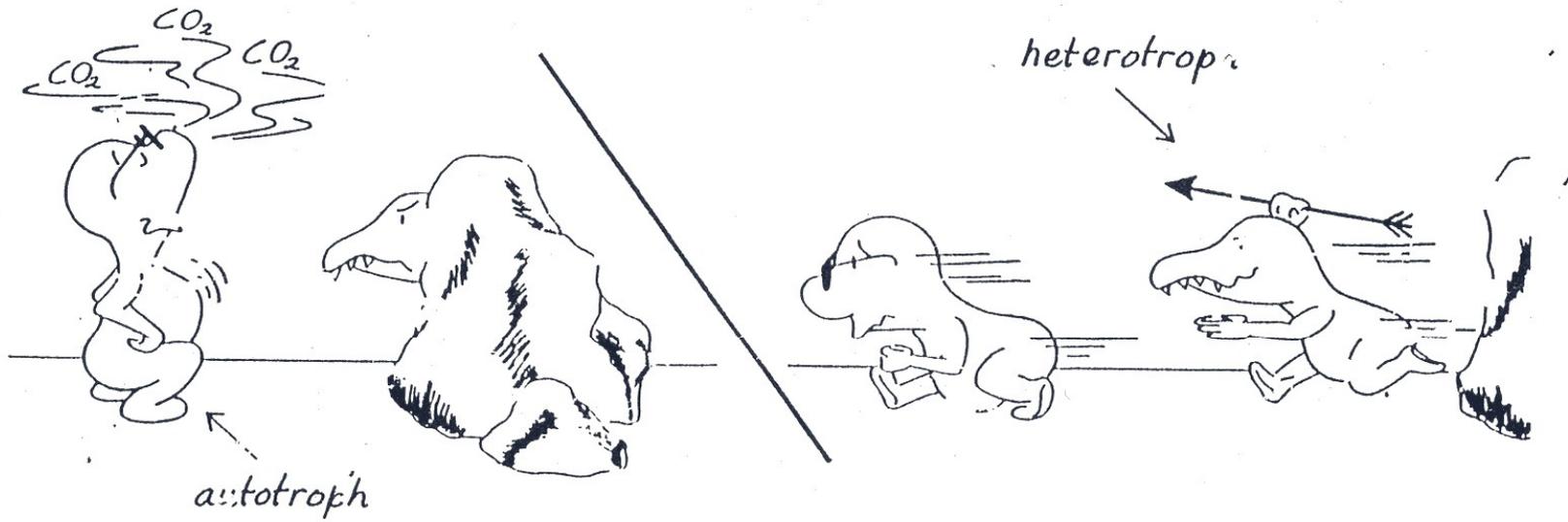
- heterotrofní – org. látky = zdroj energie ,

**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

<b>Rozdělení organismů podle typu metabolismu</b>				
<b>Metabolický typ organismu</b>	<b>Zdroj energie</b>	<b>Zdroj uhlíku</b>	<b>Zdroj elektronů</b>	<b>Organismy</b>
Fotolitotrofy autotrofní	světelné záření	CO <sub>2</sub>	anorg. sloučeniny (H <sub>2</sub> O; H <sub>2</sub> ; H <sub>2</sub> S; S)	zelené rostliny na světle, sinice, zelené a purpurové sírné bakterie
Fotoorganotrofy heterotrofní	světelné záření	org. sloučeniny	anorg. sloučeniny (H <sub>2</sub> ; H <sub>2</sub> S; S); org. sloučeniny (sukcinát, mastné kyseliny)	nesírné purpurové bakterie, některé řasy
Chemolitotrofy autotrofní	oxidace anorg. látek	CO <sub>2</sub>	anorg. sloučeniny (H <sub>2</sub> ; H <sub>2</sub> S; S; Fe <sup>2+</sup> ; NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ; NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	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

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

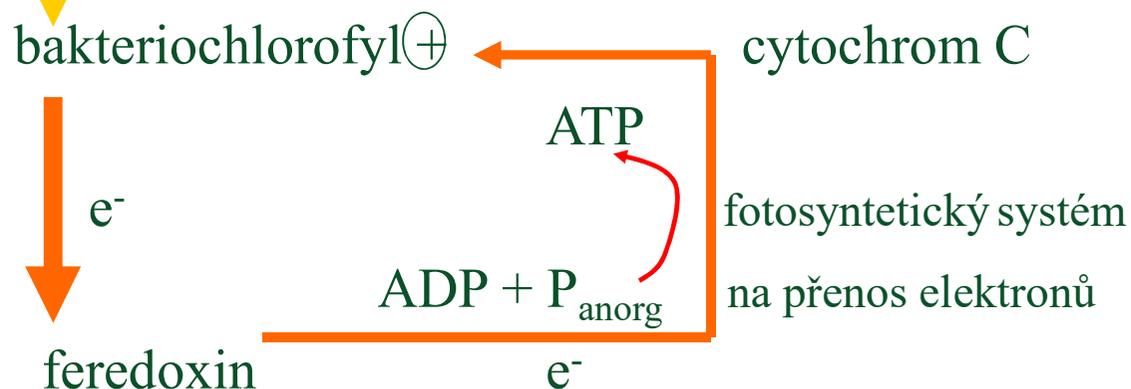
# Fototrofní bakterie

Tvorba ATP - cyklickou fosforylací  
- necyklickou fosforylací

## Cyklická fosforylace



*světelná energie*

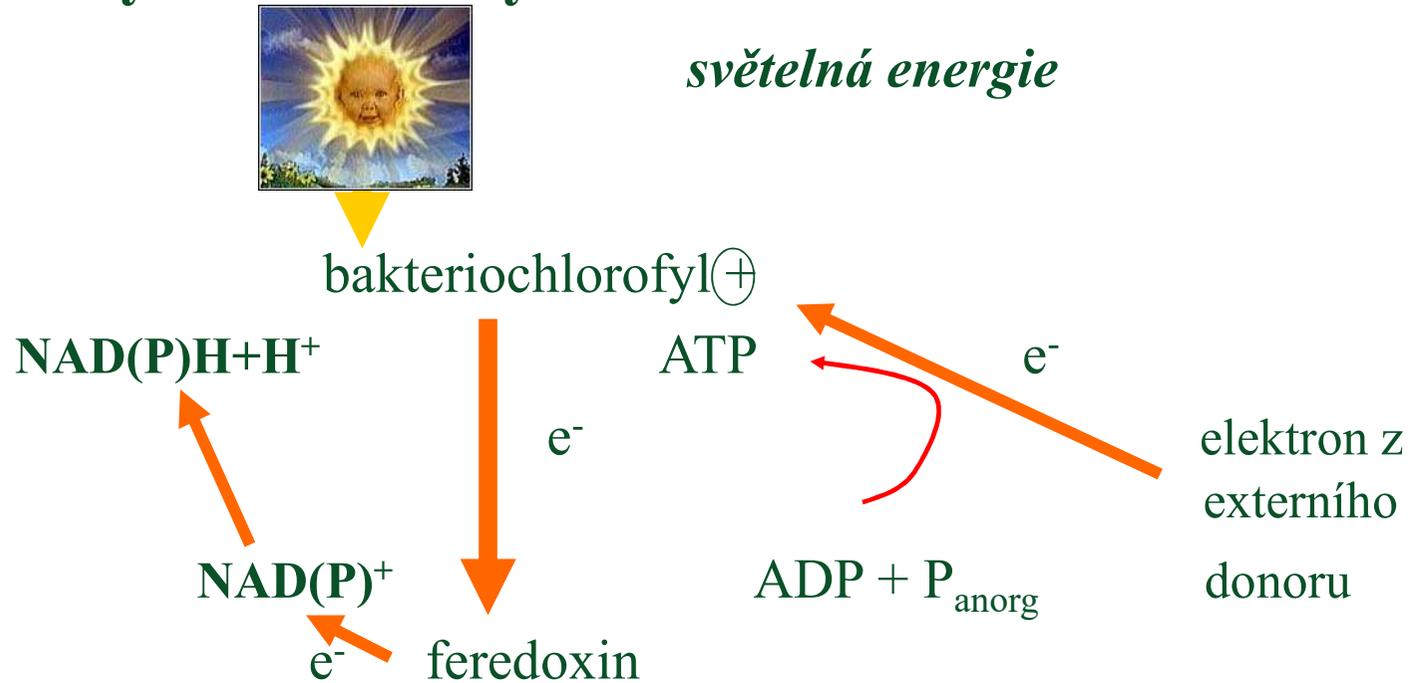


Sumární rovnice:



# Fototrofní bakterie

## Necyklická fosforylace



### Sumární rovnice:



Zdroj elektronů: fotolitotrofní mikroorganismy – anorganický substrát ( $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2$ )  
fotoorganotrofní mikroorganismy – organický s. (kys. octová, jant.)

$\text{NAD}^+$  elektronový nosič – nikotinamid adenin dinukleotid       $\text{NADP}^+$  - nikotinamid adenin dinukleotid fosfát

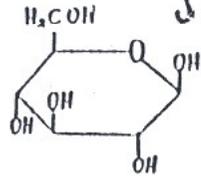
Phototrophy must be the life!

heterotroph

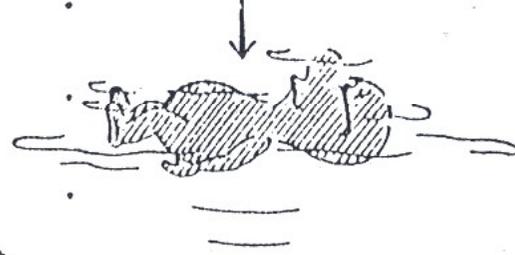


H<sub>2</sub>O ↓

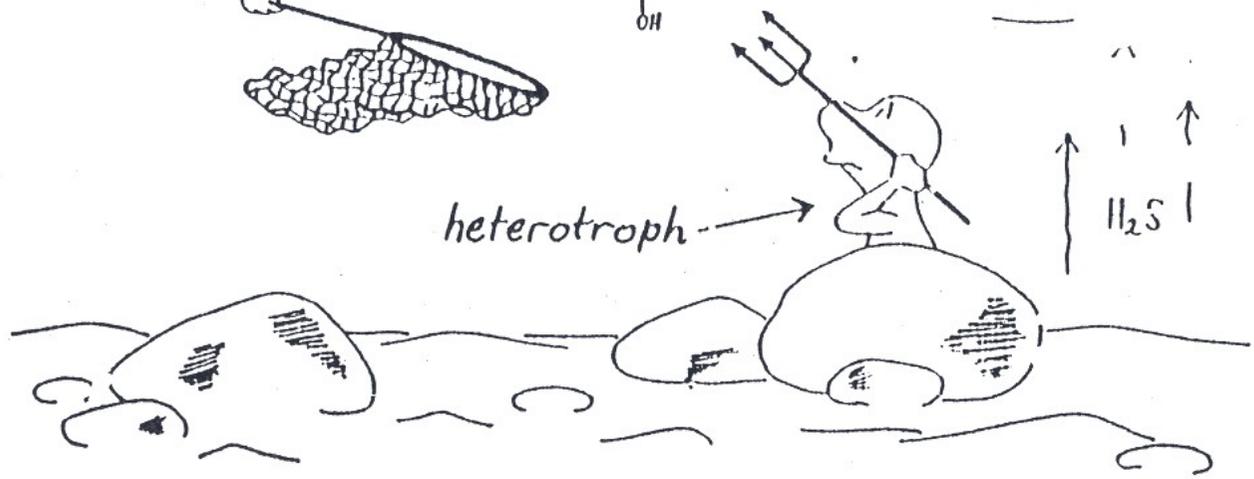
heterotroph



phototroph.



heterotroph



H<sub>2</sub>S ↑

## Fototrofní bakterie (G<sup>-</sup> anaerobní, převážně vodní)

### **Purpurové sírné bakterie**

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

fotolitotrofní (zdroj C – CO<sub>2</sub>, zdroj elektronů – H<sub>2</sub>S, S)

fotoorganotrofní (zdroj C – jednoduché org. látky)

oxidací H<sub>2</sub>S vzniká S – ukládá se uvnitř, či vně buněk

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

### **Purpurové nesírné bakterie**

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

Nevyužívají síru jako donor el., nýbrž org. látky

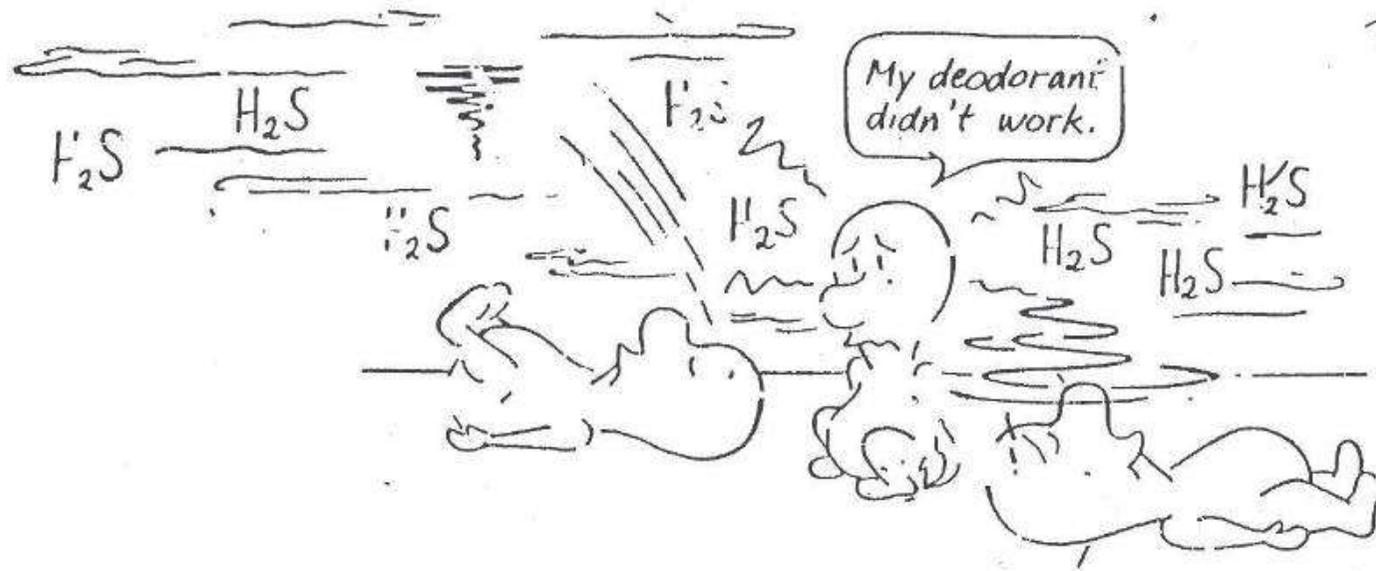
rody: *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas*

### **Zelené sírné bakterie**

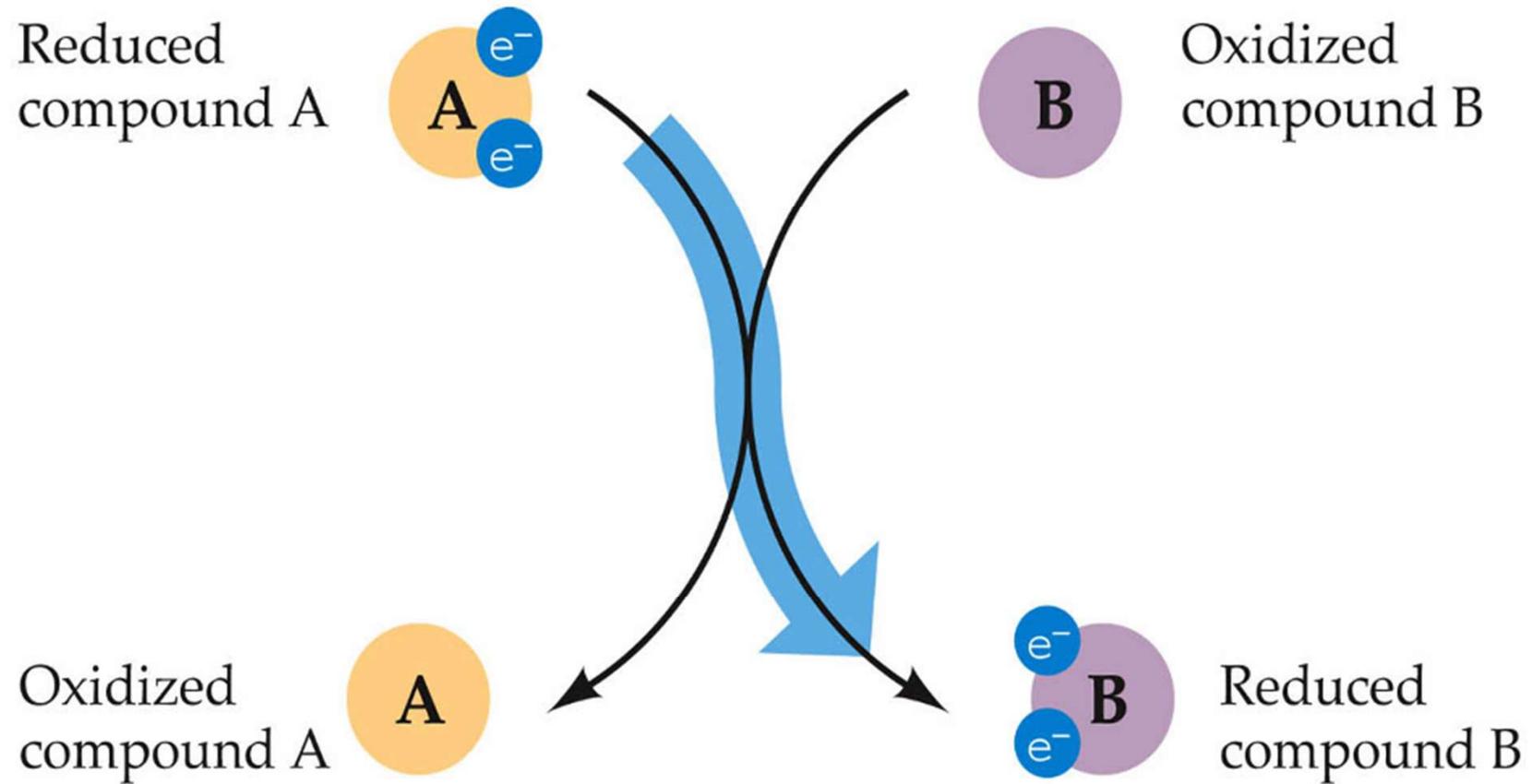
Bakteriochlorofyl **c** nebo **d** v chlorobiových váčcích,

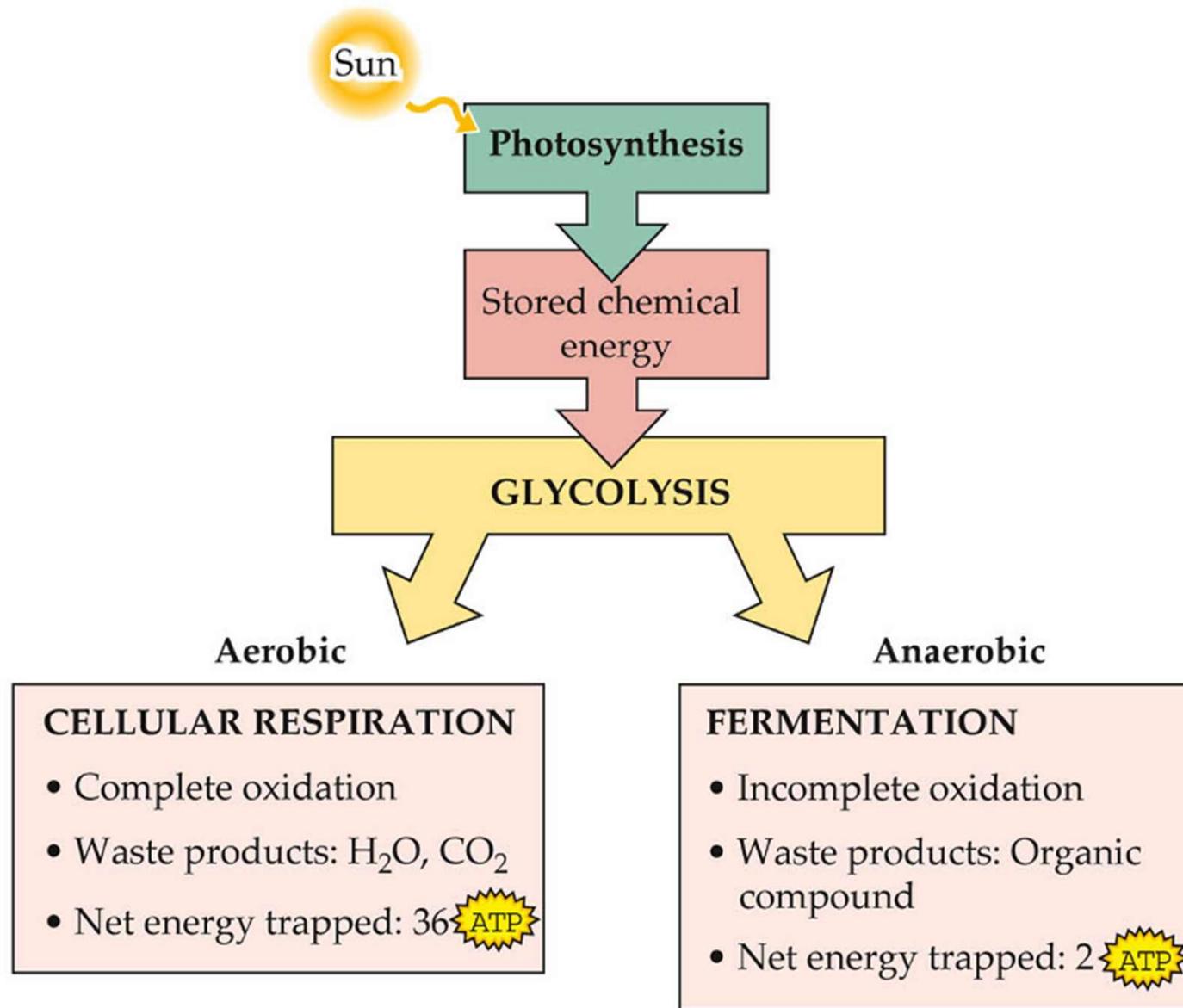
mixotrofní - za přítomnosti H<sub>2</sub>S ukládají síru vně buňky, obligátně

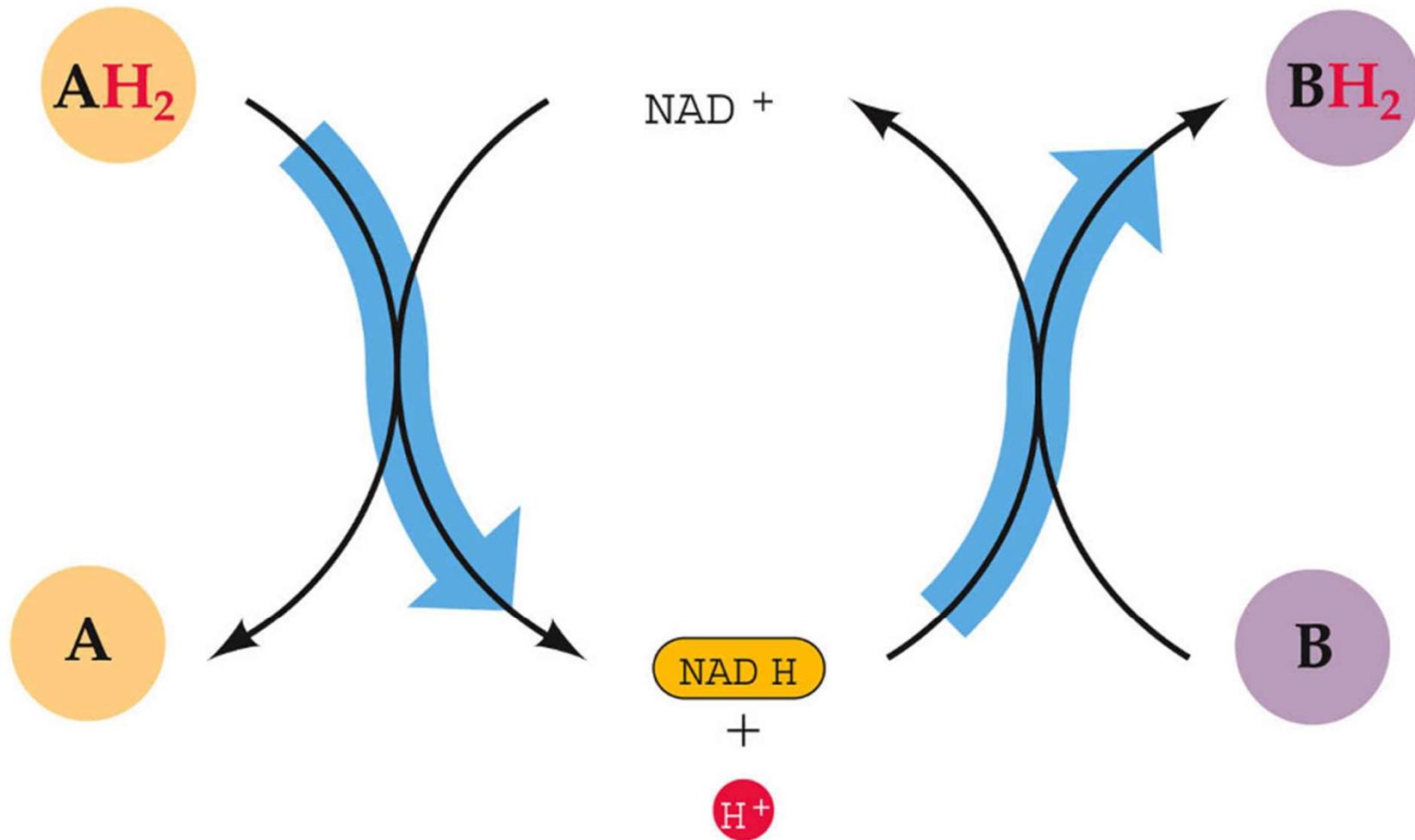
anaerobní (rody: *Chlorobium*, *Chloropseudomonas*, *Pelodiction*)



## 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 NADPH<sub>2</sub> (výsledkem dráhy je 5/6 původního množství glukózy)

**Entner–Doudorfova dráha** produkuje dvě molekuly NADPH<sub>2</sub> a jednu ATP z každé molekuly glukózy, výsledným produktem je glyceraldehyd-3-P a také pyruvát. Některé G<sup>-</sup> bakterie *Rhizobium*, *Pseudomonas* (některé taxonomické metody využívají tuto dráhu) a *Agrobacterium*

## Aktivace a přenos vodíku

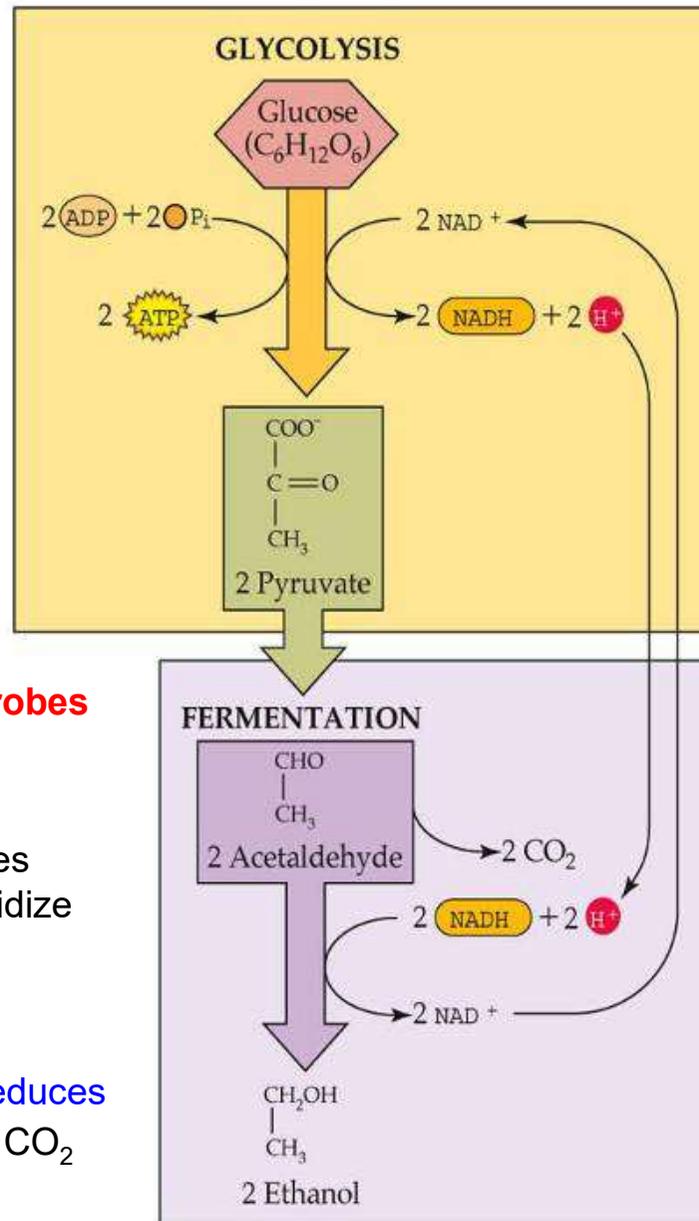
### nikotinamidadeninukleotid (NAD<sup>+</sup>)

součást enzymů

aktivuje vodíky a přenáší je

### nikotinamidadeninukleotidfosfát (NADP<sup>+</sup>)

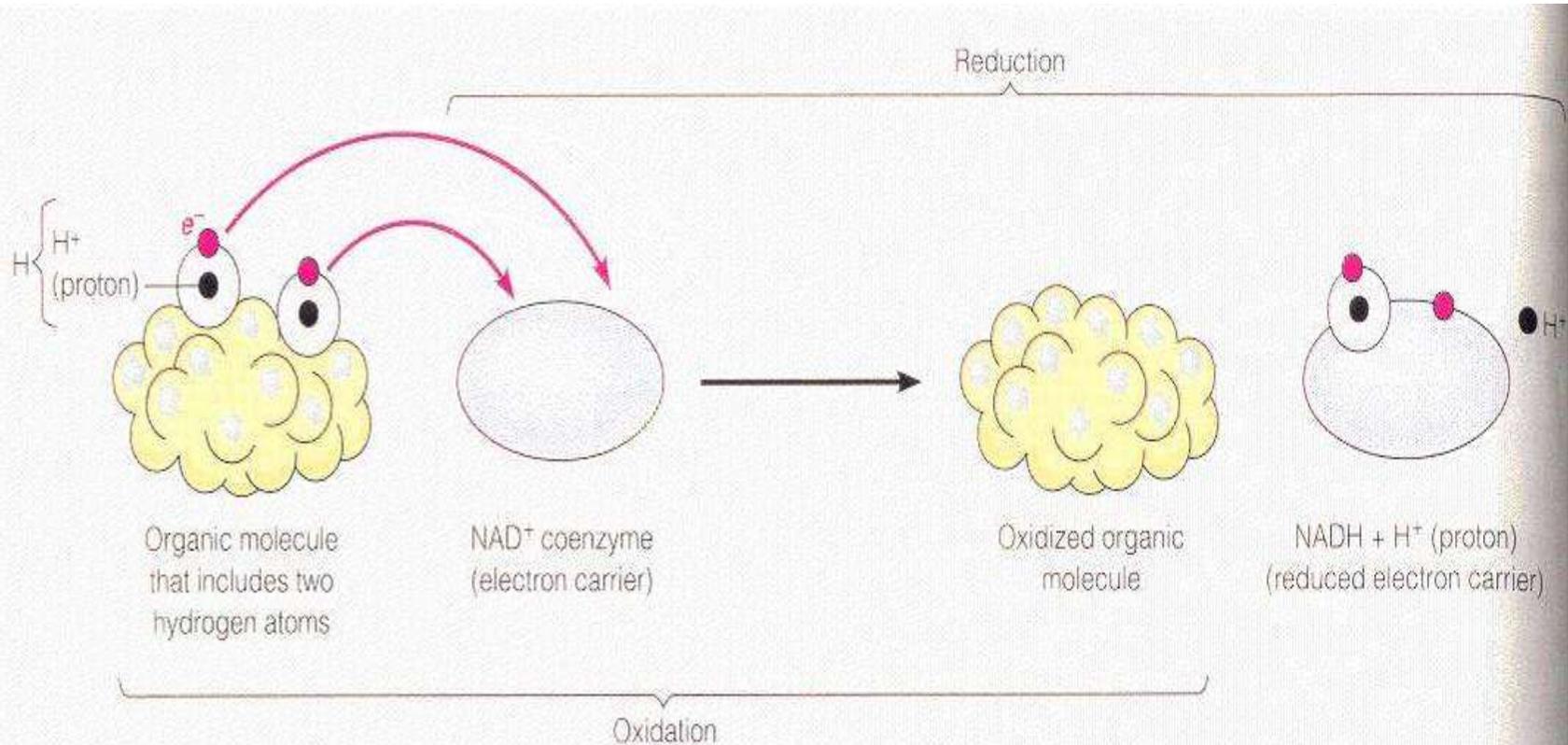
transportuje aktivovaný (energeticky využitelný)  
vodík z katabolických do anabolických drah ⇒  
redukční činidlo a zdroj vodíku



### Fermentation: How anaerobes get their NAD<sup>+</sup> back

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

It's pretty simple: **NADH reduces pyruvate** → either EtOH + CO<sub>2</sub> 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,  $\text{NAD}^+$ .  $\text{NAD}^+$  actually receives one hydrogen atom and one electron, and one proton is released into the medium.  $\text{NAD}^+$  is reduced to  $\text{NADH}$ , which is a more energy-rich molecule.

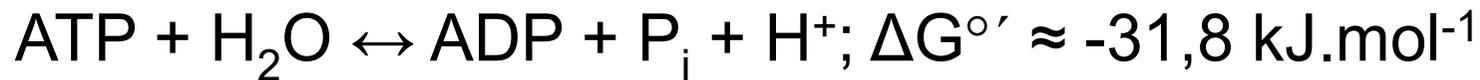
- Organisms use oxidation-reduction reactions in catabolism to extract energy from nutrient molecules, such as glucose.

## Přenašeče chemické energie

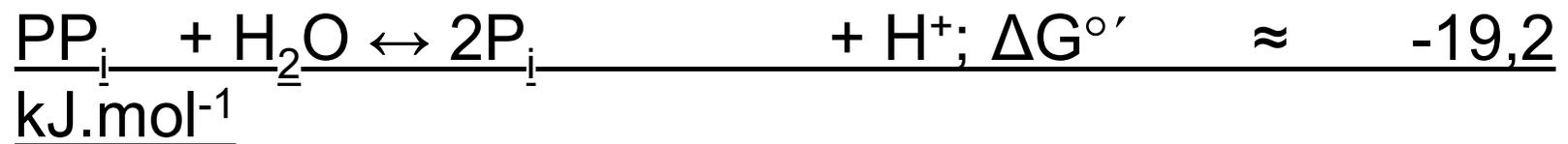
též makroergické sloučeniny

energie uvolněná při rozpadu = energie původní molekuly – energie produktů

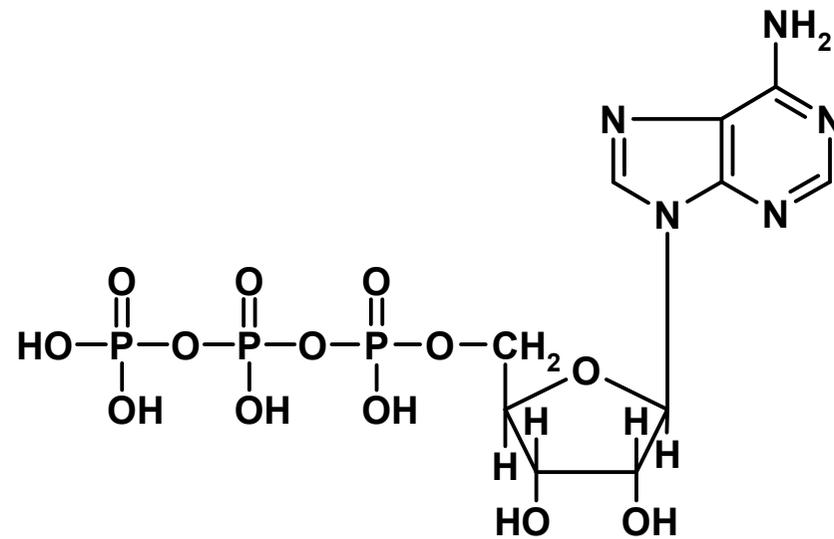
nejrozšířenější adenosintrifosfát (ATP):



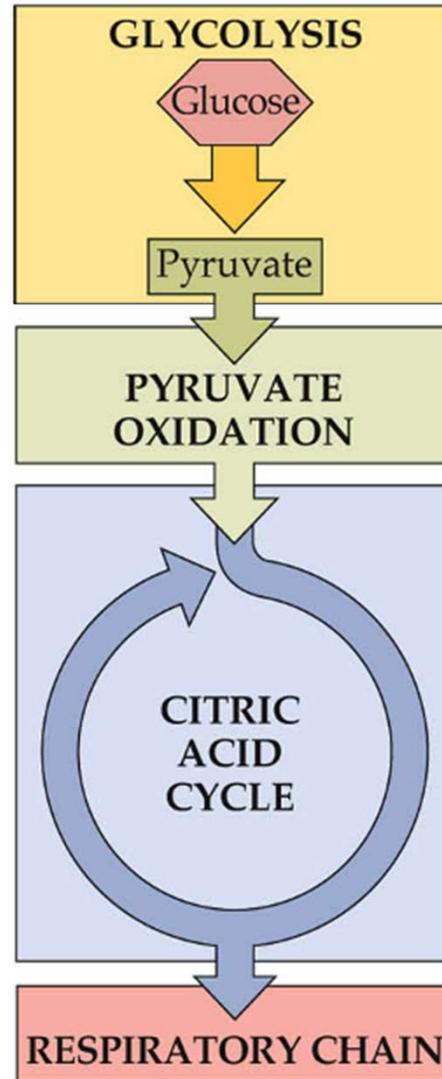
nebo



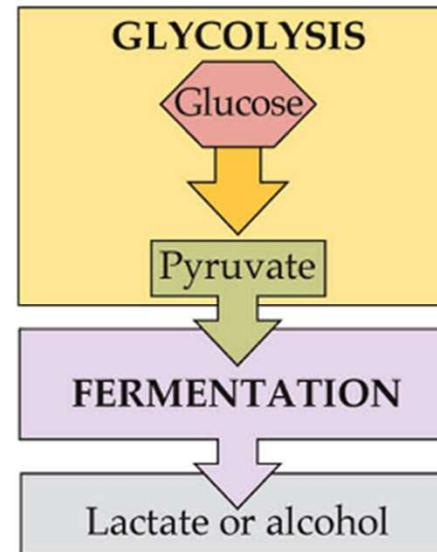
# ATP



(a) Glycolysis and cellular respiration



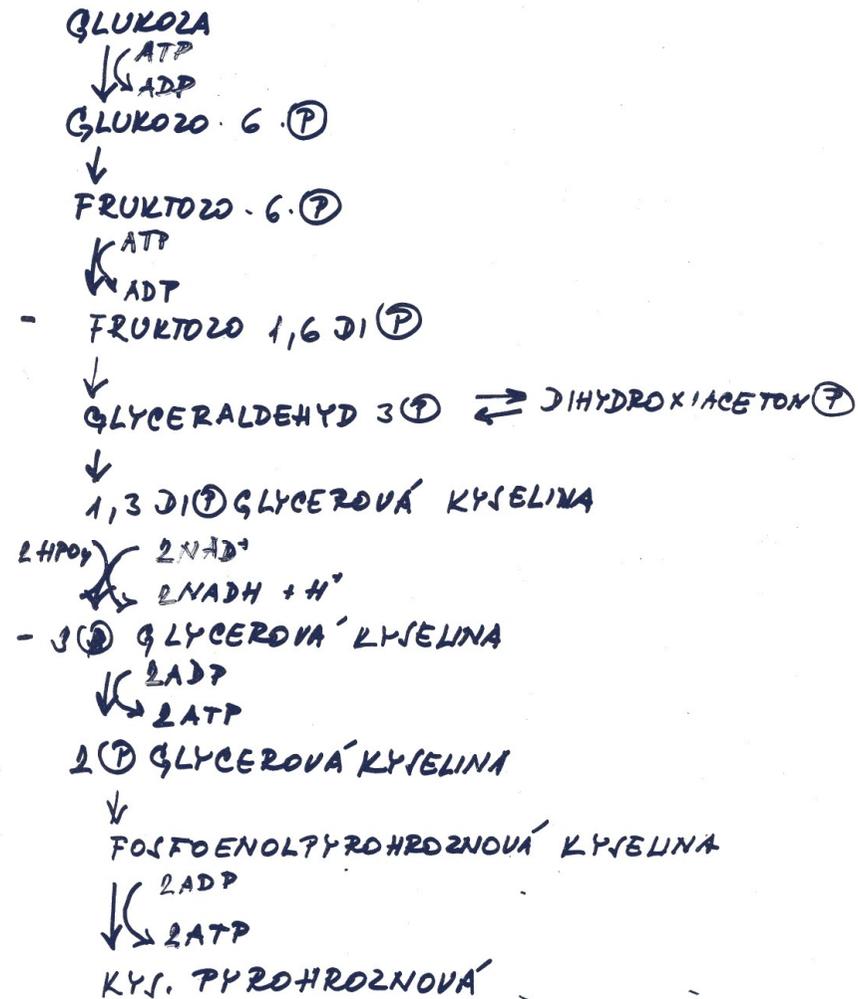
(b) Glycolysis and fermentation



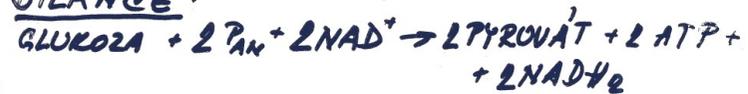
Depending on whether or not oxygen is present, there are two metabolic pathways (sets of reactions) that cells use:

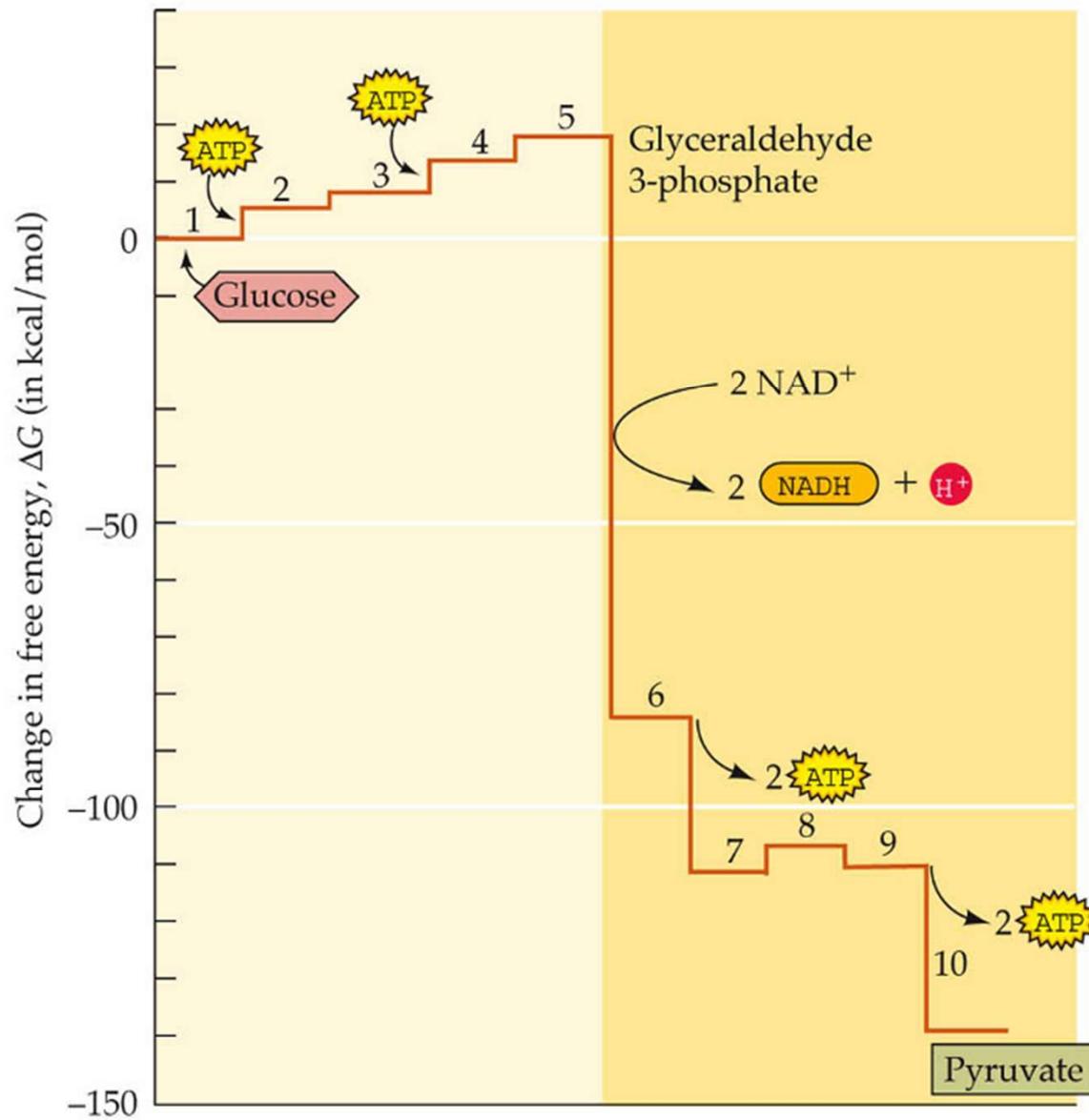
- $O_2$  present: glycolysis + citric acid cycle + ETC
- $O_2$  absent: glycolysis + fermentation

# EMBLEN, HAYERNOF, PARNAS - EMP DRÁHA



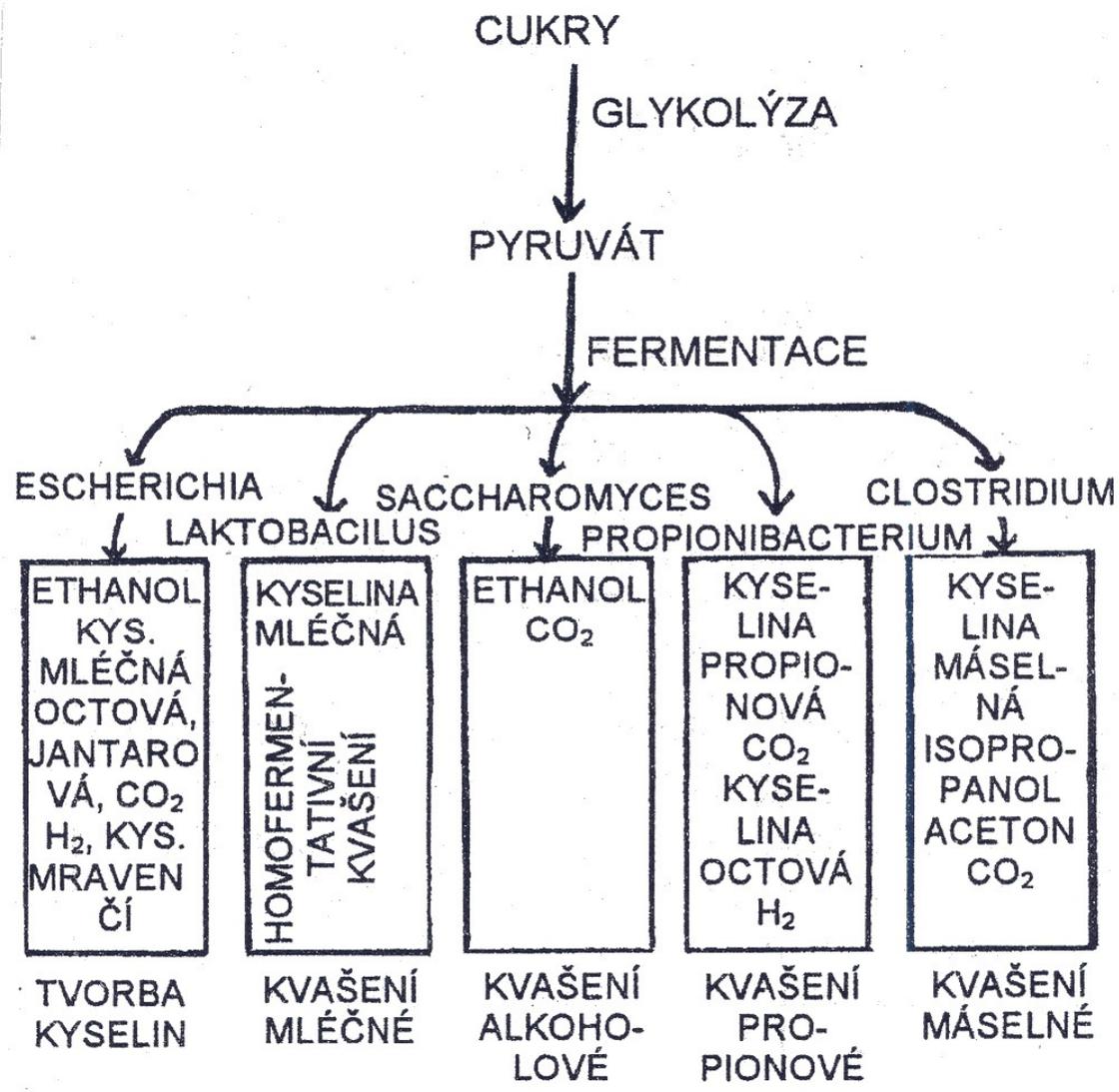
## BILANCE:





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

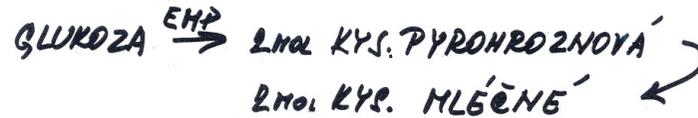
For each glucose:  
 2 Pyruvate  
 2  $\text{NADH} + 2 \text{H}^+$   
 2 ATP are produced.



*Konečné produkty některých druhů kvašení*

# MLÉČNÉ KVAŠENÍ

HOMOFERMENTATIVNÍ - KYS. MLÉČNÁ



HETEROFERMENTATIVNÍ - KYS. MLÉČNÁ,  
OCTOVÁ, HRAVENĚI, ETANOL,  $H_2$ ,  $CO_2$

ODVOZENO O PENTOZO FOSFÁTOVÉ DRÁHY  
PROBÍHÁ PO FOSFOKETOLÁZOVÉ DRÁZE

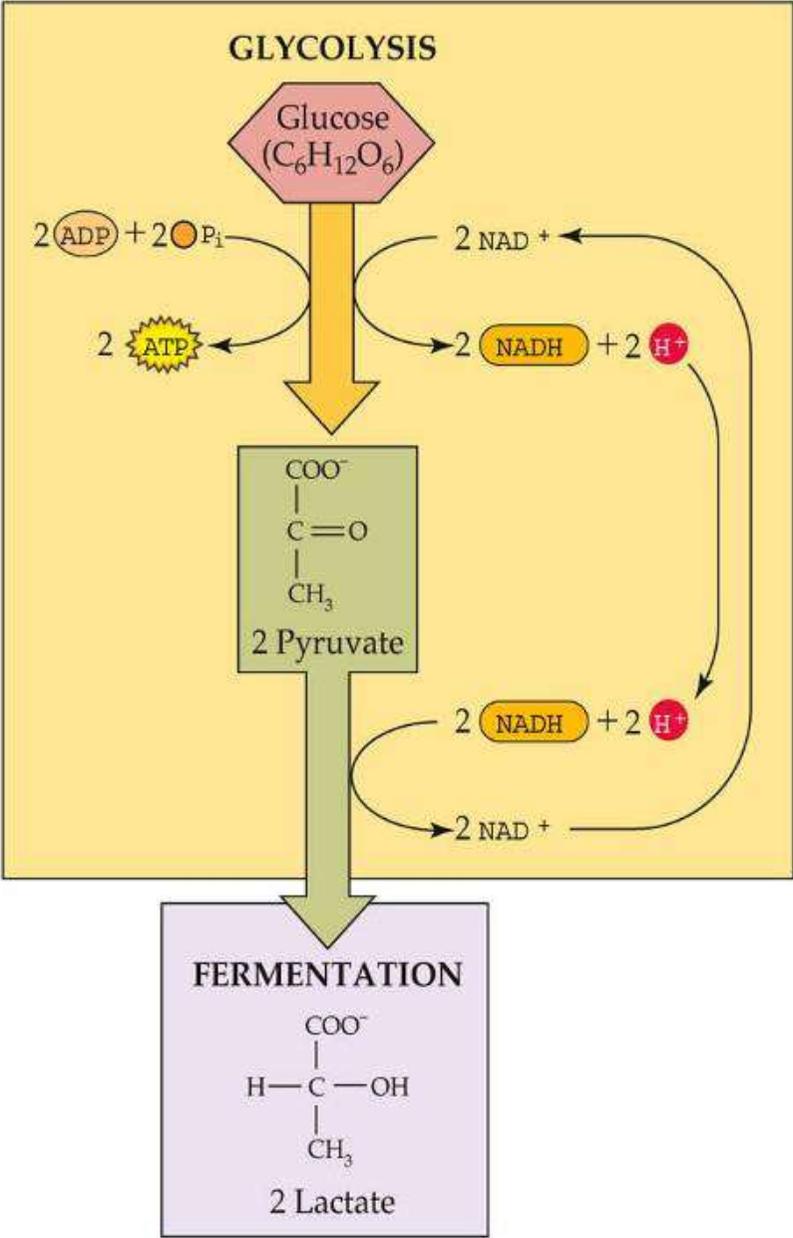
HOMOFERMENTATIVNÍ:

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

HETEROFERMENTATIVNÍ:

LACTOBACILLUS	FERMENTUM
	BREVIS
	BUCHNERI
	VIRIDESCENS

G<sup>+</sup>, NESPORULUJÍCÍ, ANAEROBNÍ NEBO  
FAKULTATIVNĚ ANAEROBNÍ, NÁRODNĚ NA RŮST.  
LATKY



## PROPIONOVÉ KVAŠENÍ

NAVAZUJE NA EMP DRAHU

NA PROPIONIBACTERIUM G<sup>+</sup>, TYČINKY N. VLÁKNA  
CLOSTRIDIUM PROPIONICUM

VÝROBA KYS. PROPIONOVÉ<sup>o</sup> - SILNĚ PROTÍPLA  
A ZRÁNÍ SÝRŮ ÚOTNKY

## MÁSELNÉ KVAŠENÍ

NAVAZUJE NA EMP DRAHU

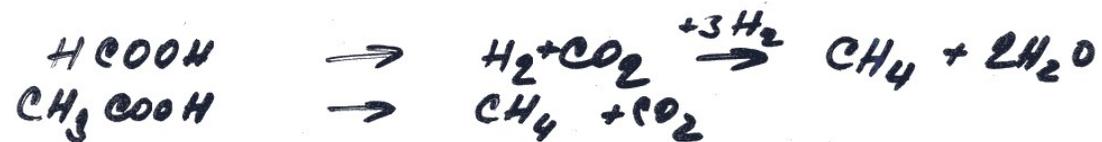
TVOŘÍ SE : KYS. MÁSELNÁ<sup>o</sup>, OCTOVÁ<sup>o</sup>,  
MLEČNÁ<sup>o</sup>, ALKOHOLY,  
ACETON, PLYNY - H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>

NA CLOSTRIDIUM (CL. PASTEURIANUM  
FIXACE N<sub>2</sub>)

BACTEROIDES  
FUJOBACTERIUM  
BUTYRIVIBRIO

VÝROBA KYS. MÁSELNÉ<sup>o</sup>  
ORGANICKÝCH ROZPOUŠTĚDEL  
( BUTANOL, ACETON.. )

# METANOVÉ KVAŠENÍ



rod METANOBACTERIUM  
METANOSARCINA  
METANOCOCCUS

ČISTÍRNÝ ODT. VOD  $\rightarrow$  BIOPLYN  
(65-70%  $\text{CH}_4$  +  
30-35%  $\text{CO}_2$ )

# DÝCHÁNÍ x KVAŠENÍ

## AKCEPTOR VODÍKU

$O_2$ vzdušný – aer. vázaný - anaer.	ORGANICKÉ LÁTKY
--	-----------------

## ZISK ENERGIE

VYŠŠÍ

1 mol glukózy  
38 mol ATP

NIŽŠÍ

1/20

## KONEČNÝ PRODUKT

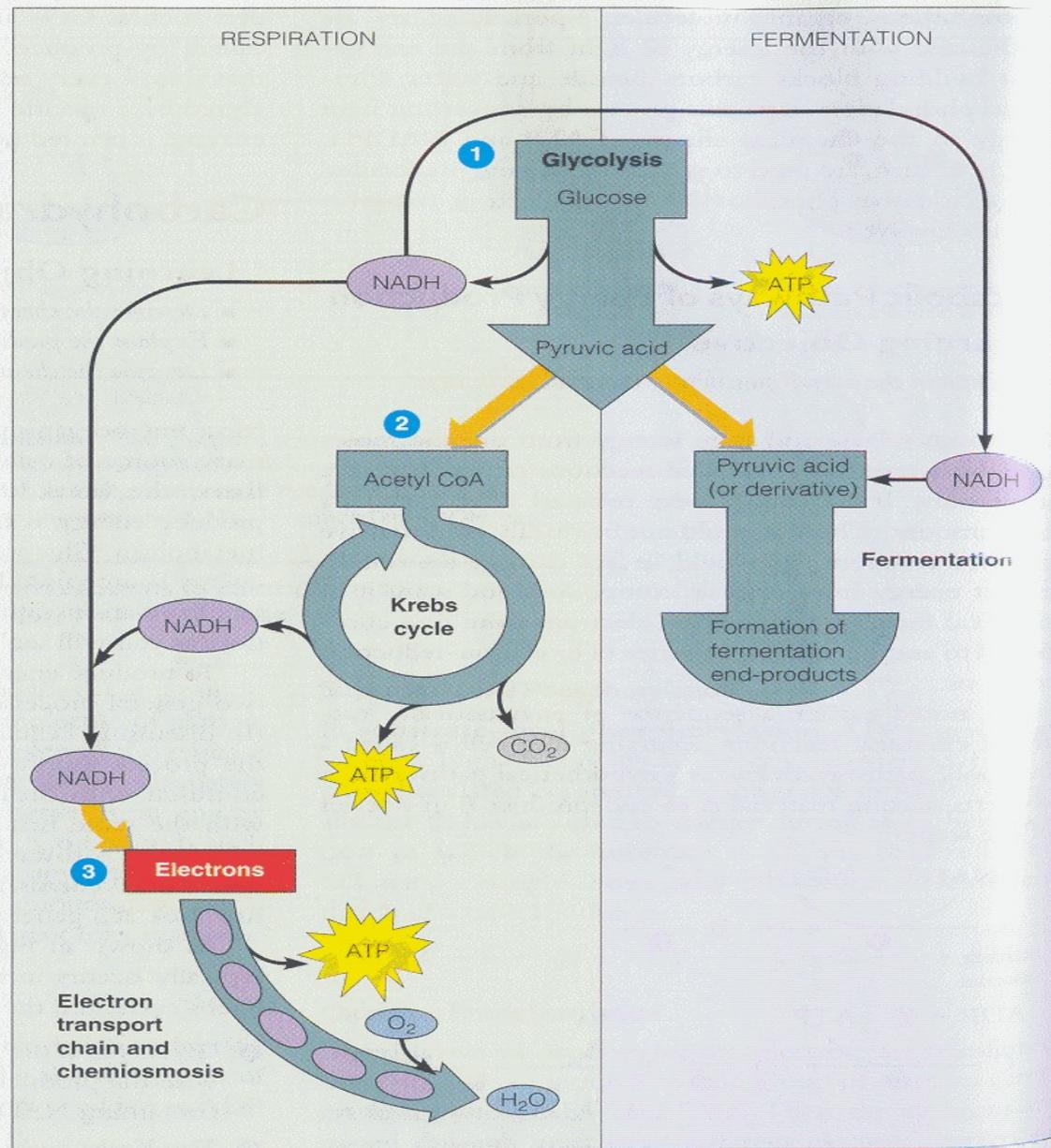
$CO_2 + H_2O$

ORGANICKÉ KYS. +  
 $CO_2$  ....

**FIGURE 5.10** An overview of respiration and fermentation.

**1** Glycolysis produces ATP and reduces  $\text{NAD}^+$  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  $\text{NAD}^+$  (and another electron carrier called  $\text{FADH}_2$ ) while giving off  $\text{CO}_2$ . 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. ŘETĚZCI:

FLAVOPROTEINY - ENZYMY OBSAHUJÍCÍ  
RIBOFLAVIN V MOLEKULE  
(B2)

CYTOCHROMY - ENZYMY OBS.  
chelaticky vázané  
ŽELEZO

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

ÚPLNÁ OXIDACE ORG. SUBSTRÁTU  
NA  $\text{CO}_2$  A  $\text{H}_2\text{O}$

KREBSŮV CYKLUS - CYKLUS KYS.  
CITRONOVÉ

VÝZNAM: STAVEBNÍ JEDNOTKY  
ZIKK ENERGIE

## Respirace

zdroj naprosté většiny energie

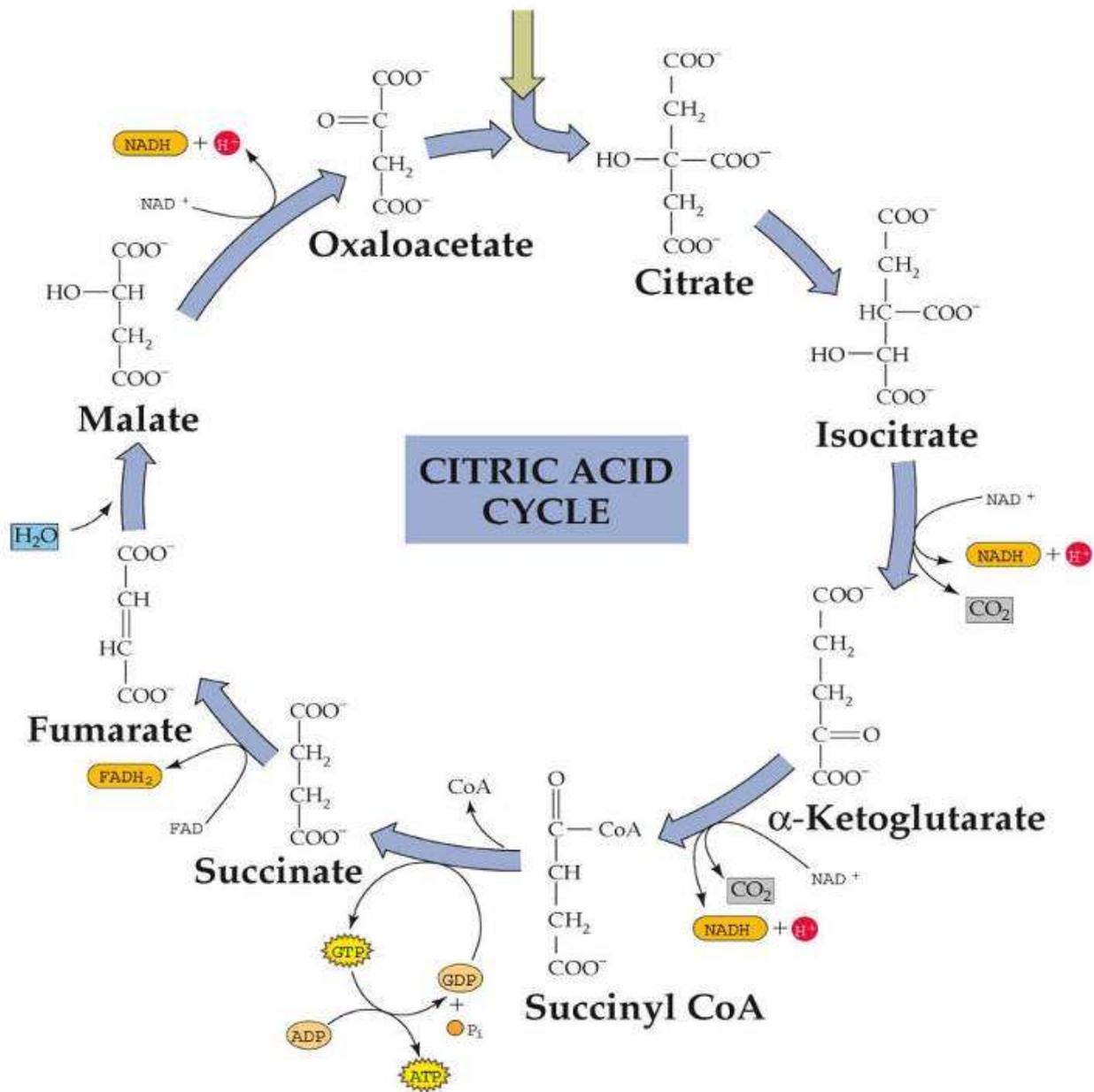
využití energie reakce kyslíku s vodíkem

U eukaryot probíhá v mitochondriích

dva procesy:

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

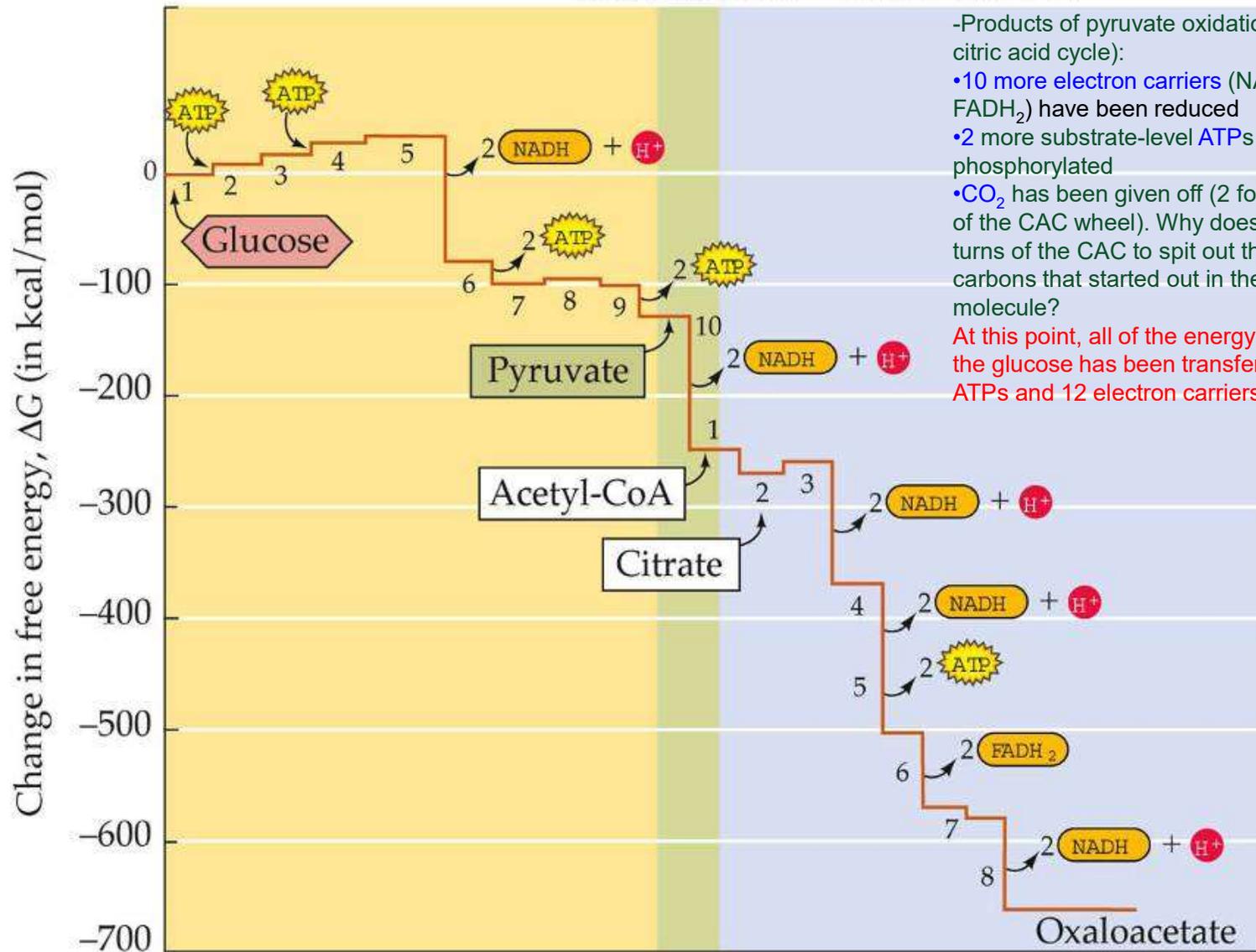
oxidační fosforylace – cca 45 % energie  
převedeno do ATP, zbytek  $\Rightarrow$  teplo



## GLYCOLYSIS

## PYRUVATE OXIDATION

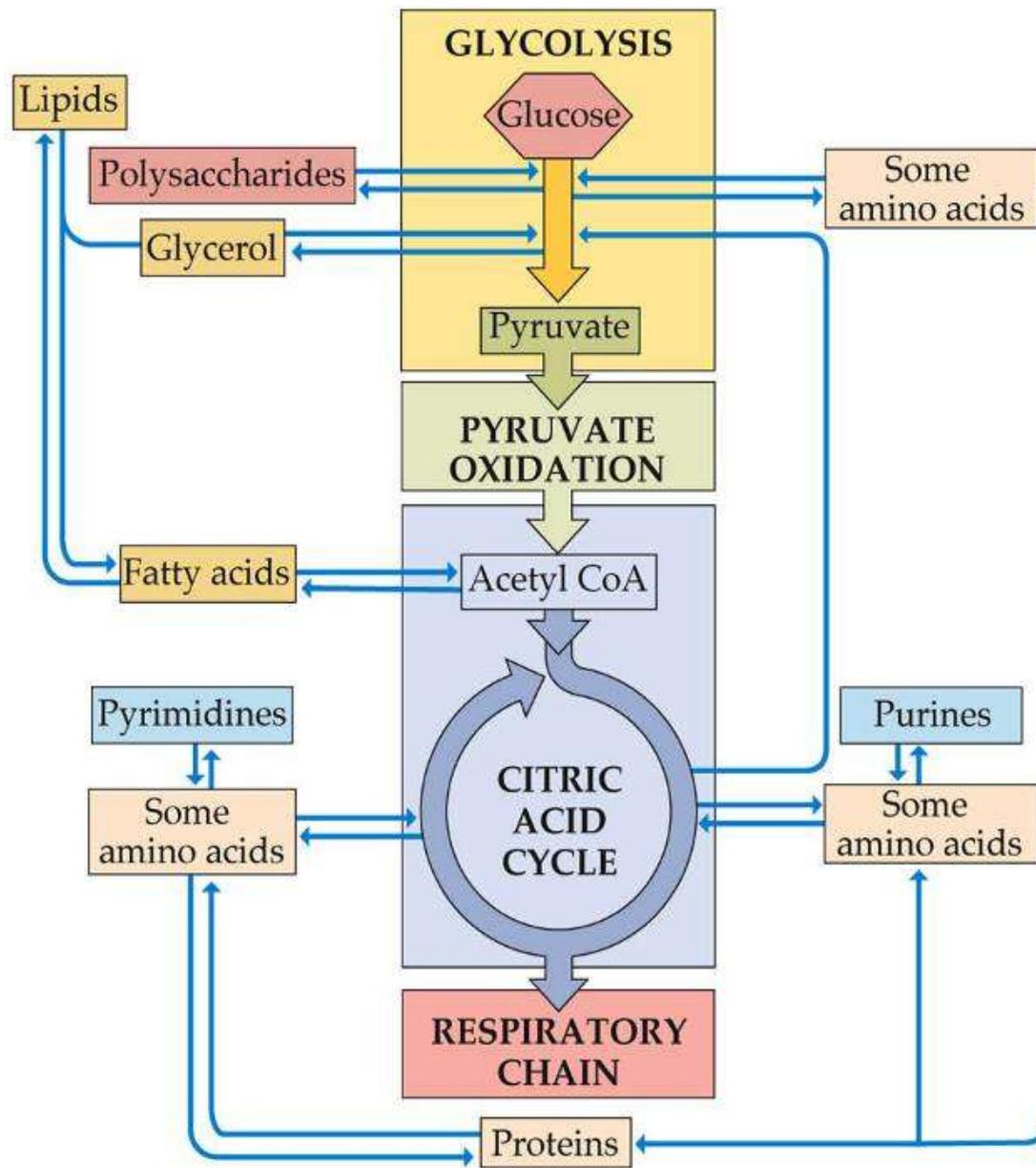
## CITRIC ACID CYCLE



-Products of pyruvate oxidation (including citric acid cycle):

- 10 more electron carriers (NADH and FADH<sub>2</sub>) have been reduced
- 2 more substrate-level ATPs have been phosphorylated
- CO<sub>2</sub> has been given off (2 for each turn of the CAC wheel). Why does it take 3 turns of the CAC to spit out the 6 carbons that started out in the glucose molecule?

At this point, all of the energy that was in the glucose has been transferred to 4 ATPs and 12 electron carriers.



## Biosyntéza sacharidů

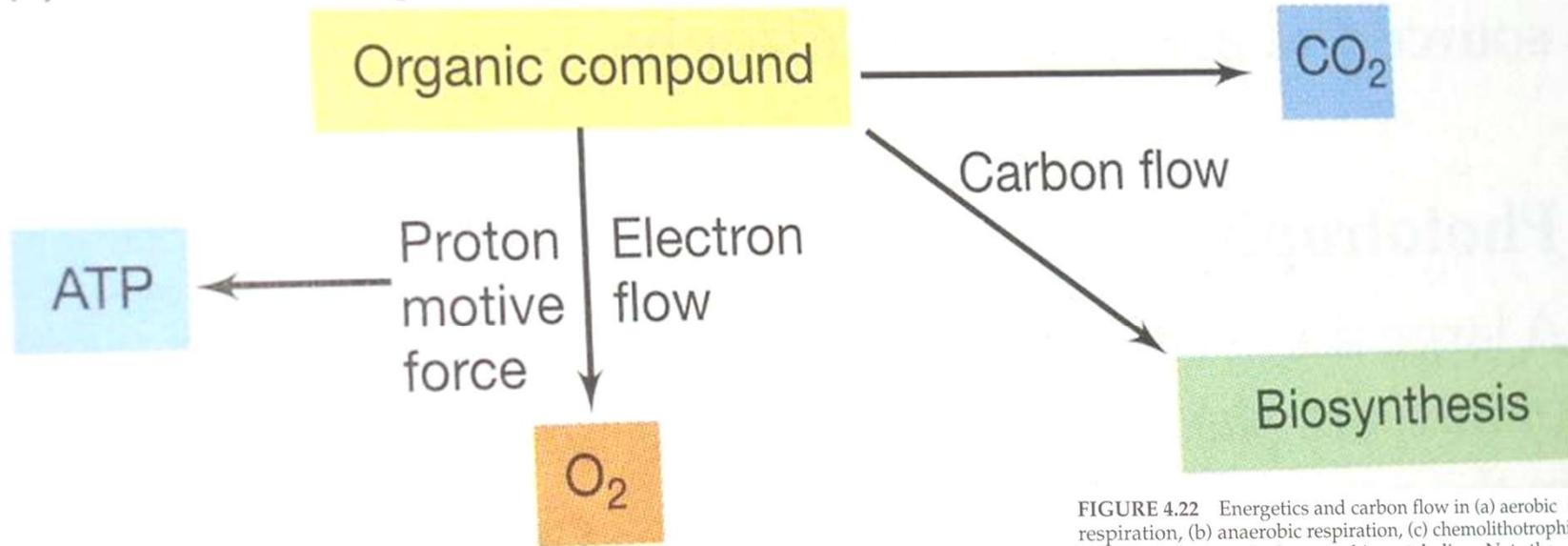
tzv. **glukoneogeneze**

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**



**(b) Anaerobic respiration**

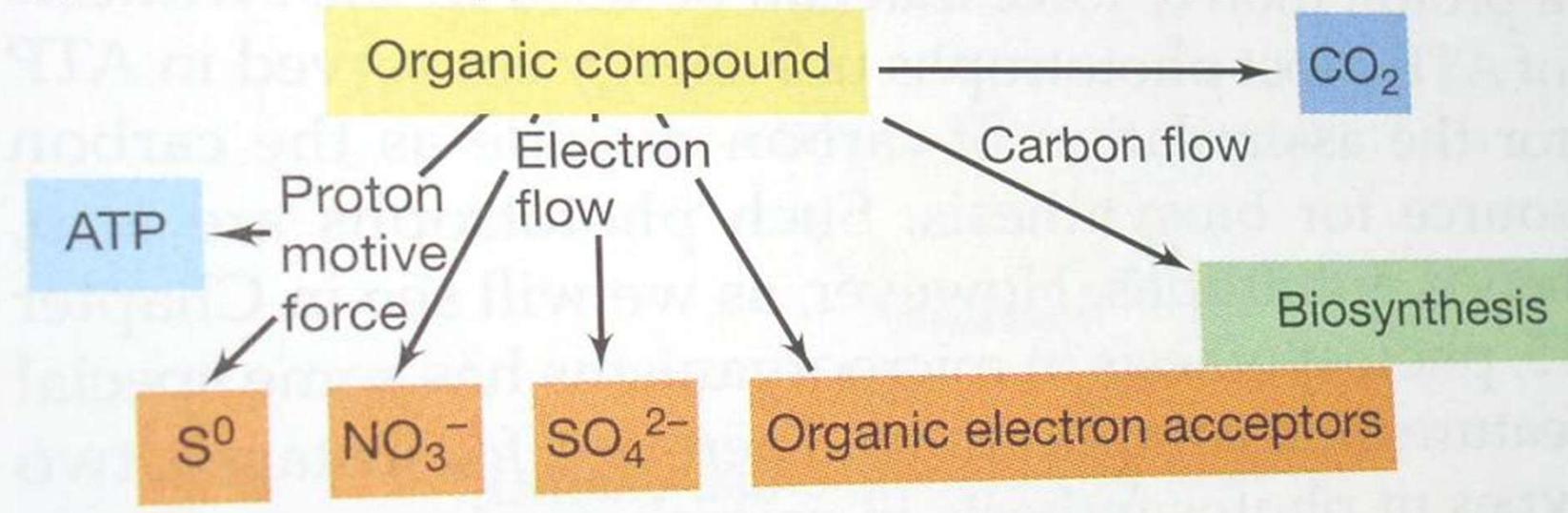
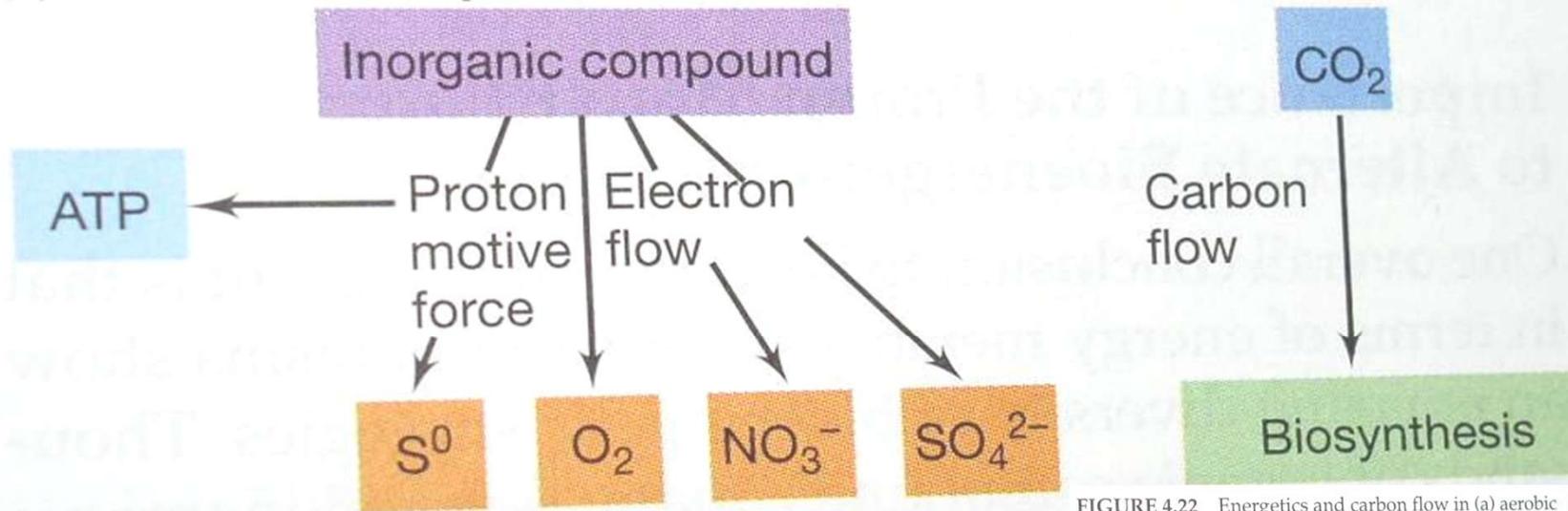


FIGURE 4.22 Energetics and carbon flow in (a) aerobic respiration, (b) anaerobic respiration, (c) chemolithotrophic metabolism, and (d) phototrophic metabolism. Note the importance of electron transport leading to proton motive force formation in each case.

(c) Chemolithotrophic metabolism



(d) Phototrophic metabolism

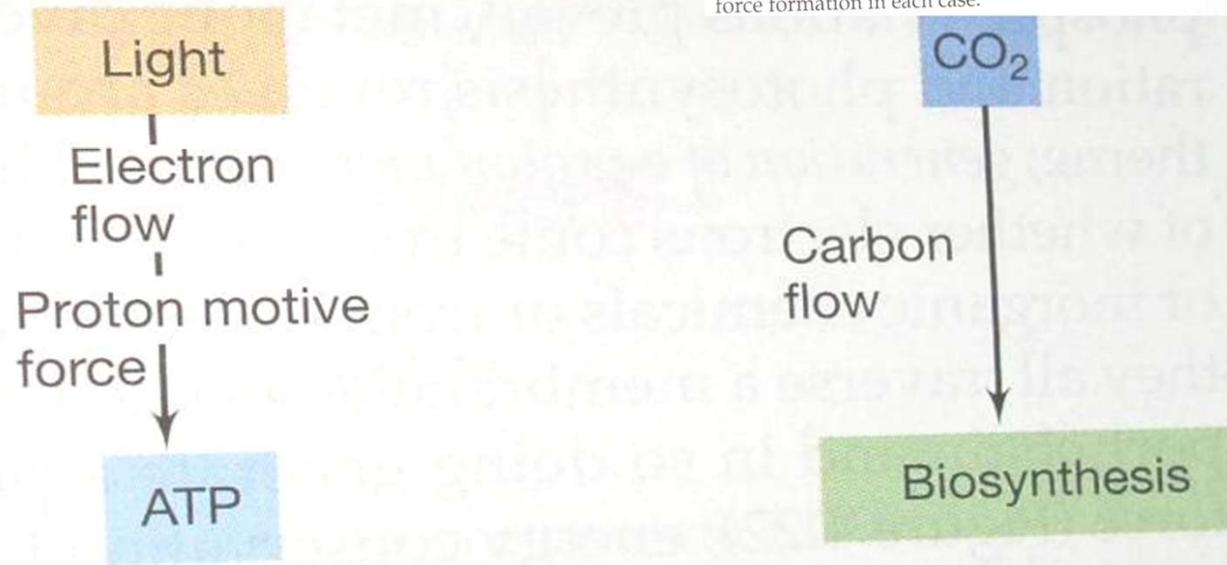
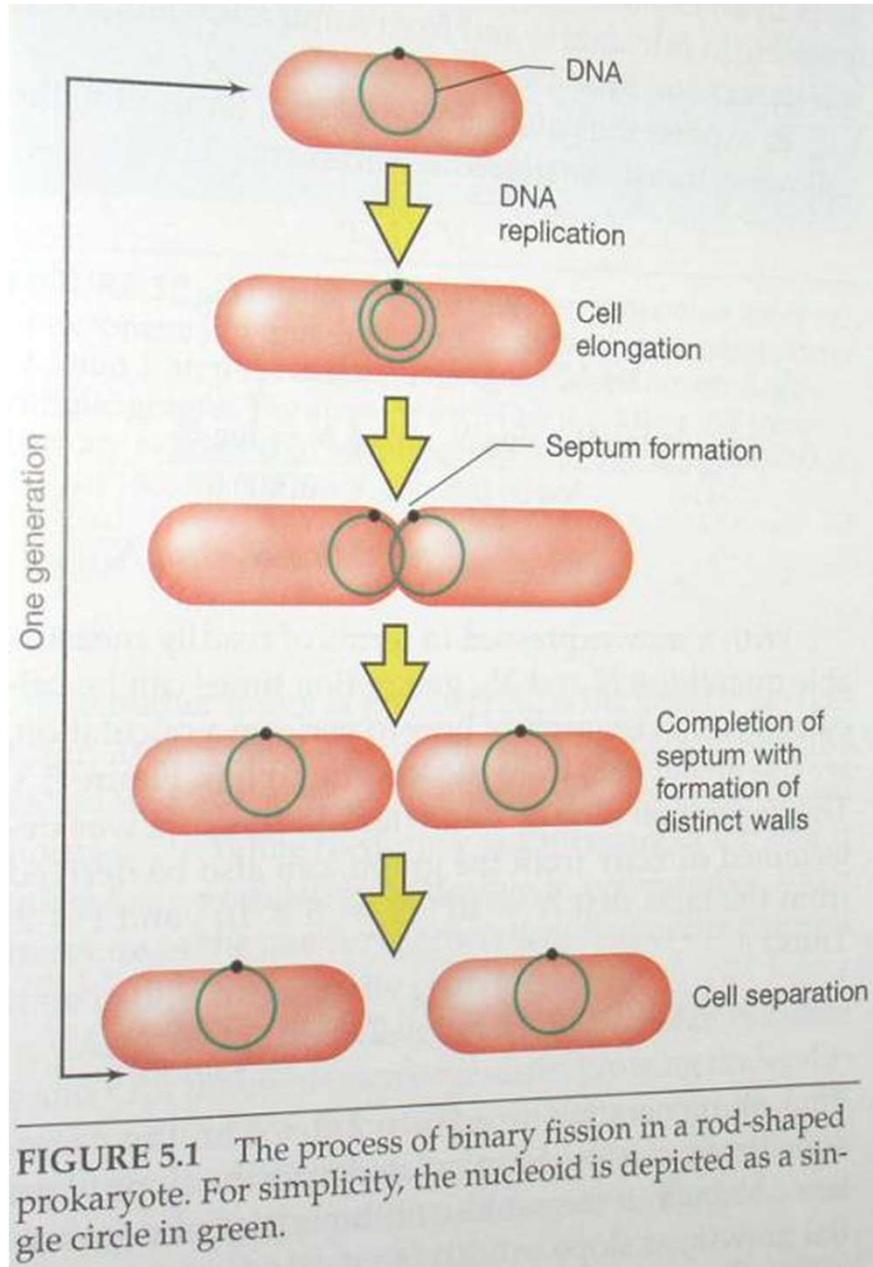
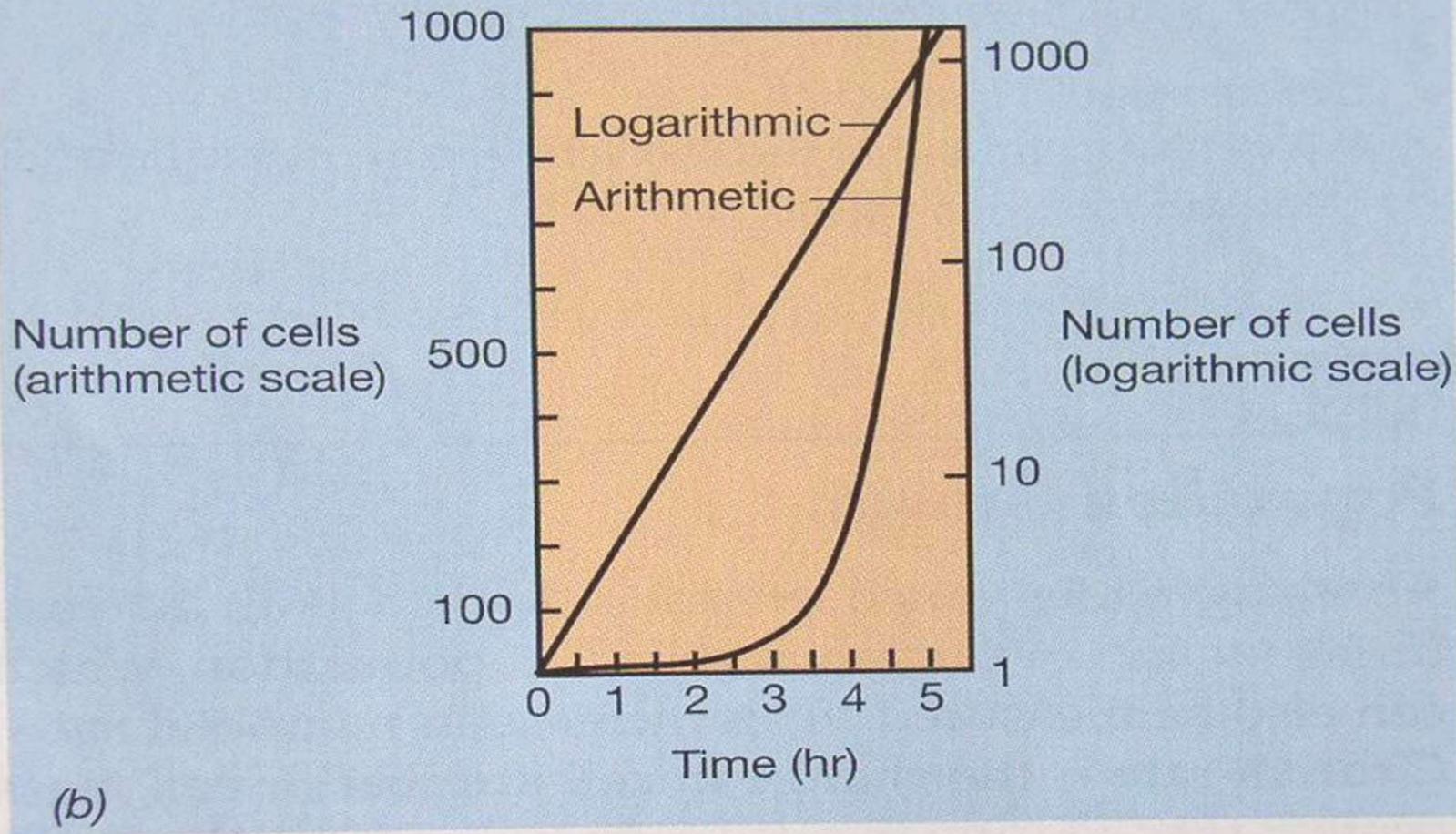


FIGURE 4.22 Energetics and carbon flow in (a) aerobic respiration, (b) anaerobic respiration, (c) chemolithotrophic metabolism, and (d) phototrophic metabolism. Note the importance of electron transport leading to proton motive force formation in each case.

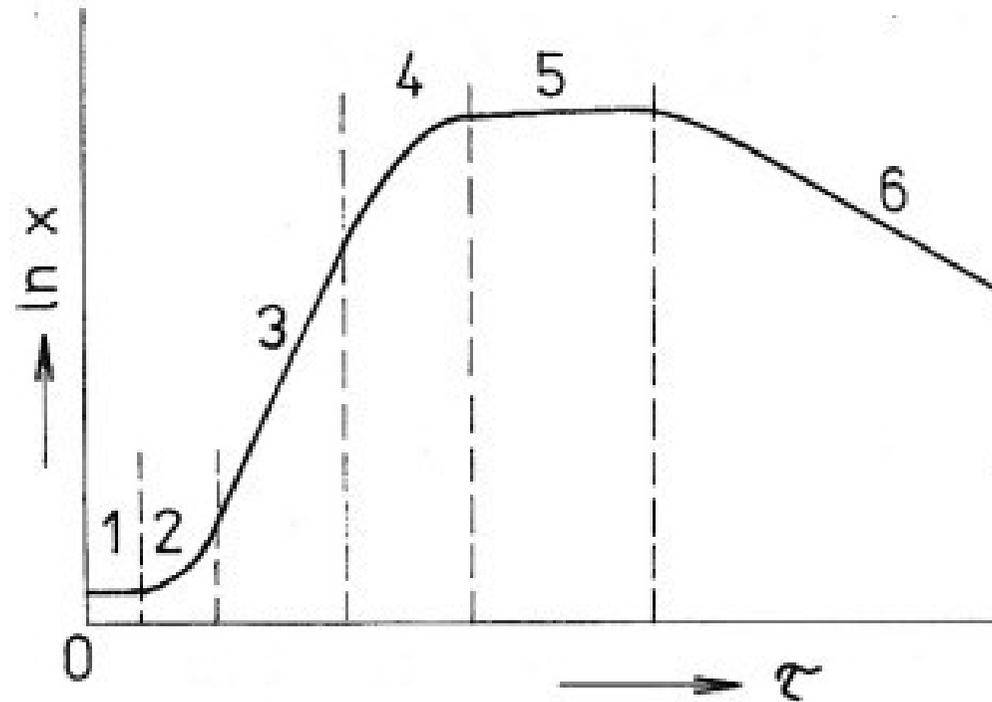
## Růst a množení bakterií



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.

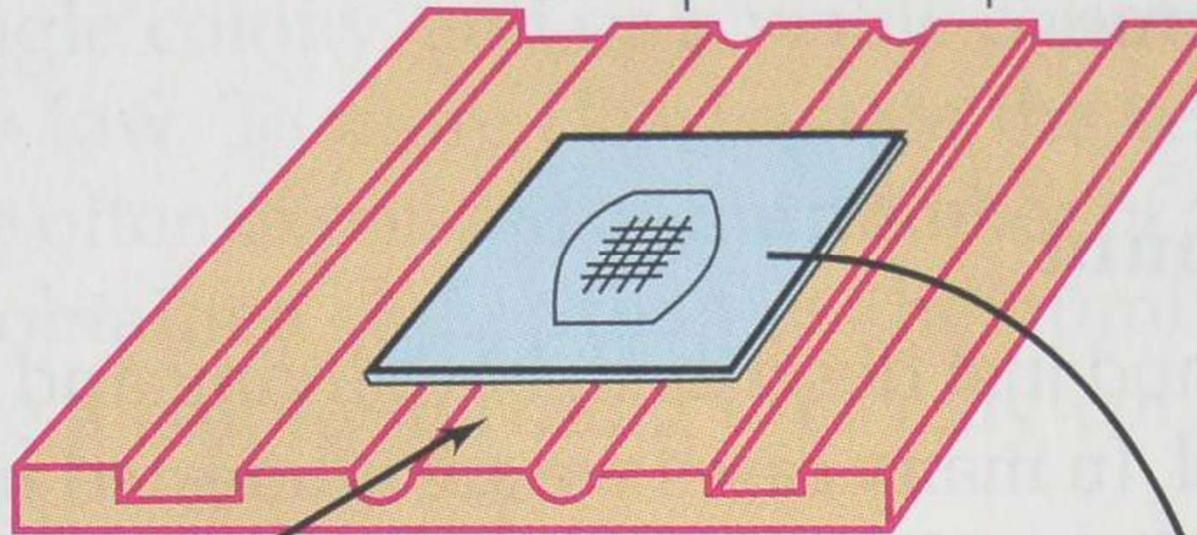
**FÁZE ZRYCHLUJÍCÍHO SE RŮSTU:** Přechodná fáze, kde se buňky začínají množit zvyšující se rychlostí a zkracující se generační dobou. Buněčná populace v této fázi přechází do fáze exponenciální.

**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.

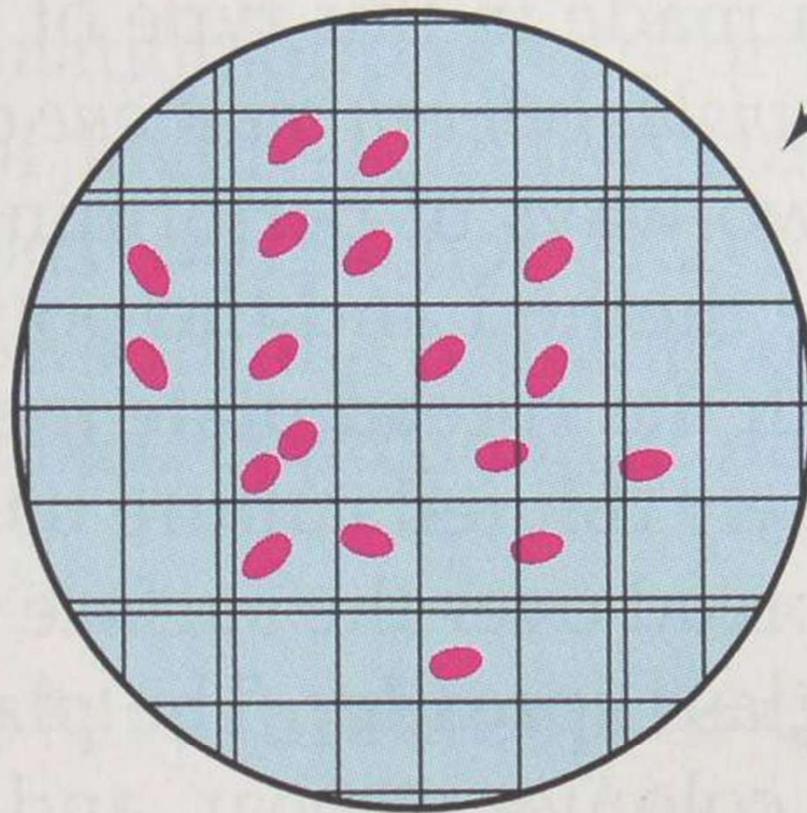
**STACIONÁRNÍ FÁZE:** Při vyčerpání některé živiny nebo při vzrůstu koncentrace toxického metabolitu nad určitou hranici dojde k zastavení růstu buněčné populace. V této fázi buňky nepřibývají, ale ani neubývají. Počet odumírajících buněk je kompenzován jejich pomalým rozmnožováním.

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

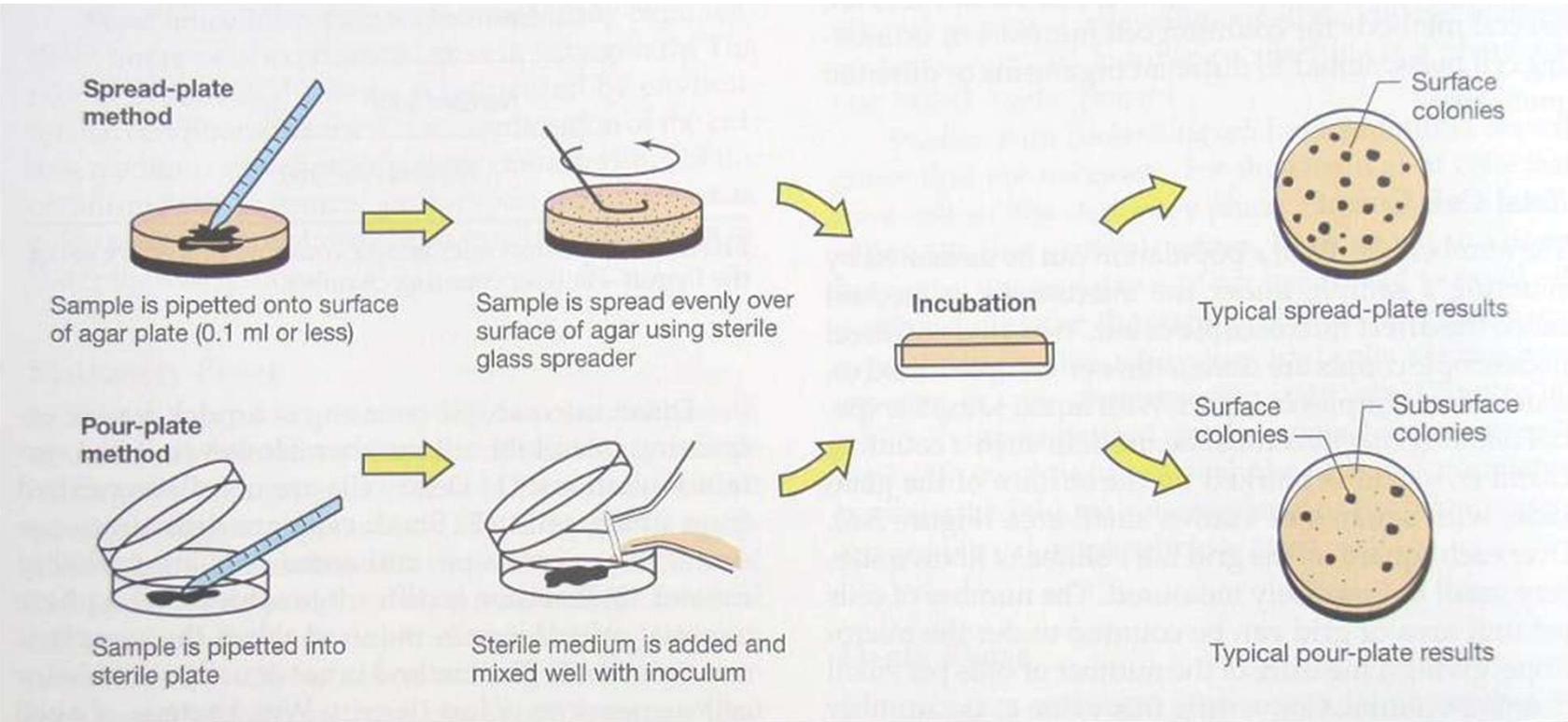
Ridges that support coverslip



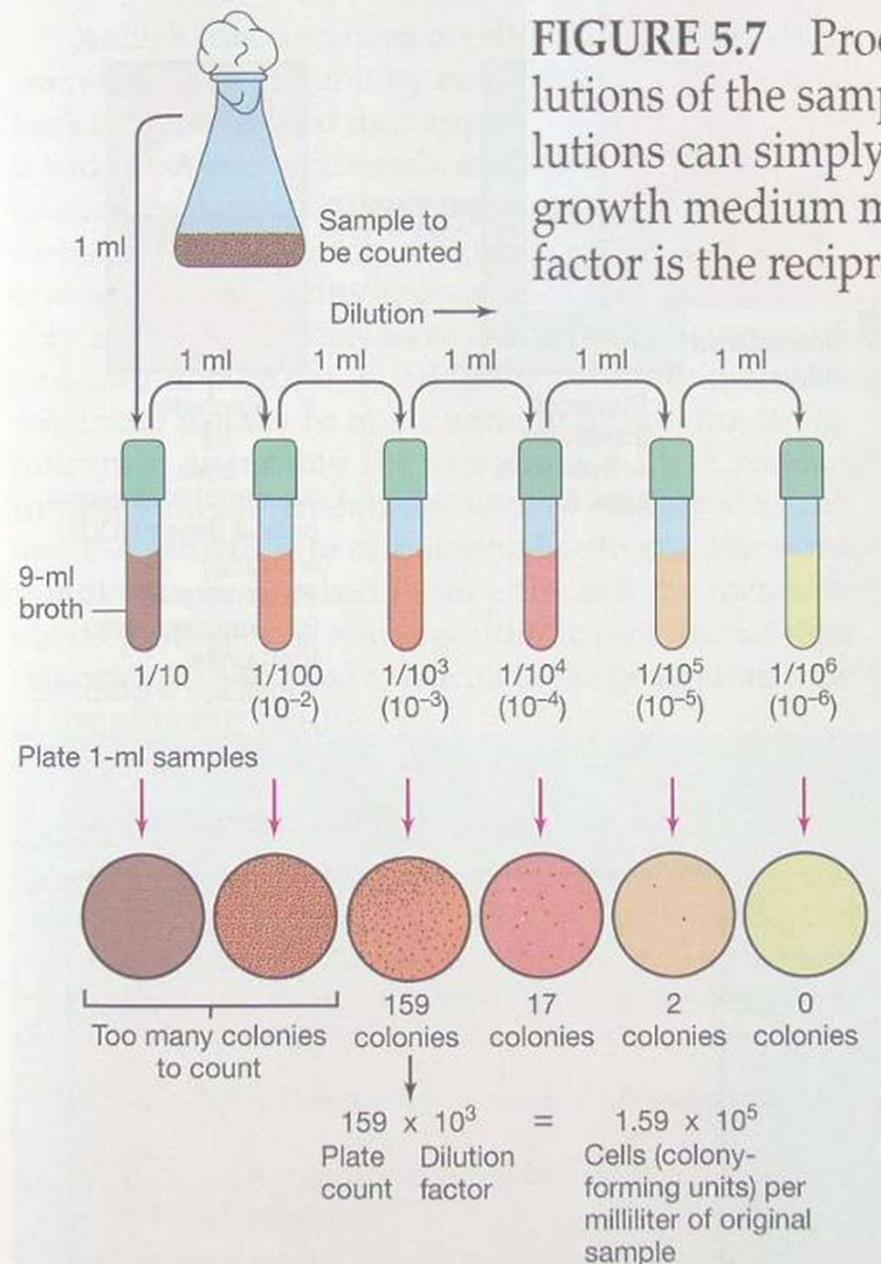
Sample added here; care must be taken not to allow overflow; space between coverslip and slide is 0.02 mm ( $\frac{1}{50}$  mm). Whole grid has 25 large squares, a total area of 1 mm<sup>2</sup> and a total volume of 0.02 mm<sup>3</sup>.

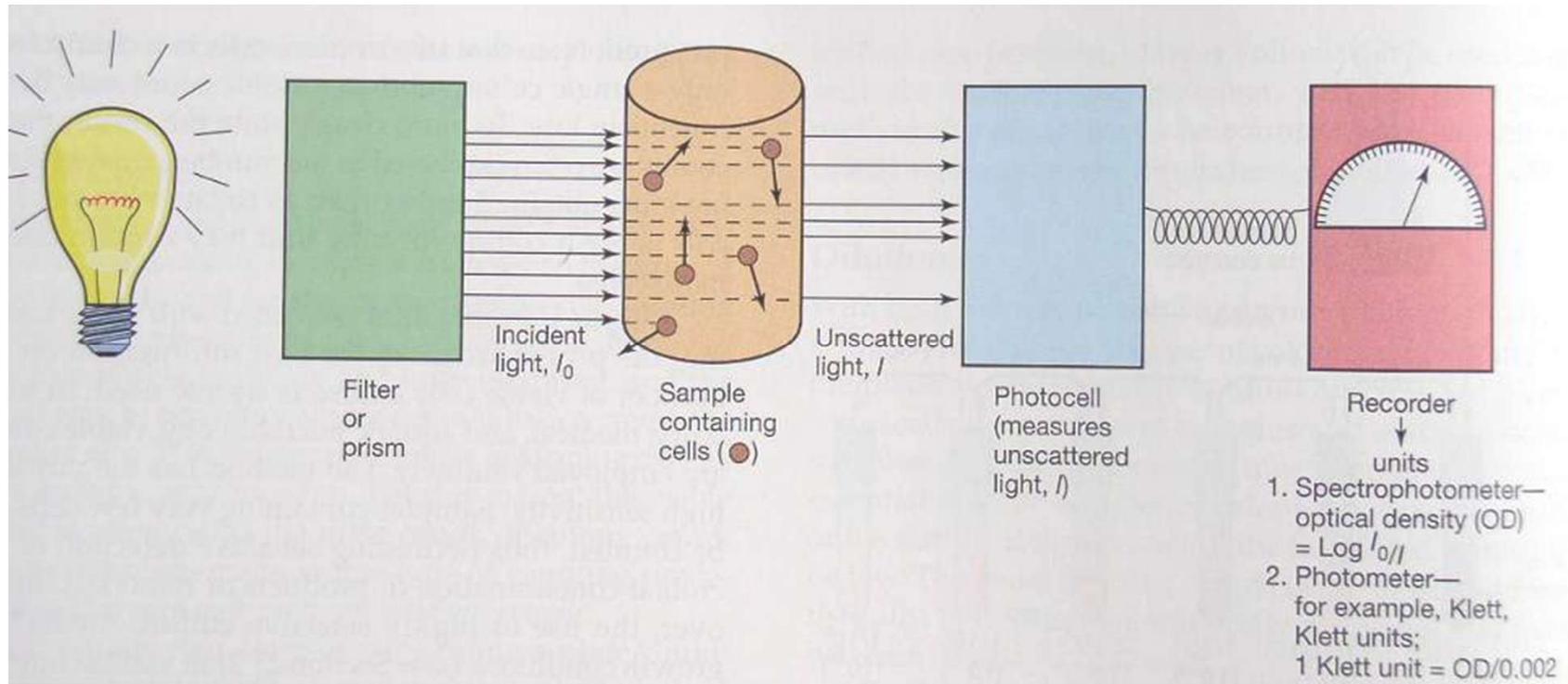


Microscopic observation; all cells are counted in large square: 12 cells (in practice, several squares are counted and the numbers averaged.)

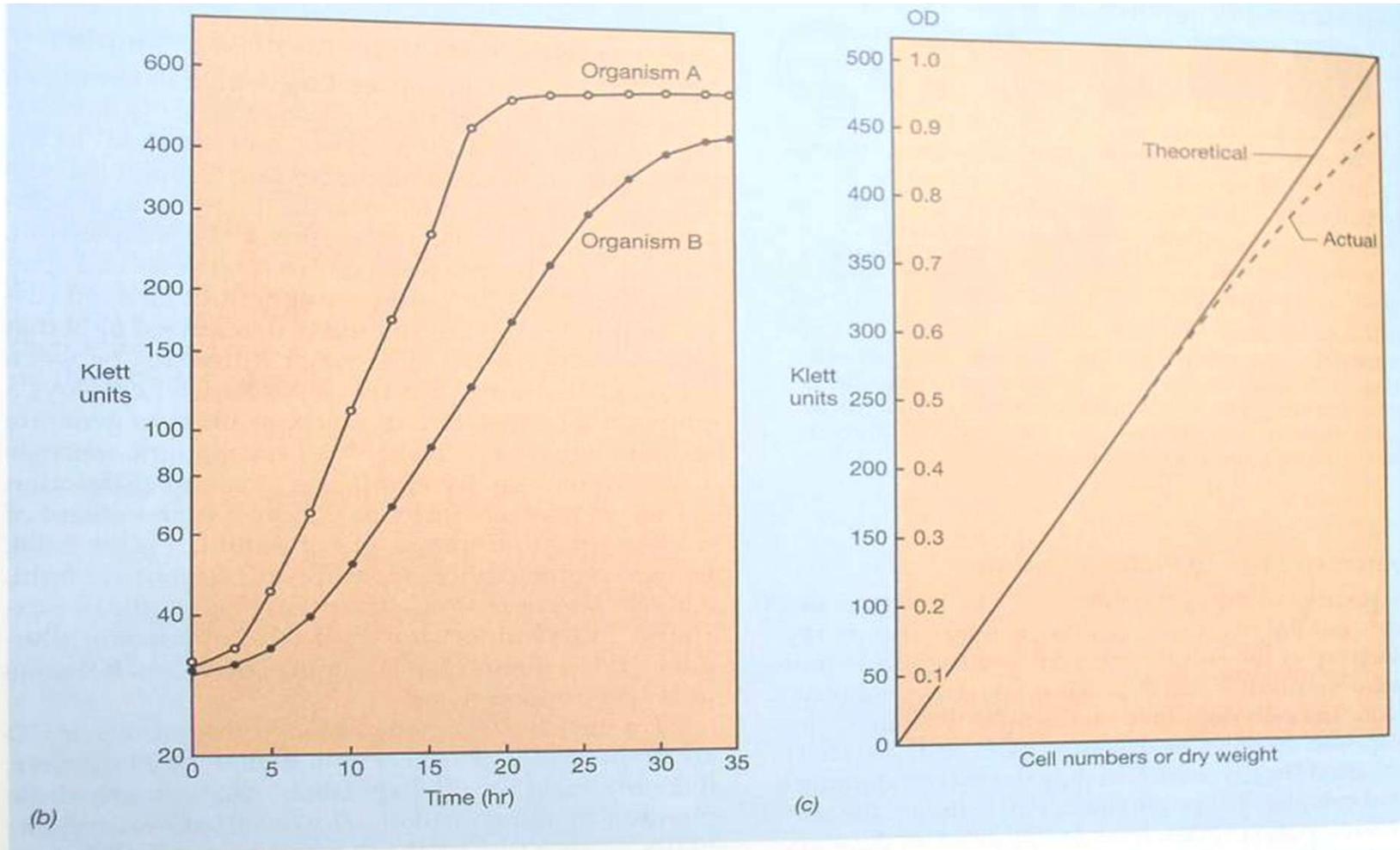


**FIGURE 5.6** Two methods of performing a viable count (plate count). In either case the sample must usually be diluted before plating.

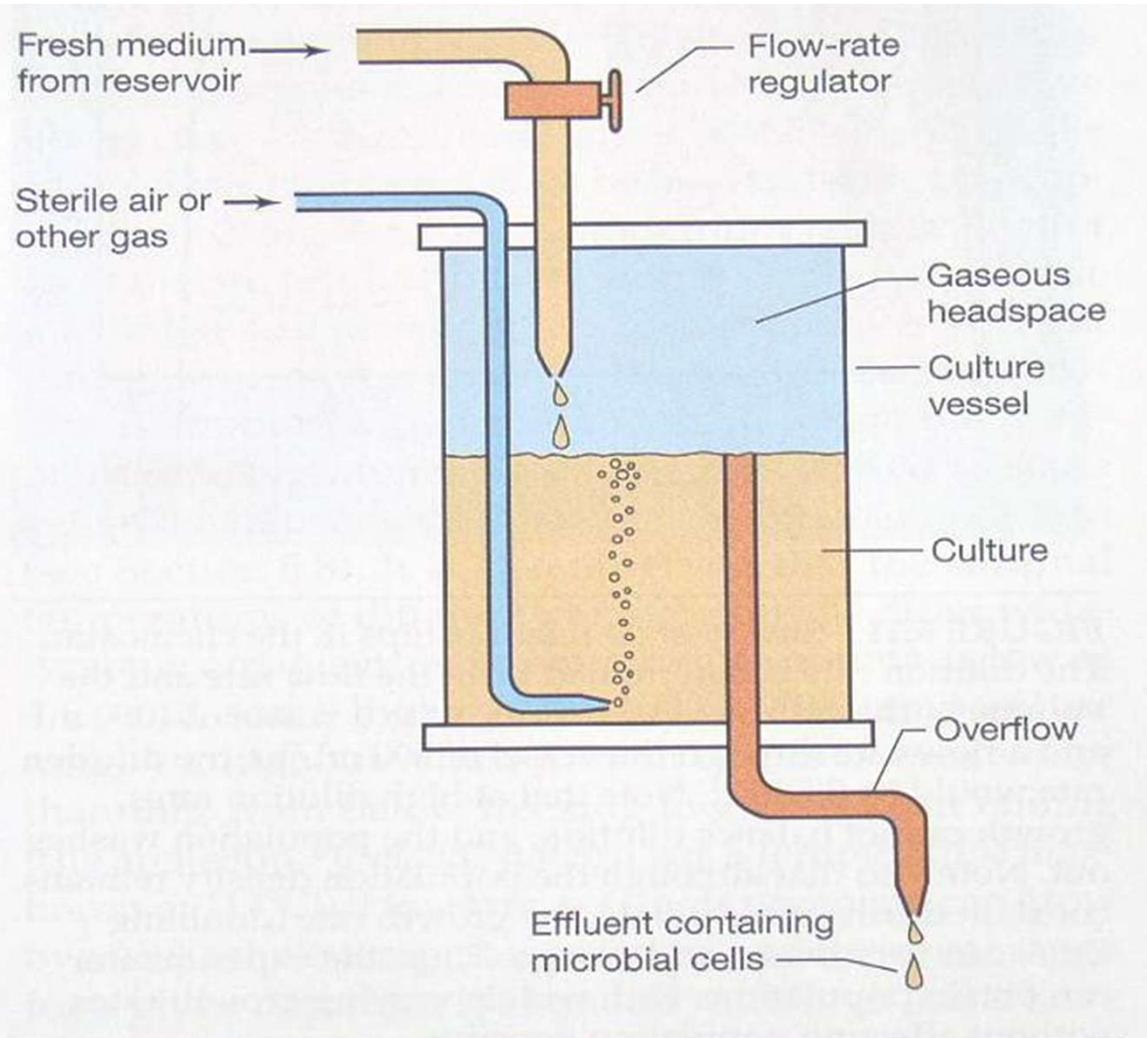




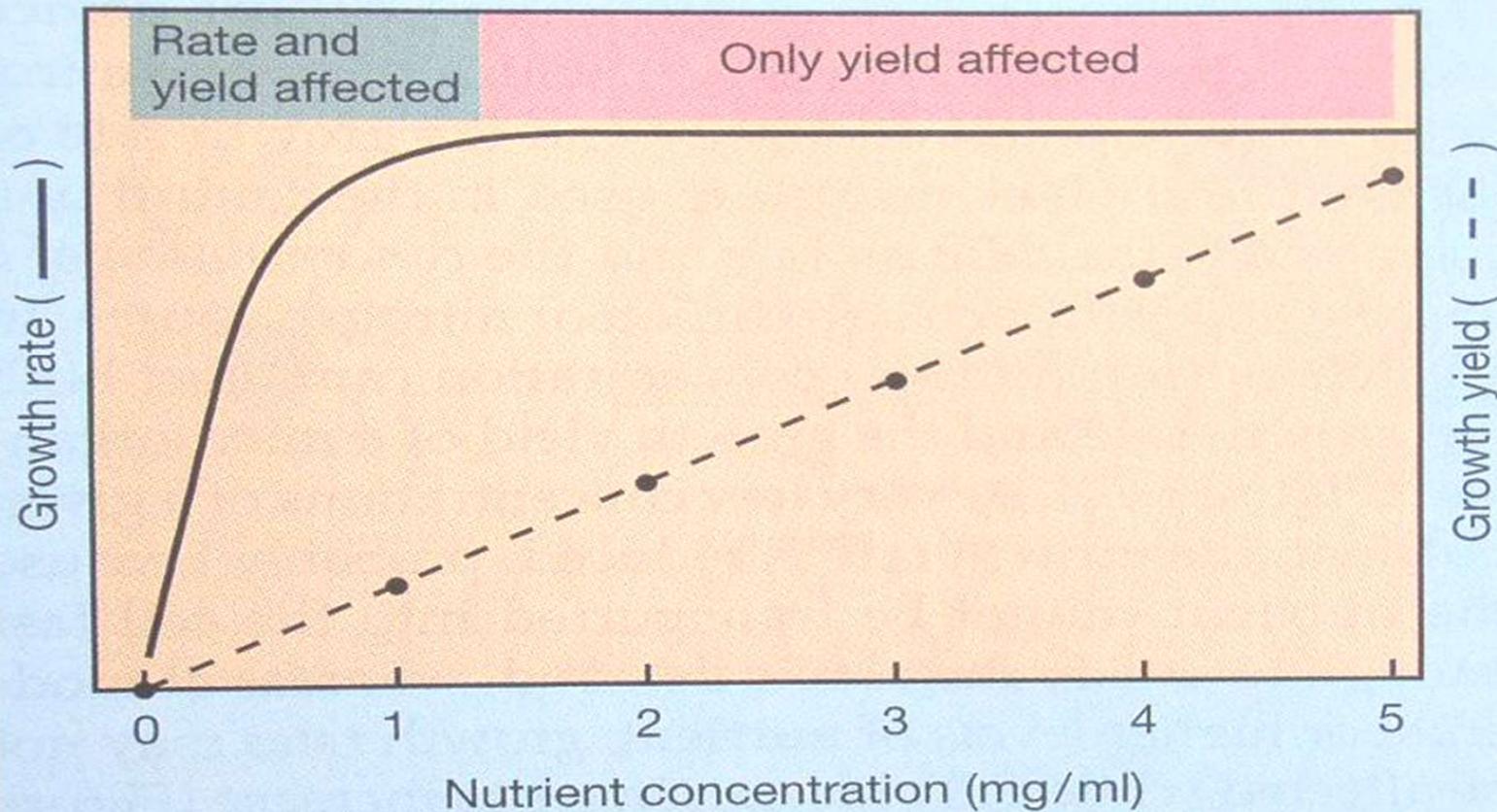
## Princip turbidimetrie



**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.

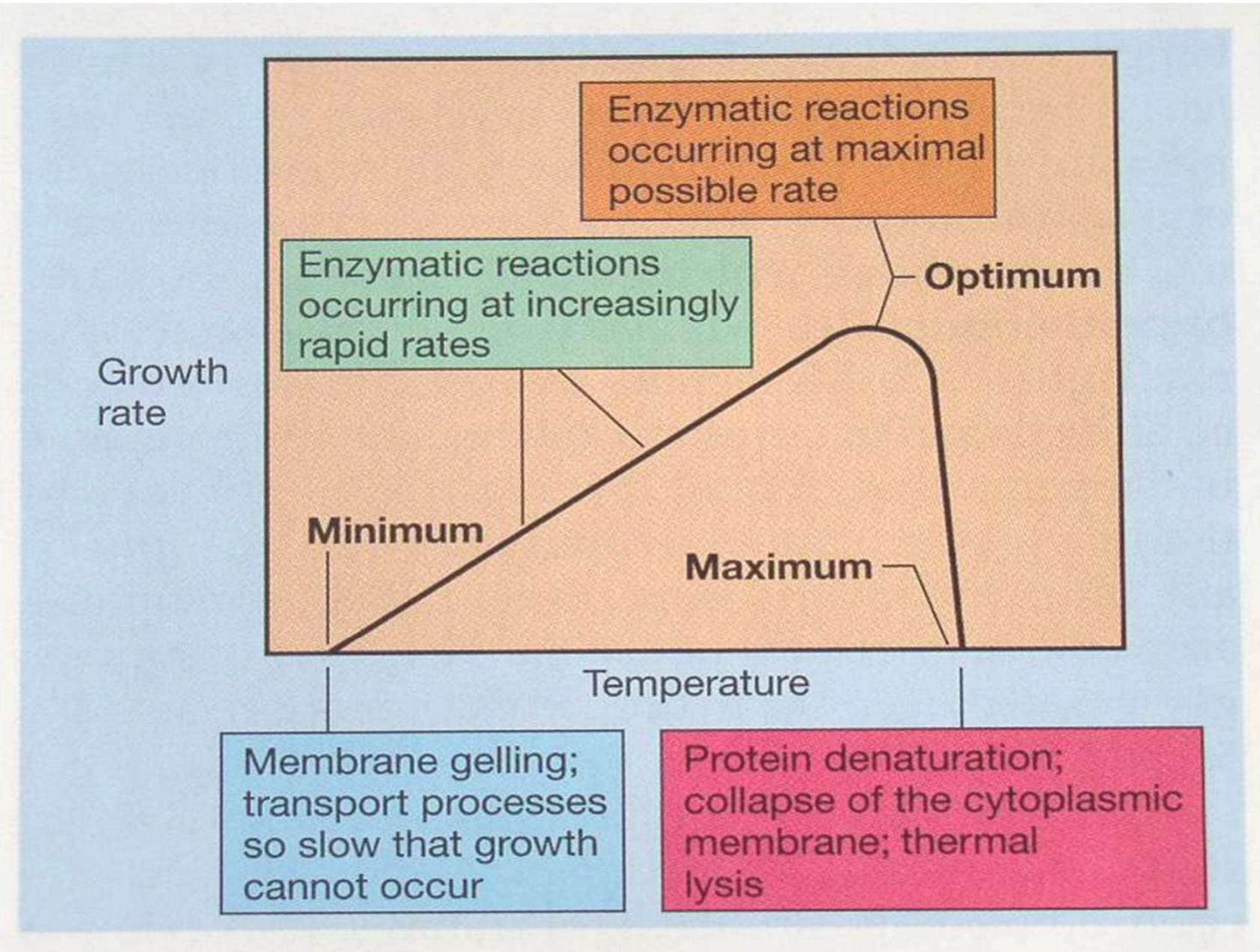


**FIGURE 5.10** Relationship among nutrient concentration, growth rate (solid line), and growth yield (dashed line) in a batch culture (closed system). At low nutrient concentrations both growth rate and growth yield are affected.

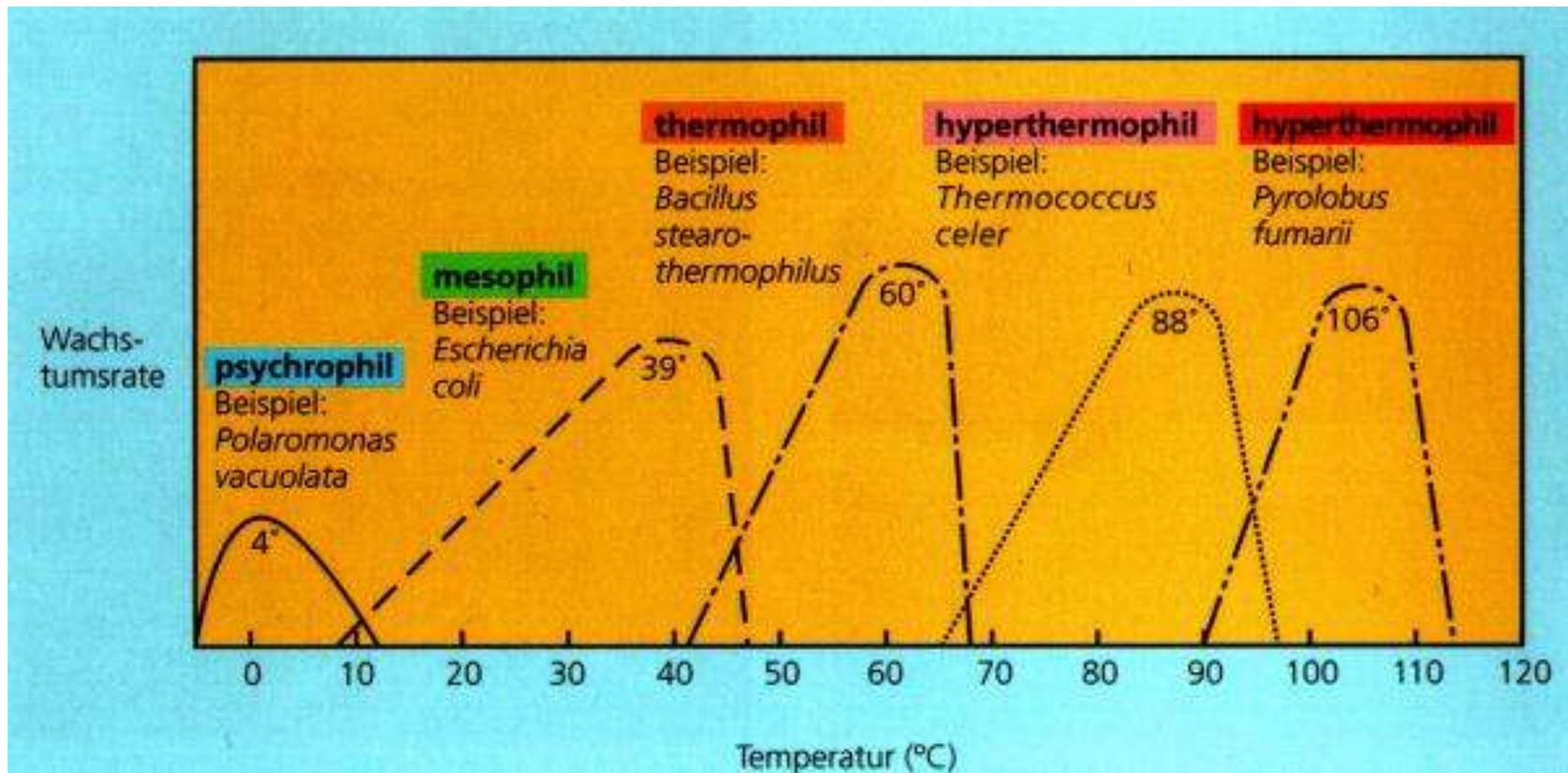
**TABLE 5.1****Presently known upper temperature limits for growth of living organisms**

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

<sup>a</sup> See a possible exception in Section 16.12 and Figure 16.34.

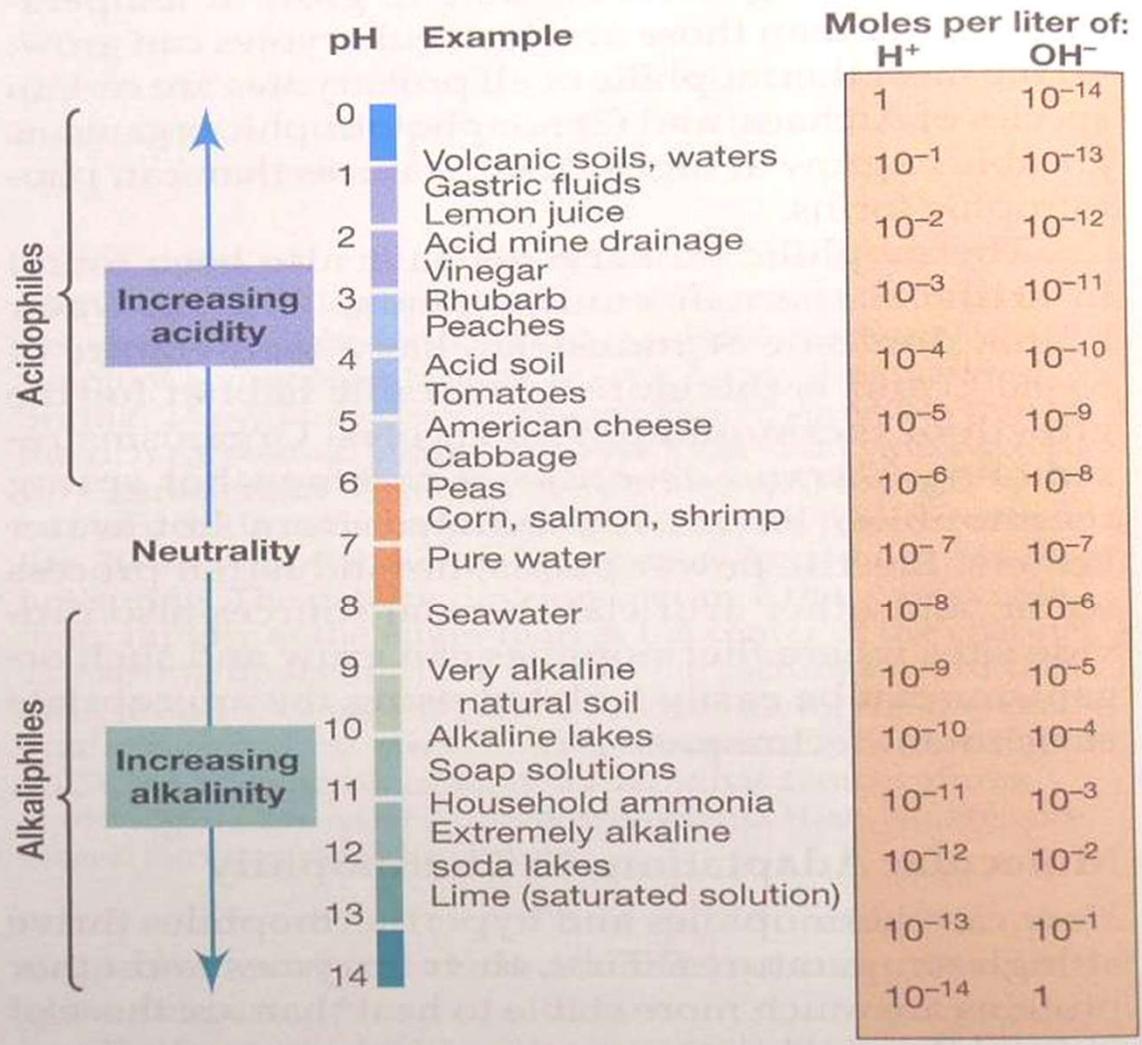


Bezeichnung	Temperaturfenster	Beispiellebensraum
psychrophil	unterhalb 15° C	Gletscher
mesophil	15 - 40° C	gemäßigte Zonen, Meere
thermophil	40 - 100° C	Komposthaufen
hyperthermophil	über 100° C	heiße Quellen



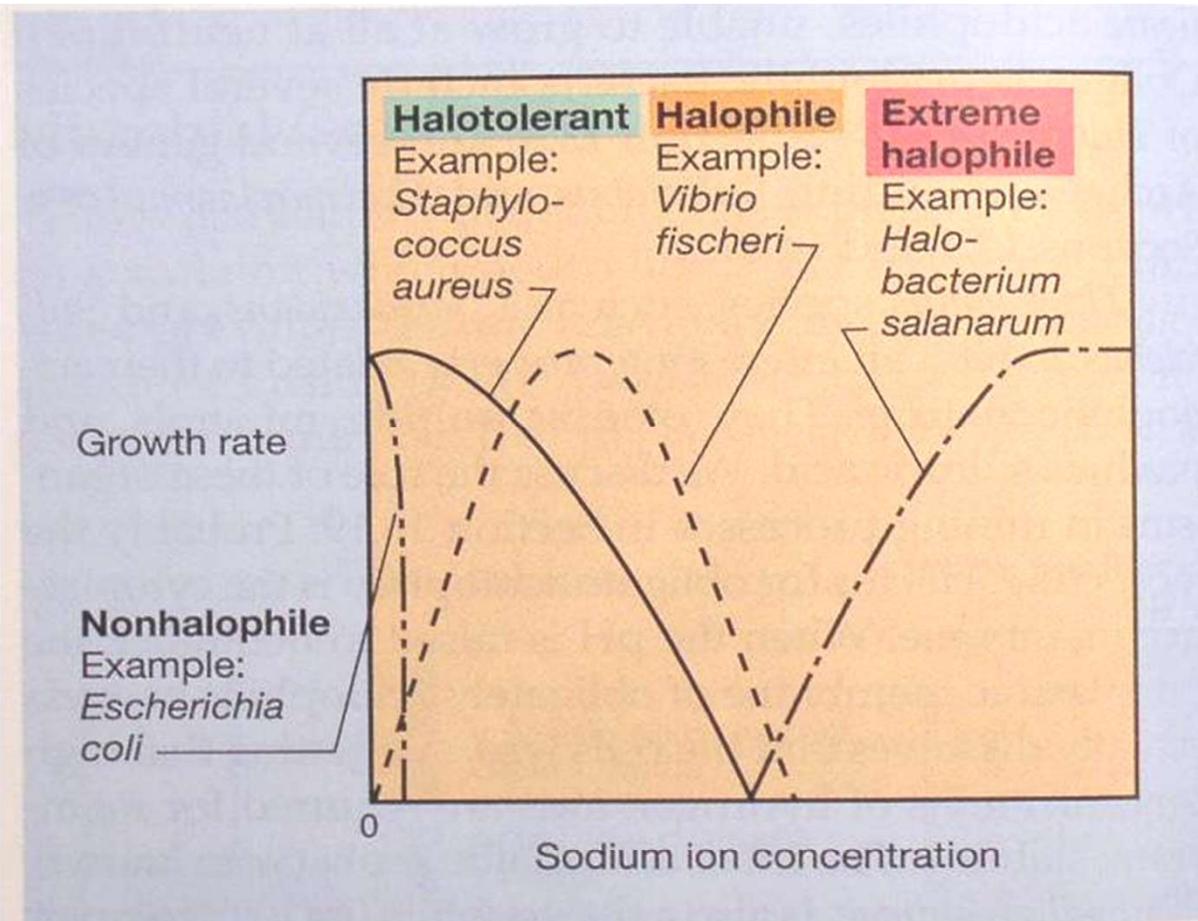
- **Letální účinek tepla-** výše teploty, doba expozice, podmínky prostředí, kondice MO
- Účinek především na koagulaci bílkovin
- Denaturace bílkovin – inaktivace enzymů, destrukce jedinného esenciálního – odumření buňky
- Ochlazení pod bod mrazu – rozdíl spočívá v tom, zda se jedná o pomalé – vznik 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 <sub>2</sub>	Type of metabolism	Example	Habitat <sup>a</sup>
<b>Aerobes</b>				
Obligate	Required	Aerobic respiration	<i>Micrococcus luteus</i>	Skin, dust
Facultative	Not required, but growth better with O <sub>2</sub>	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
<b>Anaerobes</b>				
Aerotolerant	Not required, and growth no better when O <sub>2</sub> 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

<sup>a</sup> 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**,

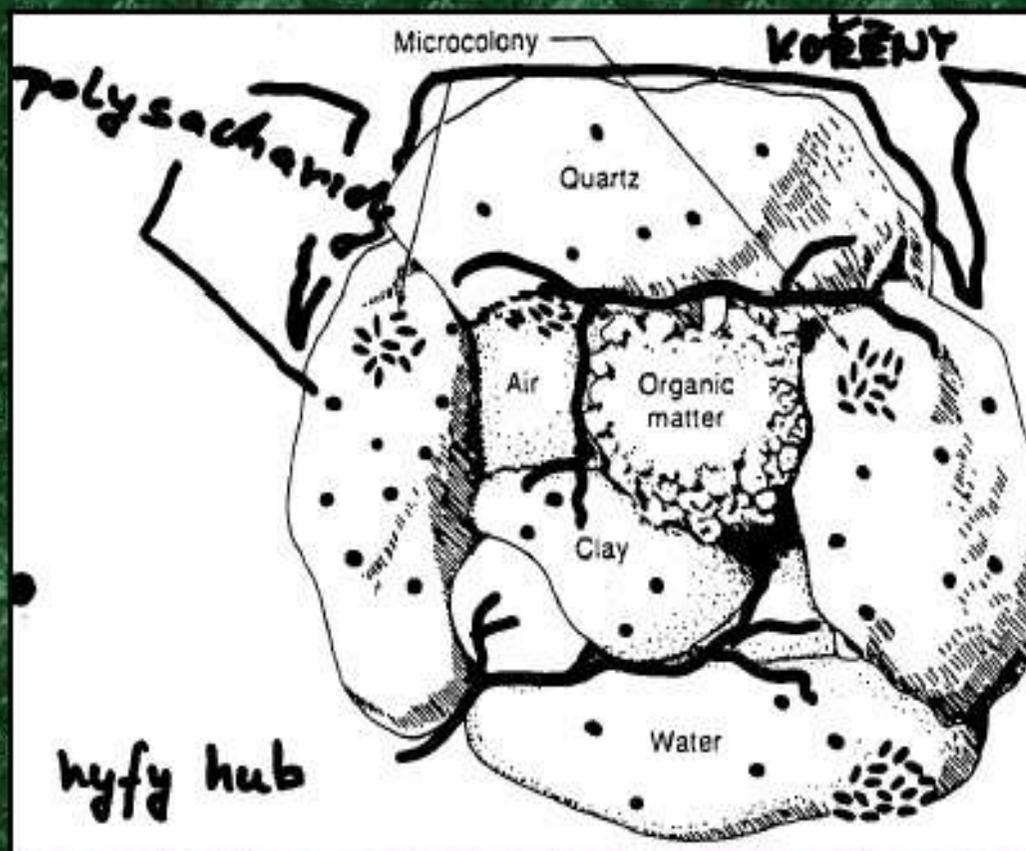
- **barotolerantní** ty které rostou a rozmnožují se při normálním atm. tlaku, ale jsou schopny překonat i tyto extrémní podmínky

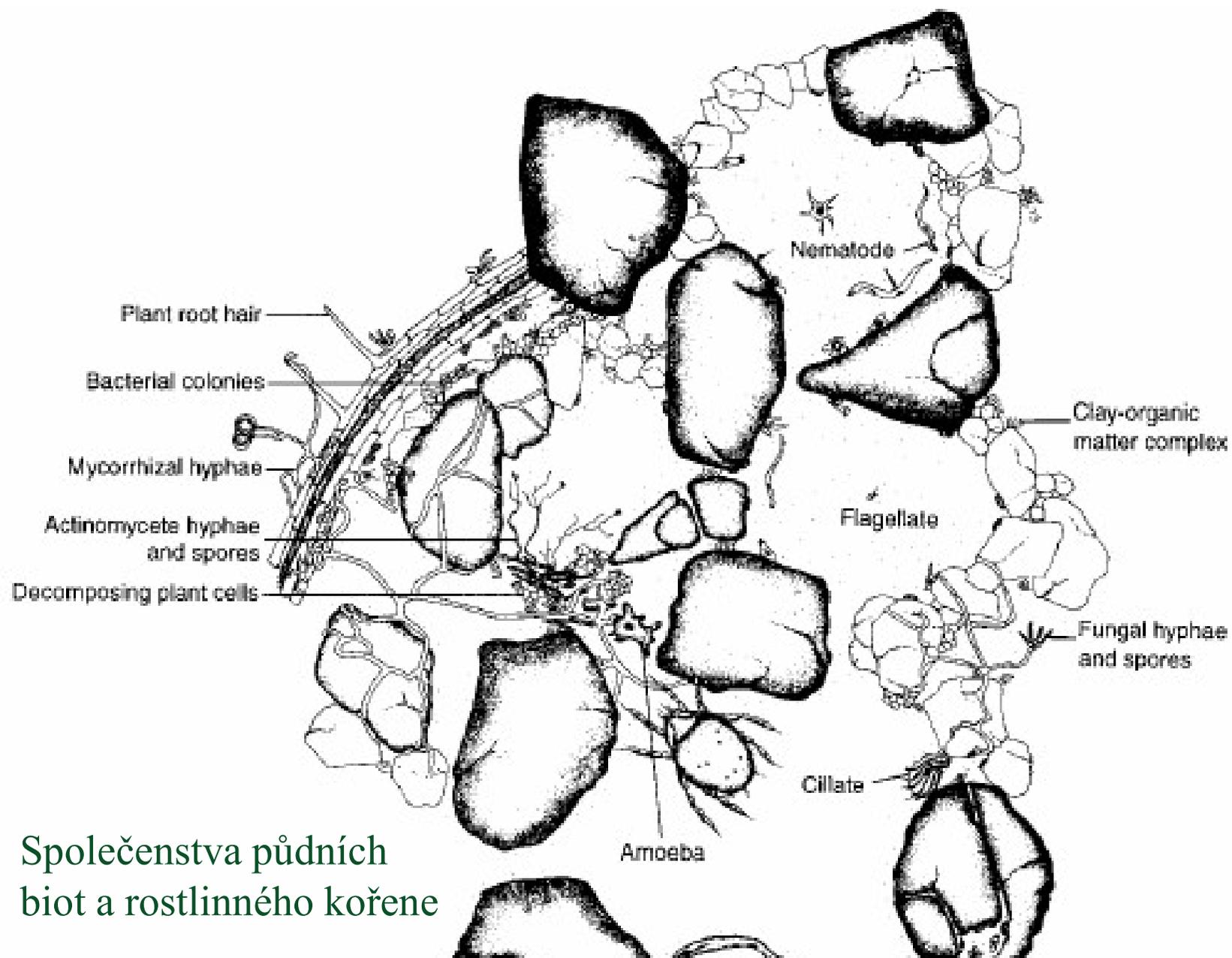
## Kontrolní otázky

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

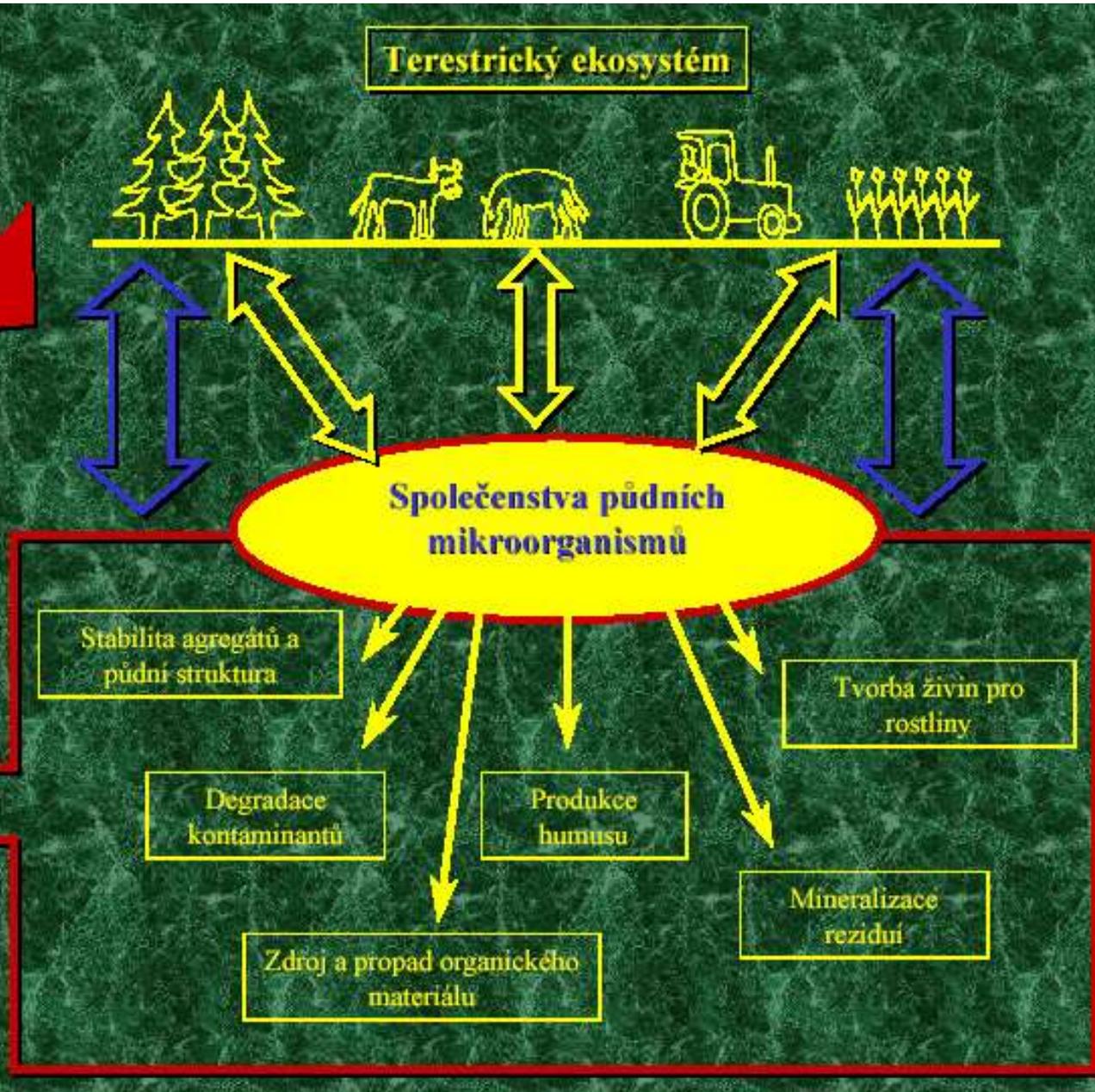
- stěžejní v cyklech živin a energií
- stojí na počátku potravních řetězců
- rozklad organické hmoty (mineralizace)
- syntéza nových sloučenin (immobilizace)
- tvorba humusu
- udržování půdní struktury
- prospěšný vliv na půdní úrodnost a pro růst rostlin
- vliv na vodní a vzdušný režim půdy



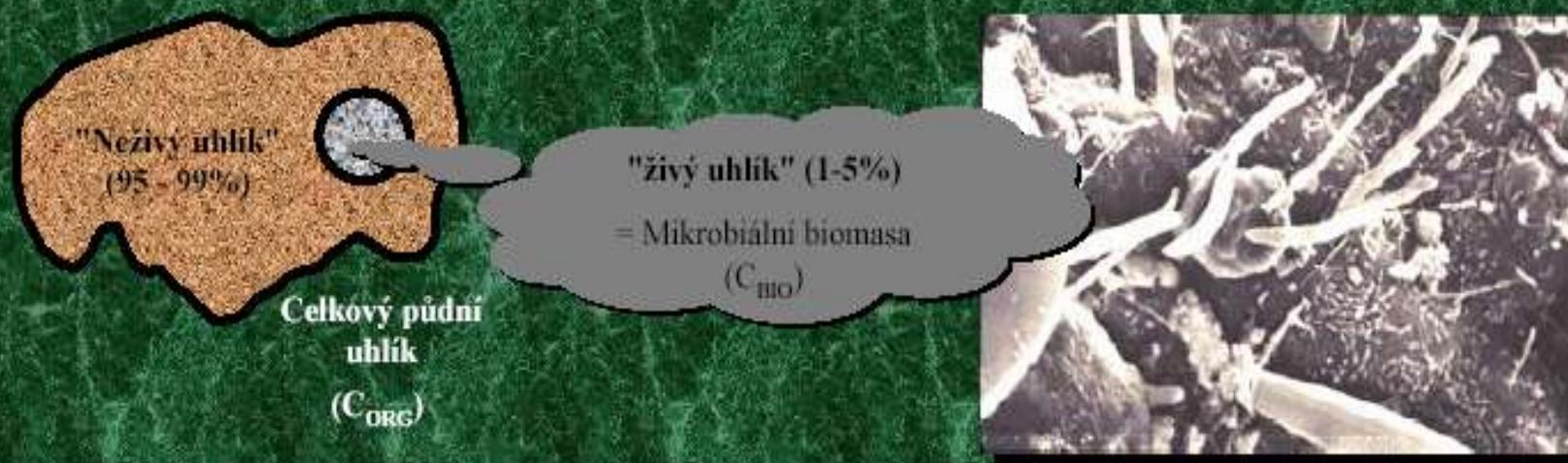
Indikátory půdní kvality:

- Fyzikální
- Chemické
- Biologické

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



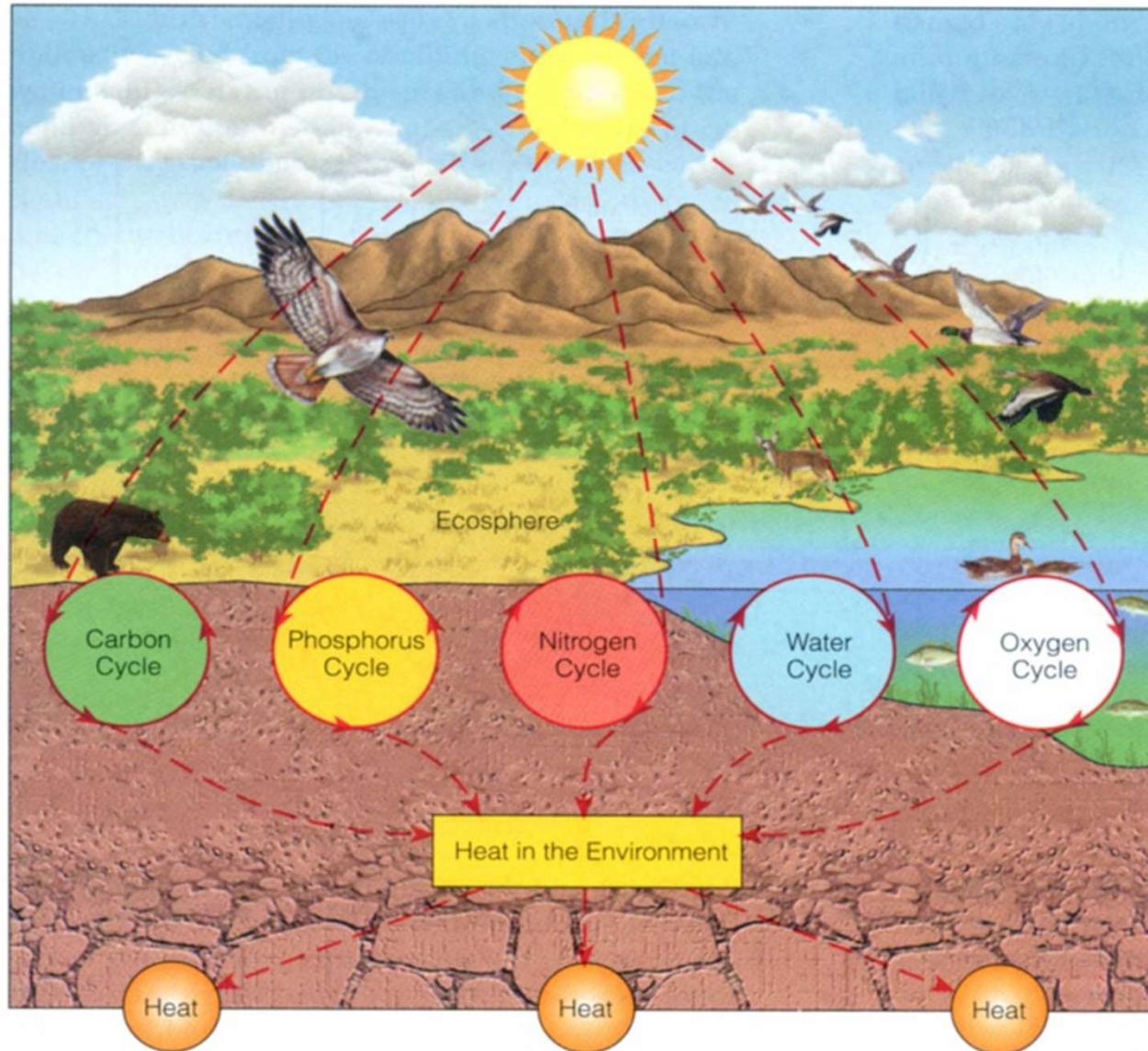
- 0,05 - 0,5% hmoty půdy jsou mikroorganismy
- $10^5$  až  $10^9$  jedinců v 1 g suché půdy
- toto množství stačí na zabezpečení veškerých procesů mineralizace a immobilizace a dalších procesů
- v půdě se vyskytují volně, či ve složité a dynamické vazbě na povrchích a uvnitř agregátů a částic organominerálního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



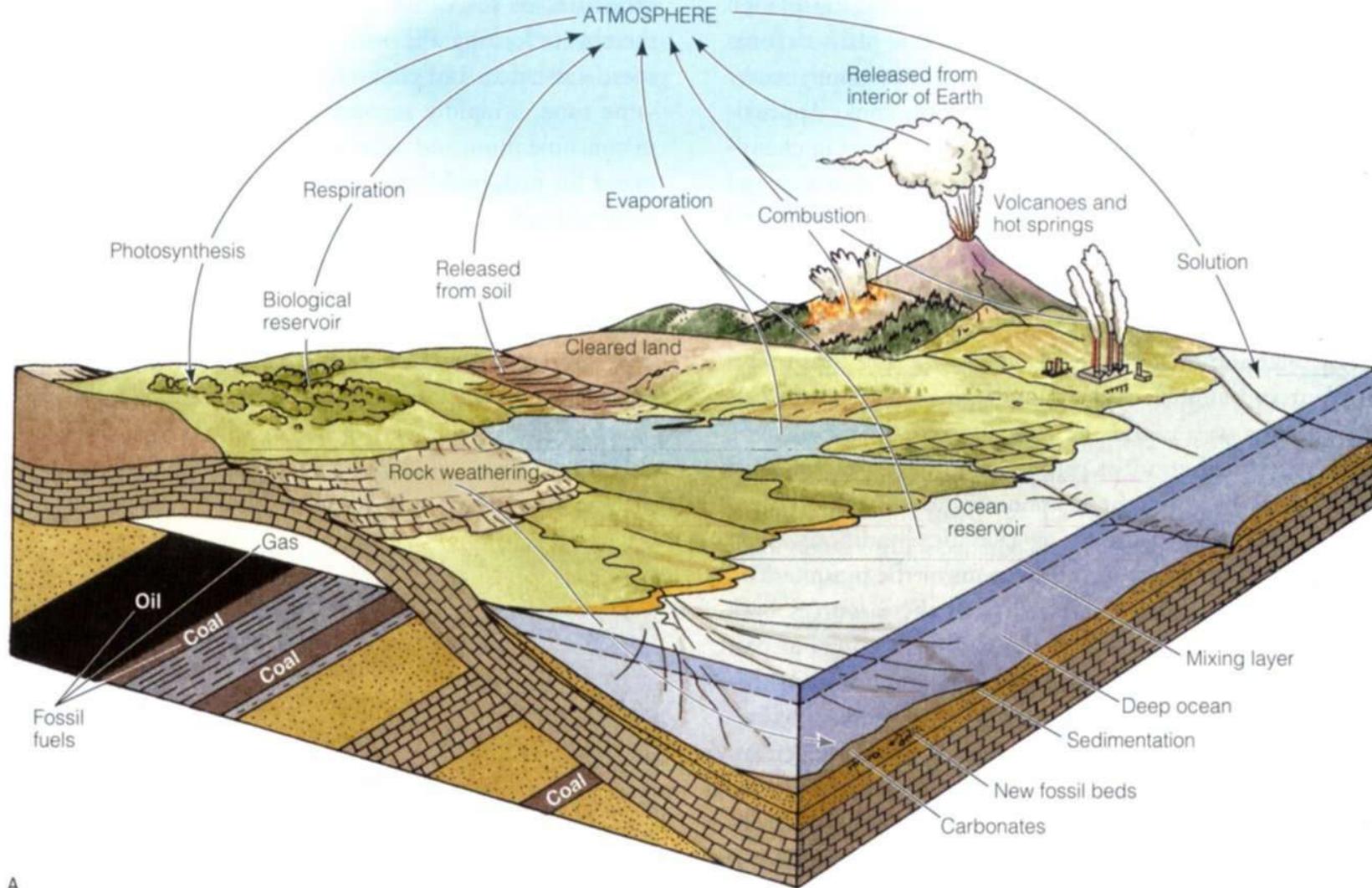
## Imobilizace versus mineralizace

- **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

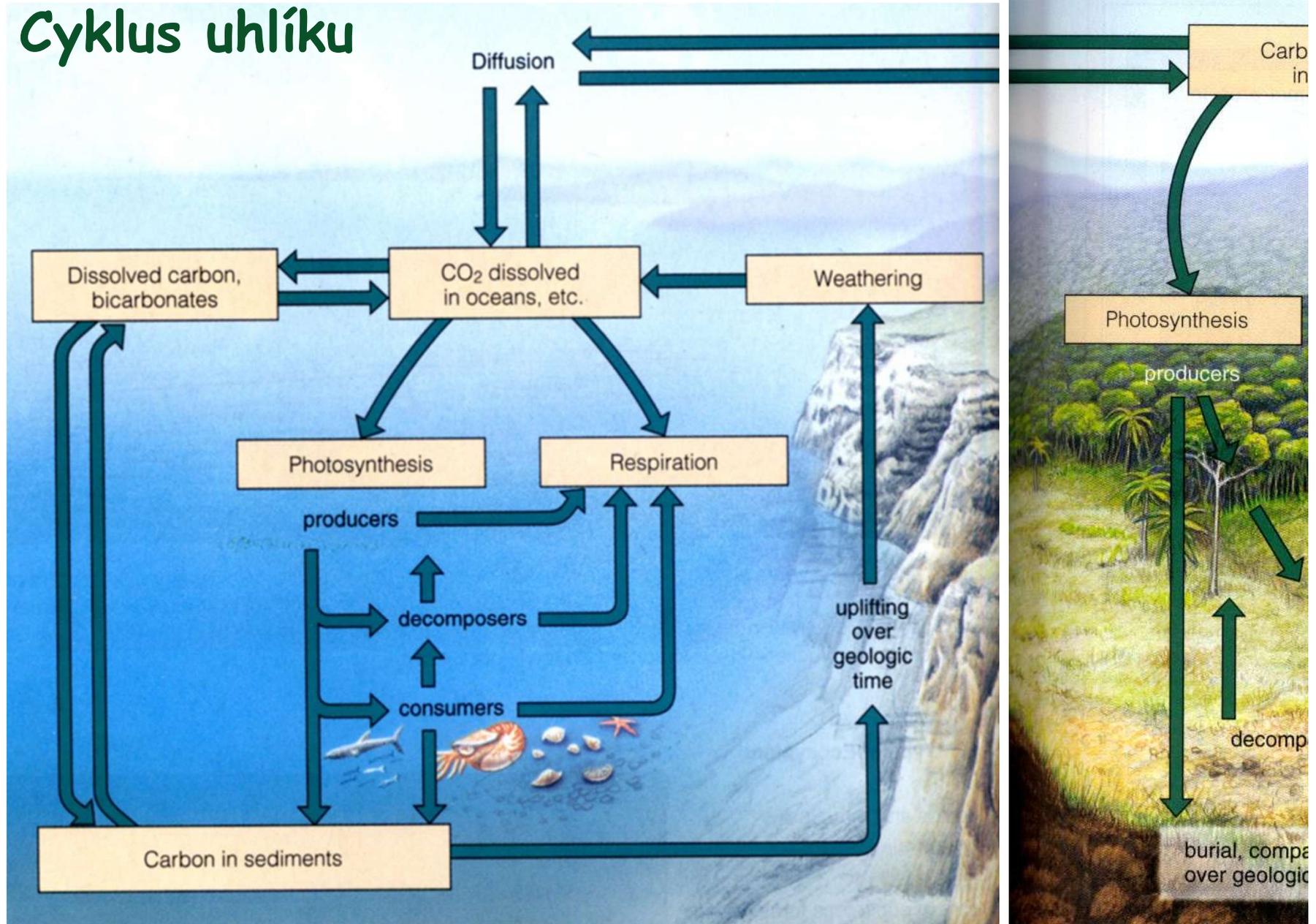


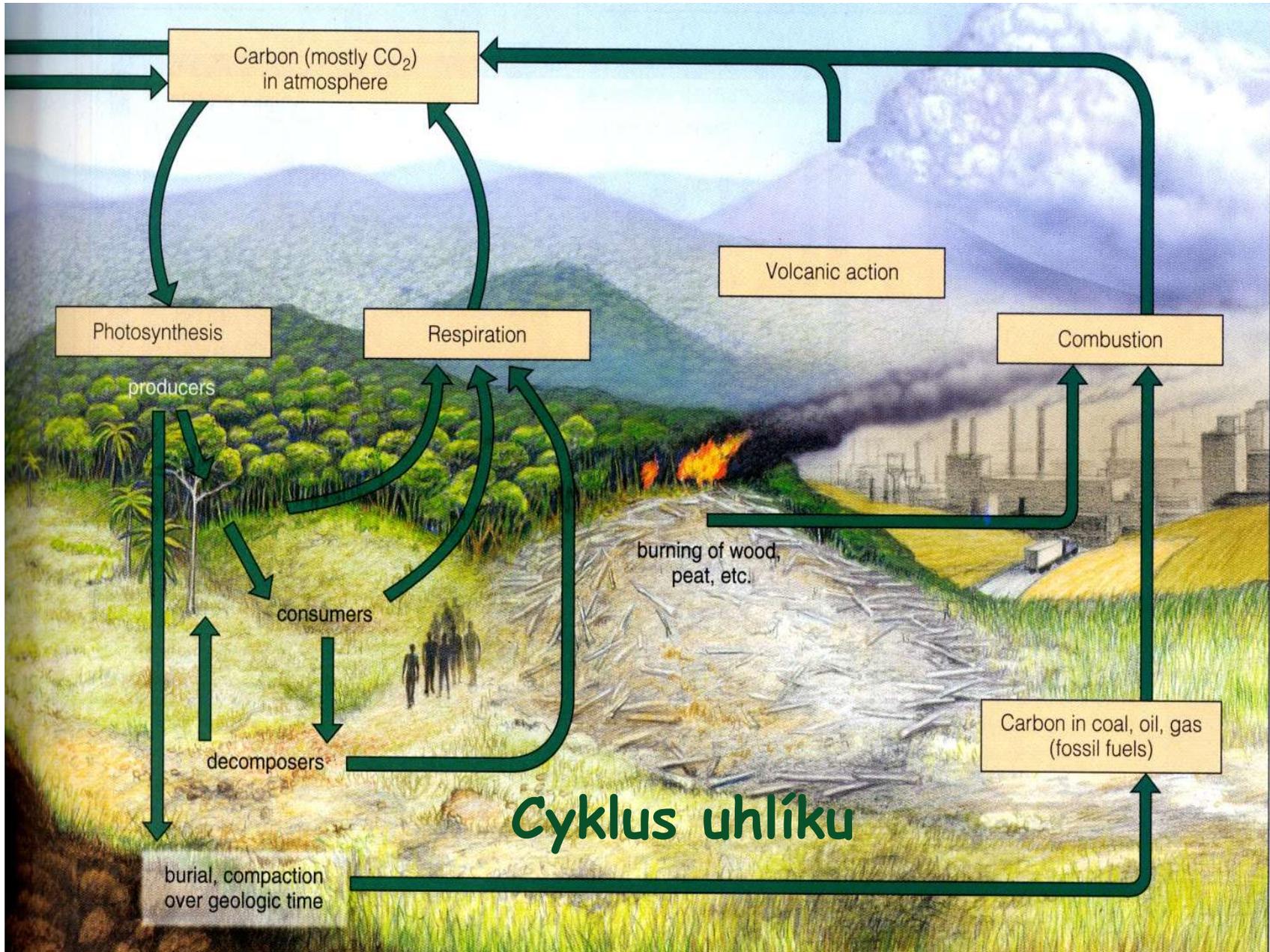
# Cyklus uhlíku



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**

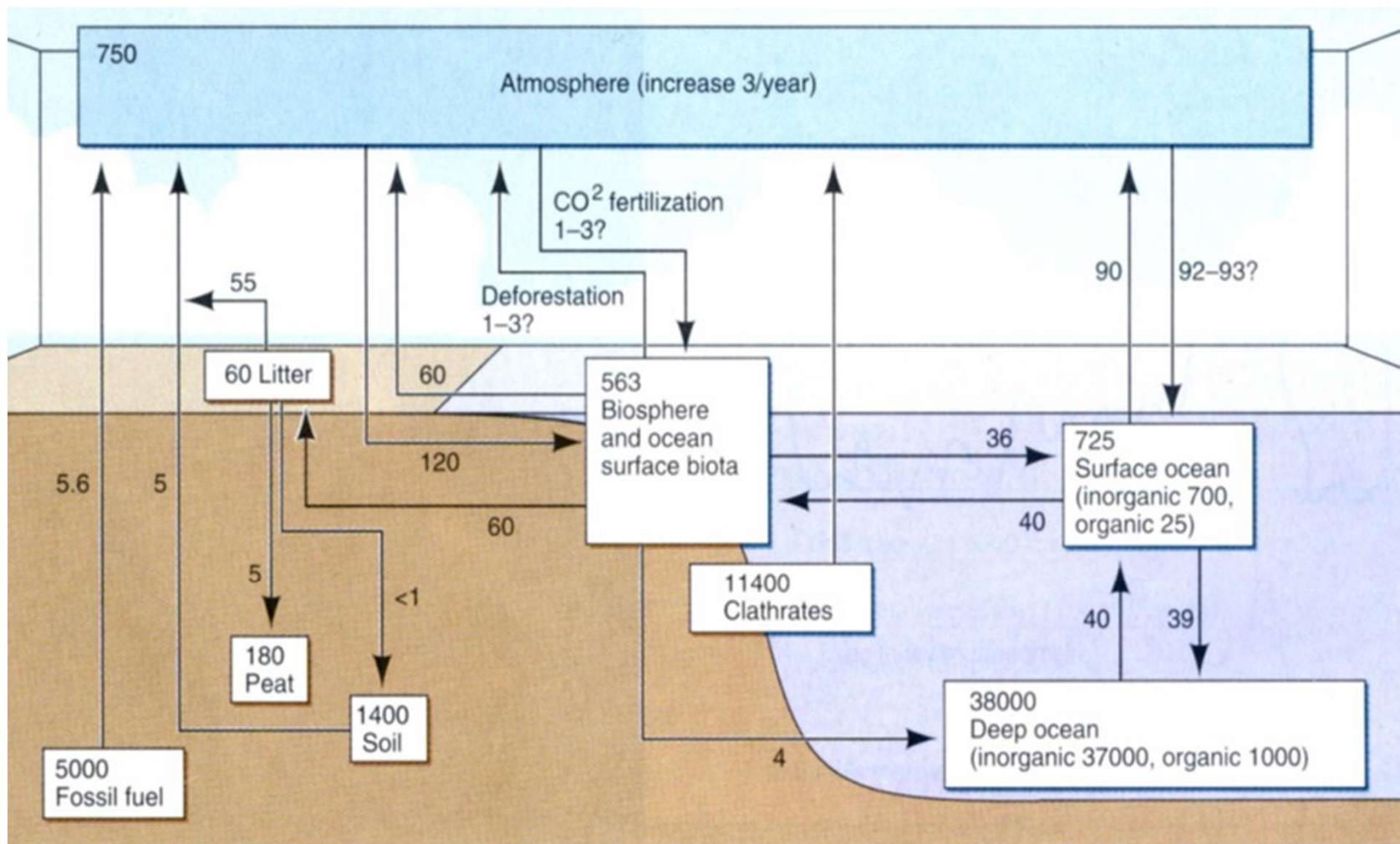
# Cyklus uhlíku

**Uhlík se nachází se ve všech velkých systémech a rezervoárech**

- **Biosféra:** základní stavební částice živých organismů
- **Litosféra:** vápencové horniny, fosilní paliva
- **Hydrosféra:** (rozpuštěný  $\text{CO}_2$  a karbonátové látky)
- **Atmosféra:** ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  ...): 0,036 %

**Největším rezervoárem uhlíku jsou oceánské a pevninské sedimenty.**

# Cyklus uhlíku a člověk



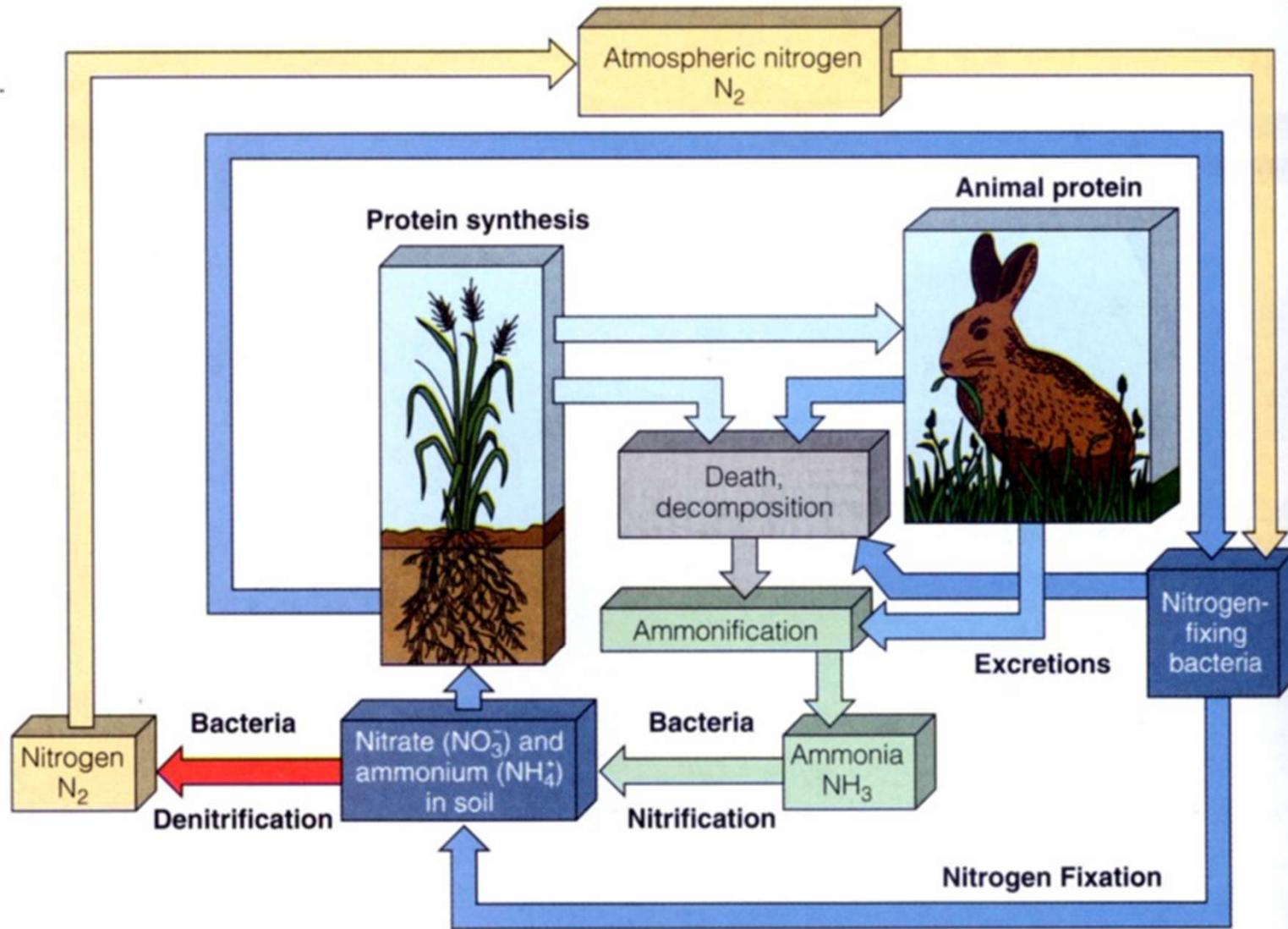
## Cyklus uhlíku

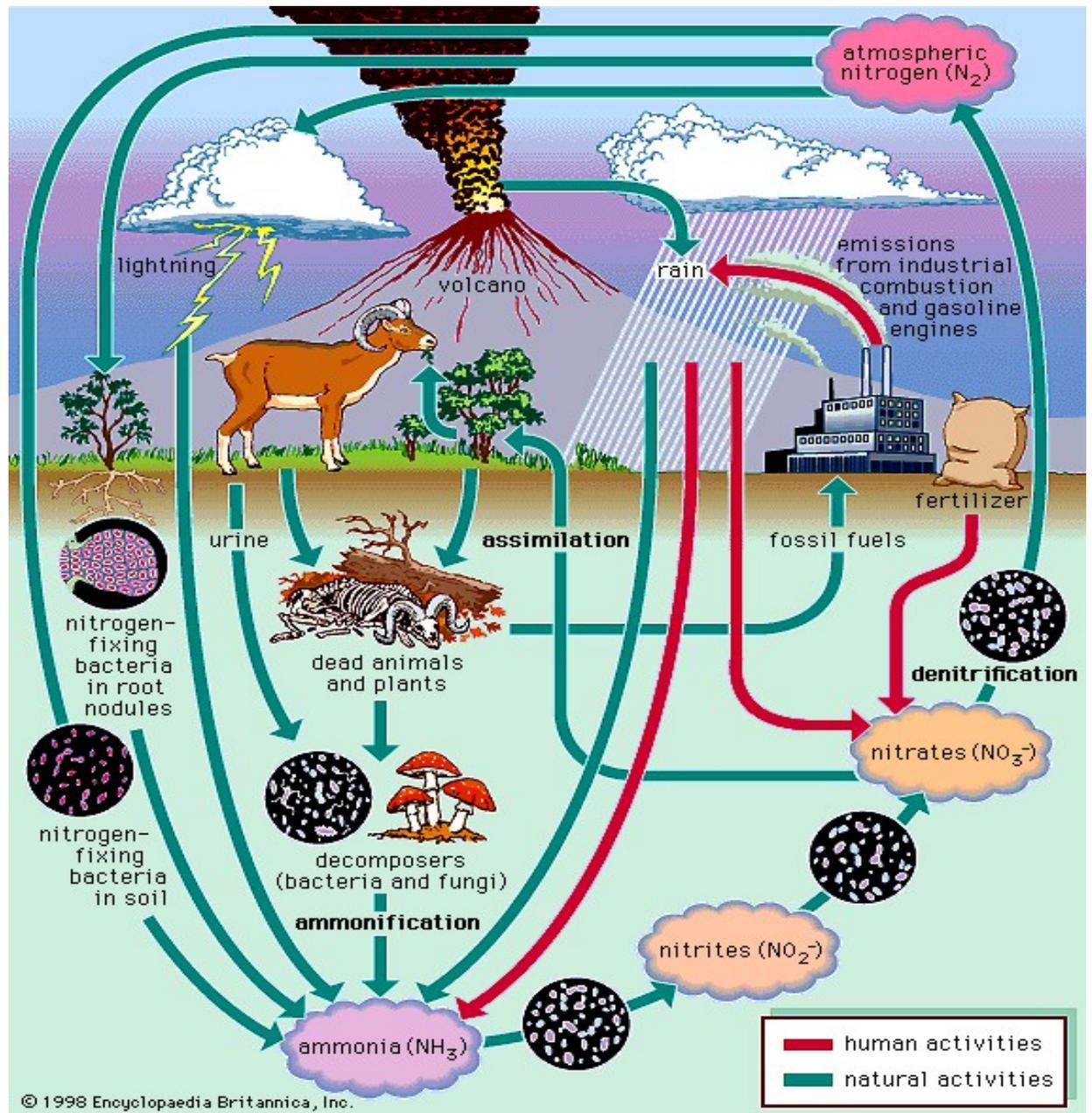
### a člověk

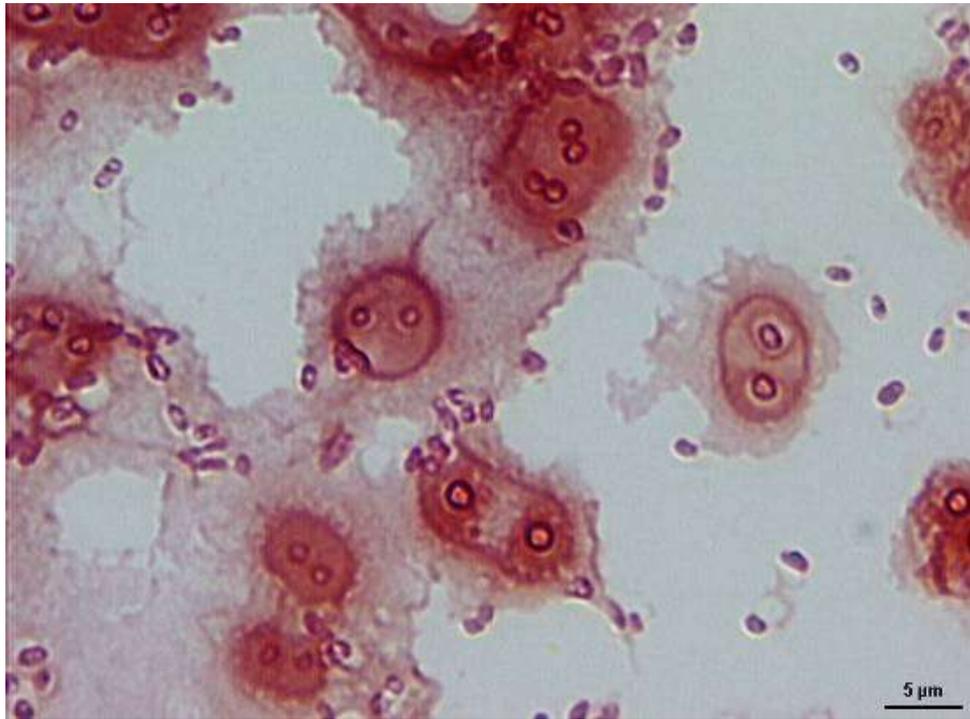
- do atmosféry 6 miliard t/rok spalováním fosilních paliv
- kolem 2 miliard t/rok odlesňováním
- **důsledek: místo přirozené spotřeby z atmosféry produkce CO<sub>2</sub>**

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,

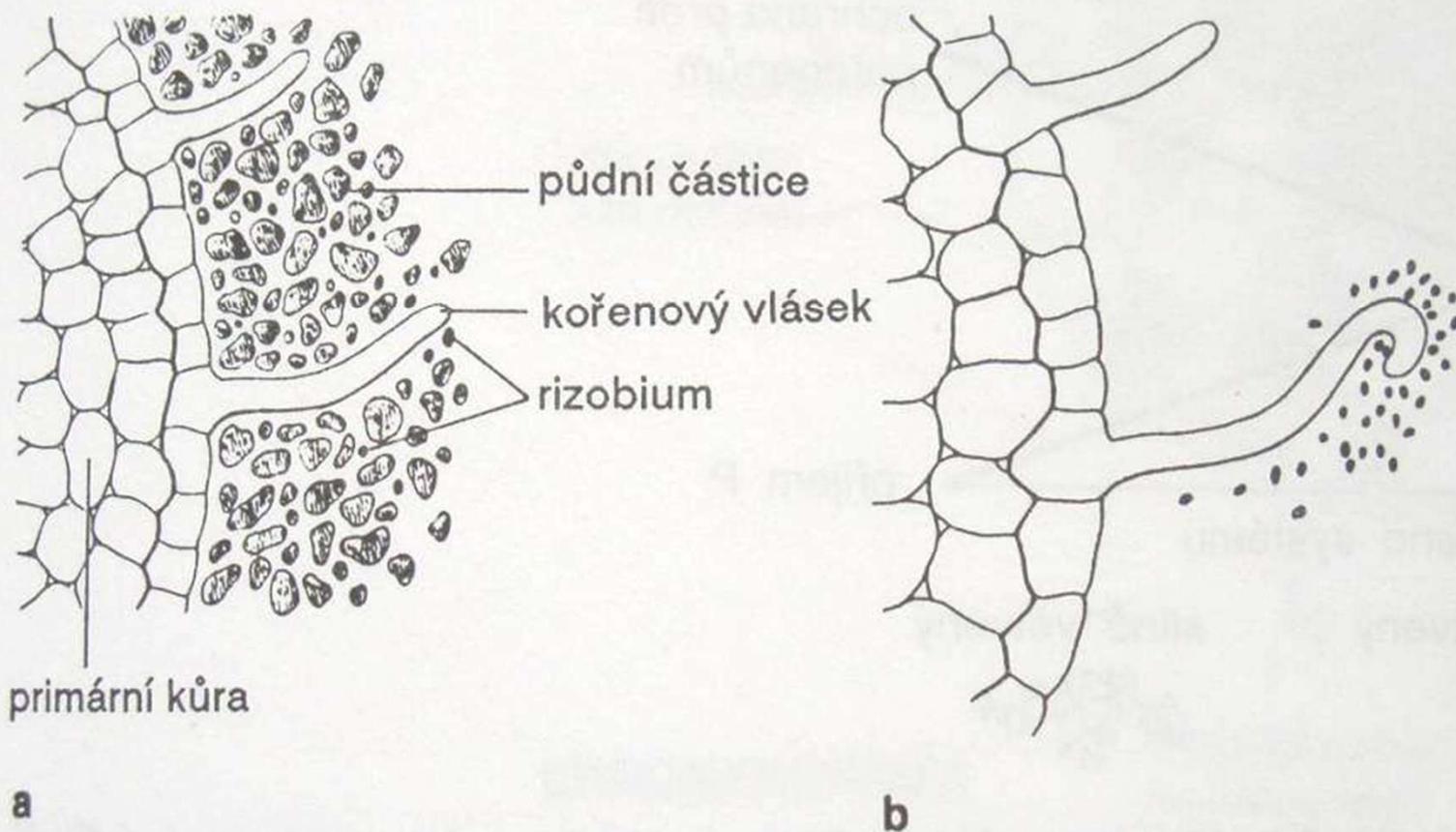
Symbiózu mezi bakteriemi fixujícími molekulární dusík a rostlinami lze rozdělit na následující typy:

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

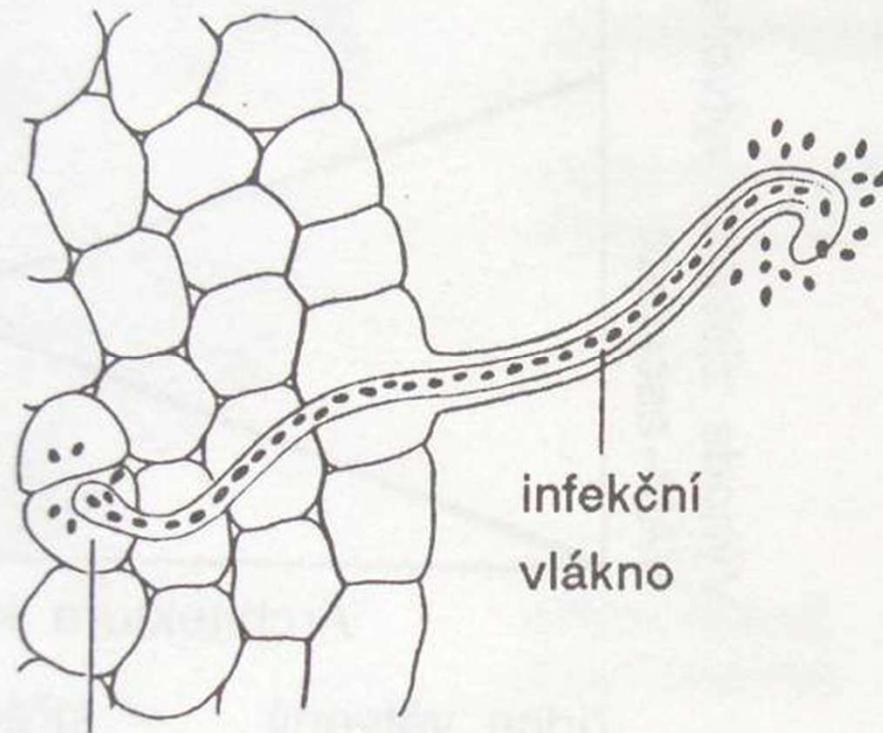
## Fixace vzdušného dusíku - symbiotická

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



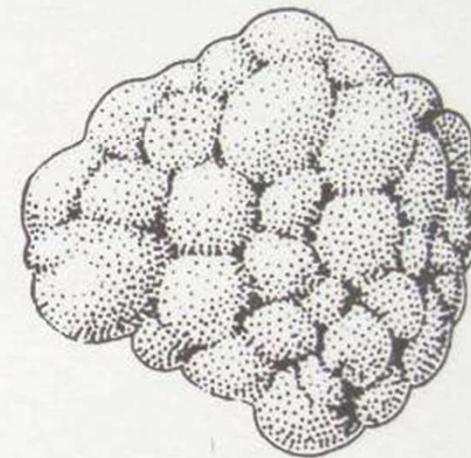


Obr. 7.3 Tvorba hlízky u sóji. (a), (b) Bakterie rodu *Rhizobium* se shromažďují v kořeni, které vyvolávají dělení buněk kořene a vznik hlízky. (d) Hlízka. (Převzat



dělicí se buňky  
primární kůry

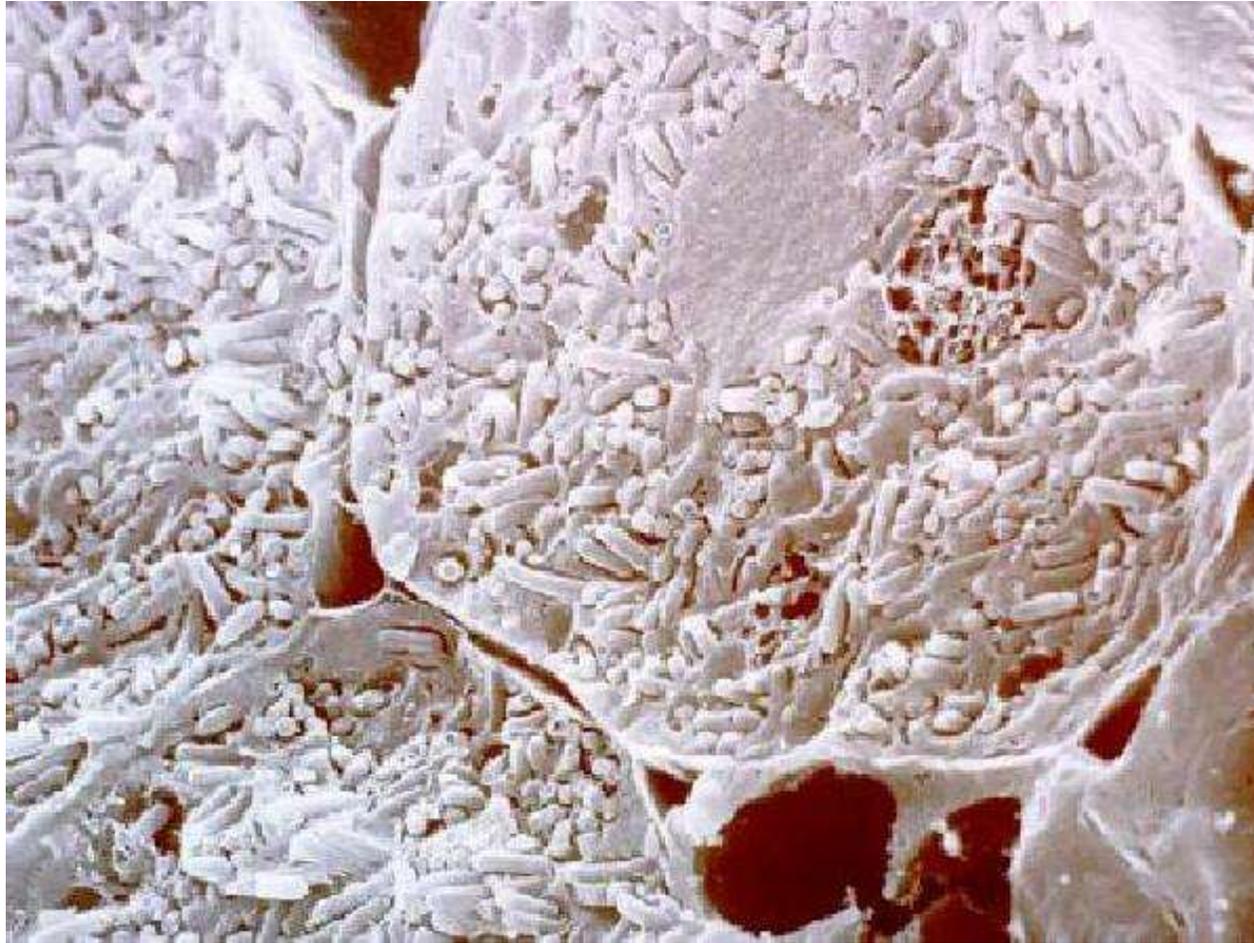
c



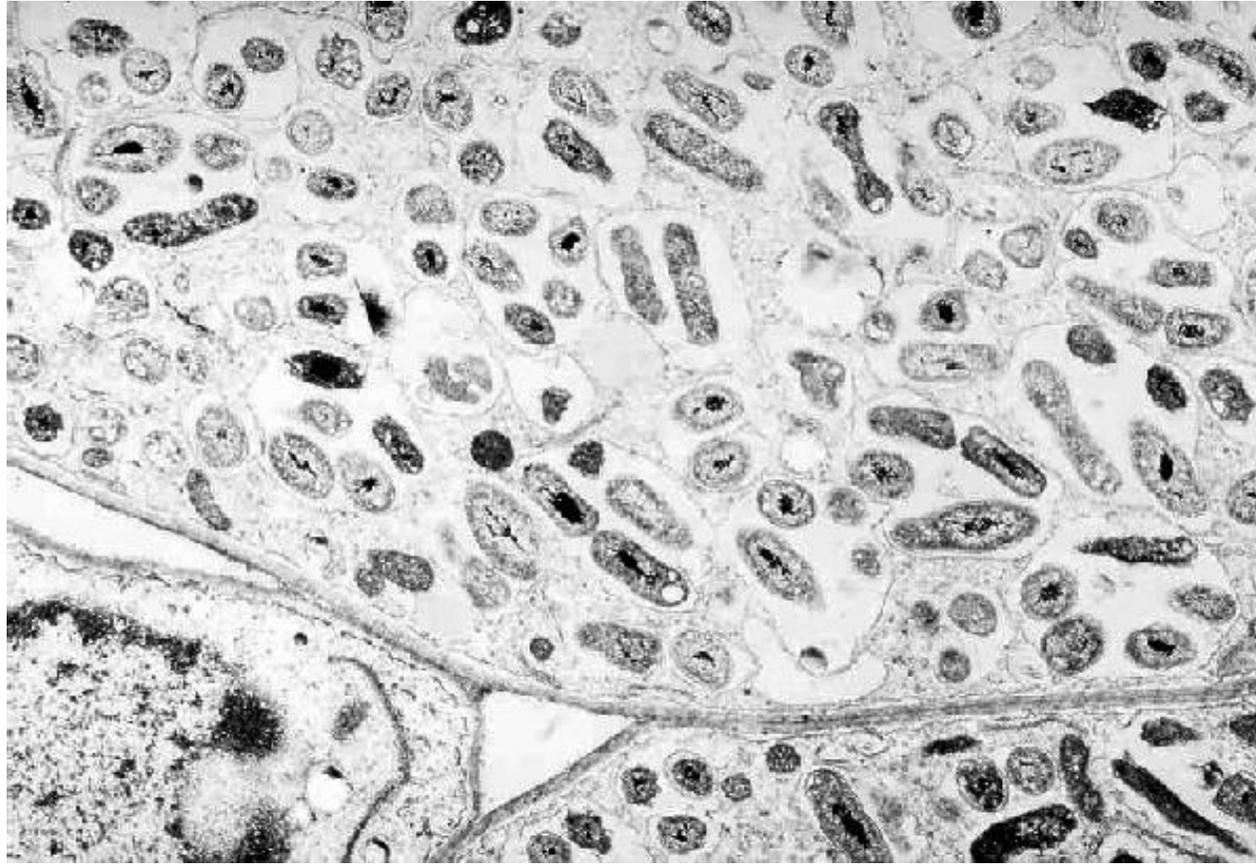
hlízka

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 (-NH<sub>2</sub> skupiny; bílkoviny).**

**Dusík ve třech formách:**

- **plynný jako prvek N<sub>2</sub>**
- **v redukované podobě jako amoniak NH<sub>3</sub>**
- **v oxidované podobě jako dusičnanový NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ion**

**Pouze jako redukovaný se zúčastňuje biochemických reakcí. N<sub>2</sub> 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 vířvovitými roślinami)	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

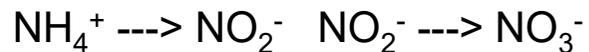
Má dva kroky:

### **amonifikace**

množství mikroorganismů; organický N je mineralizován na  $\text{NH}_4^+$  hlavní zdroj dusíku pro rostliny a mikroorganismy

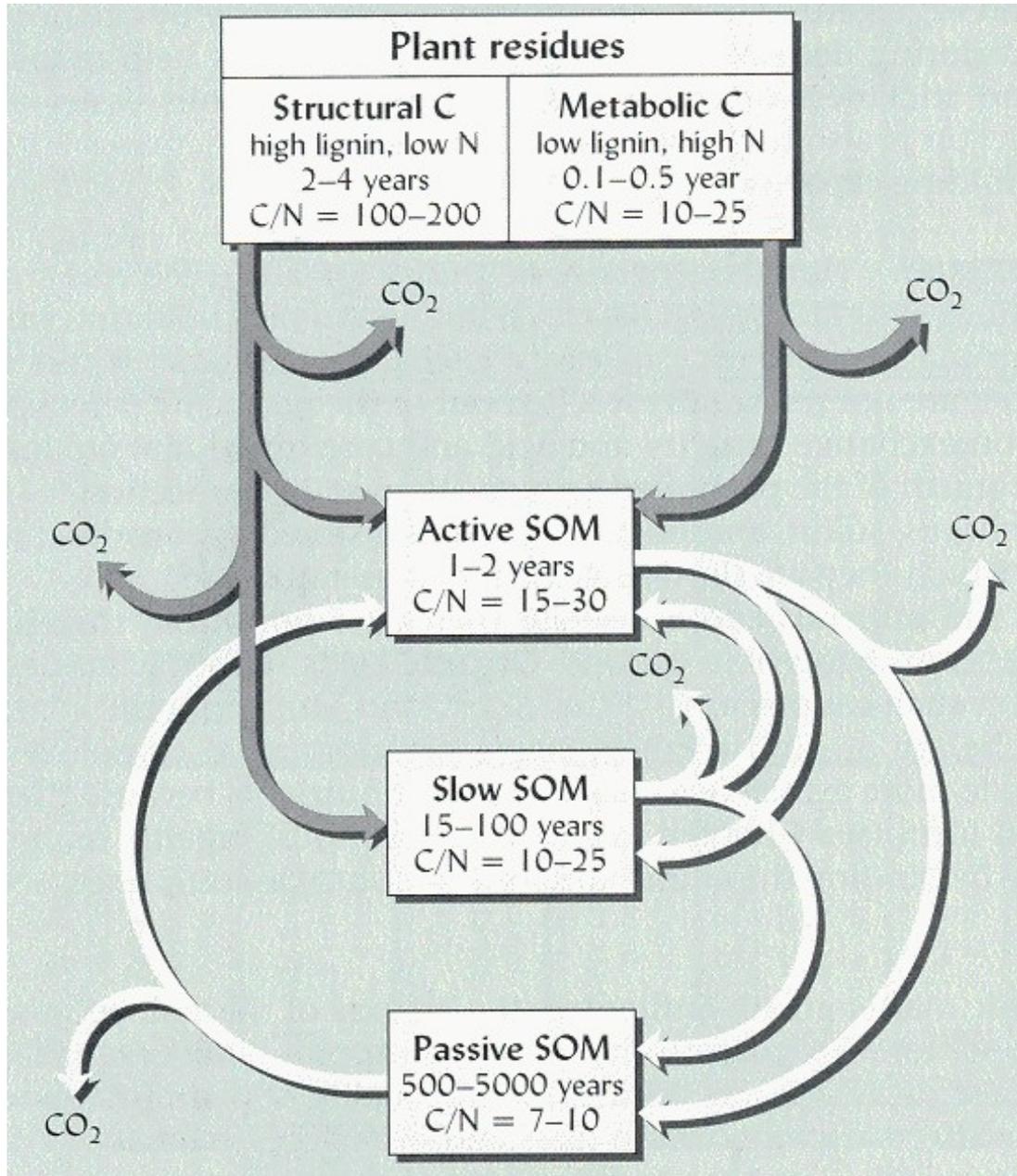
### **nitrifikace**

menší množství autotrofních bakterií;

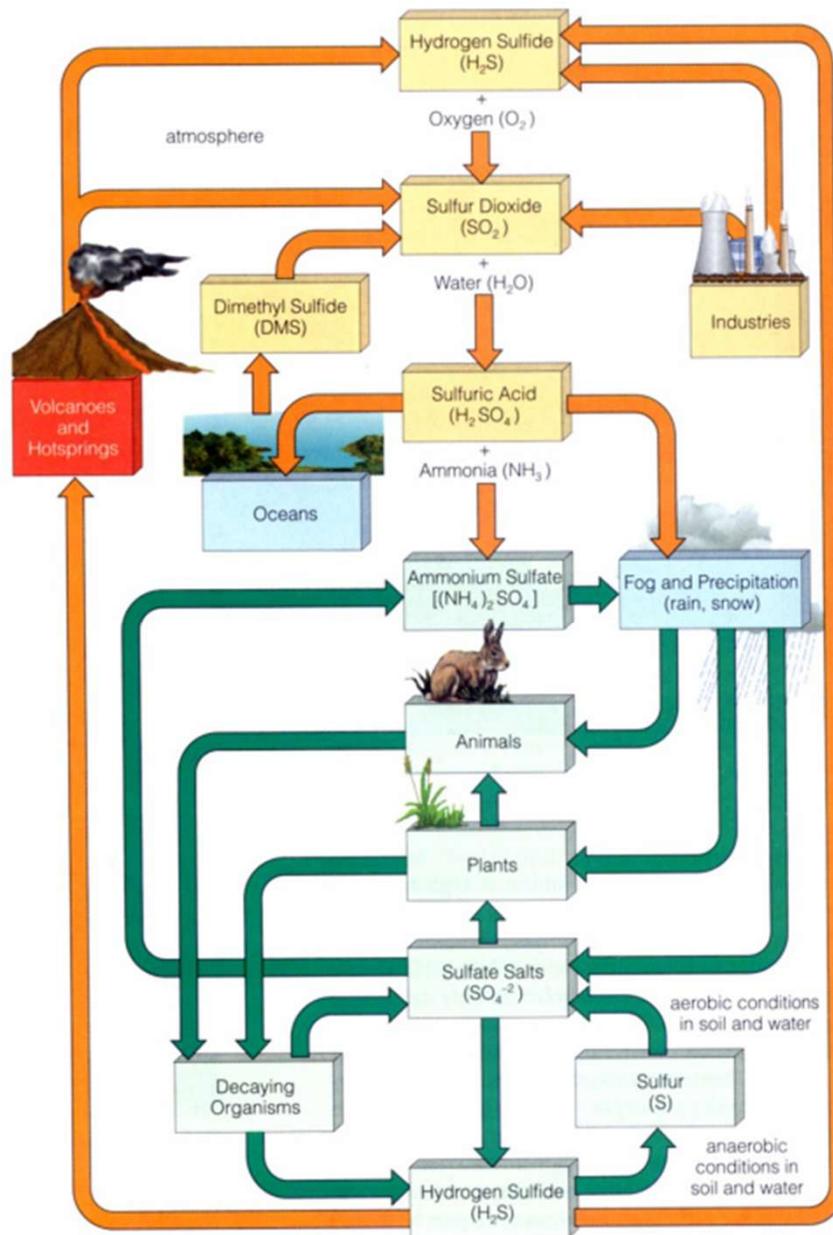


mineralizace N je funkcí teploty, vlhkosti, provzdušnění, typu dusíkatých organických látek v prostředí a také pH

$\text{NH}_4^+$  se v půdě váže na částice ×  $\text{NO}_3^-$  se z půdy vymývá



# Cyklus síry



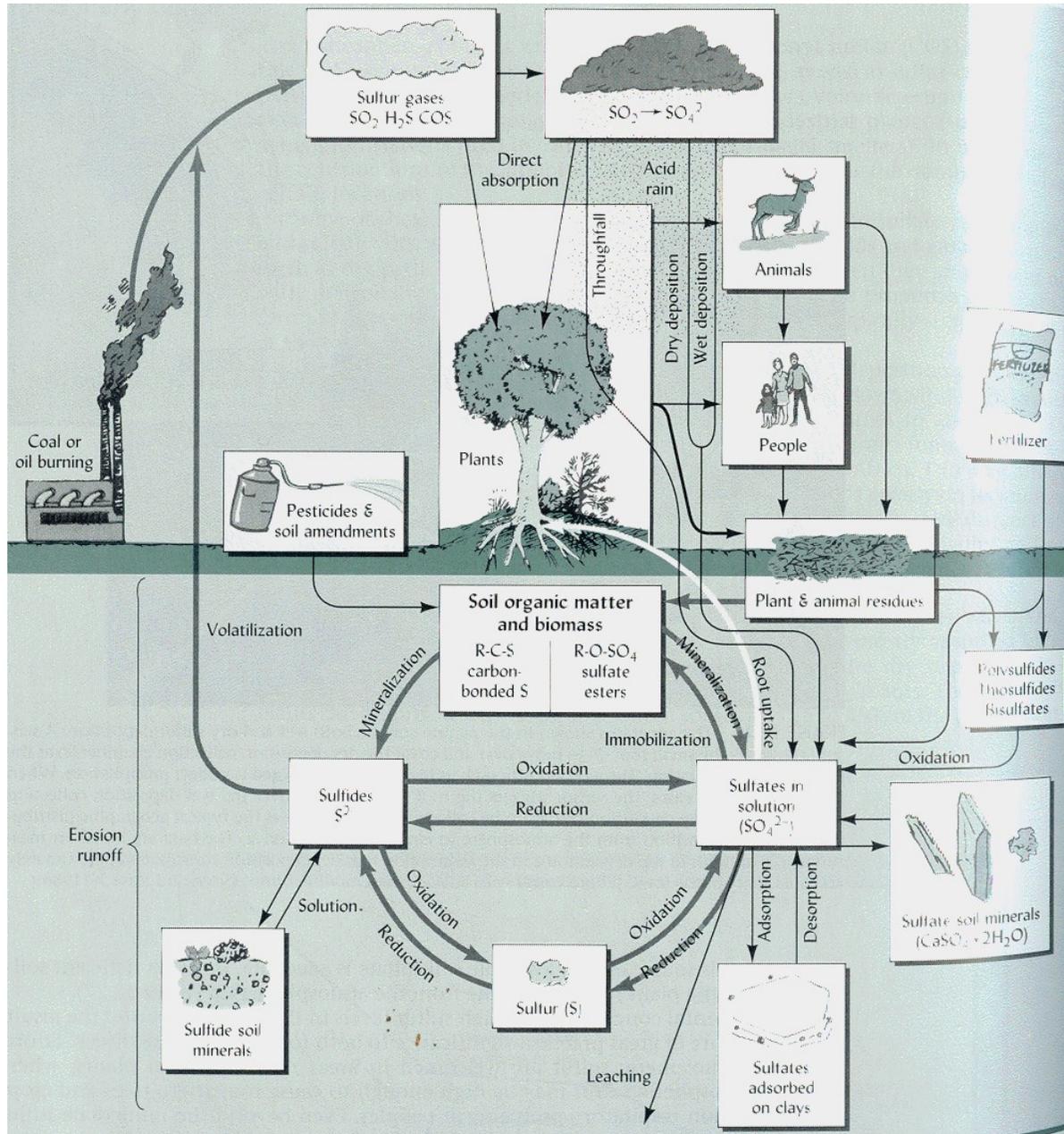
Většina síry vázána minerálně (pyrit, sádrovec).

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

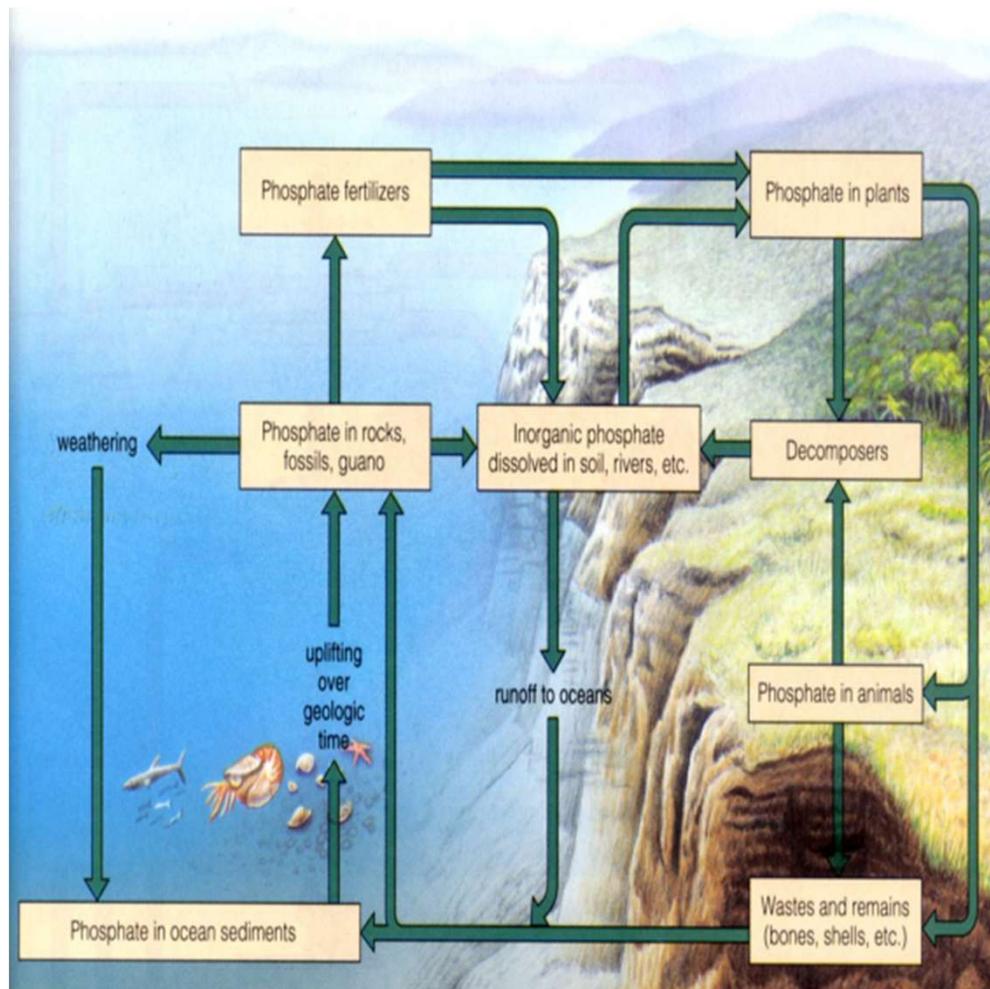
Člověk: kolem 1/3 z celkového množství síry do atmosféry (99 %  $SO_2$ )

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

# Cyklus síry



# Cyklus fosforu



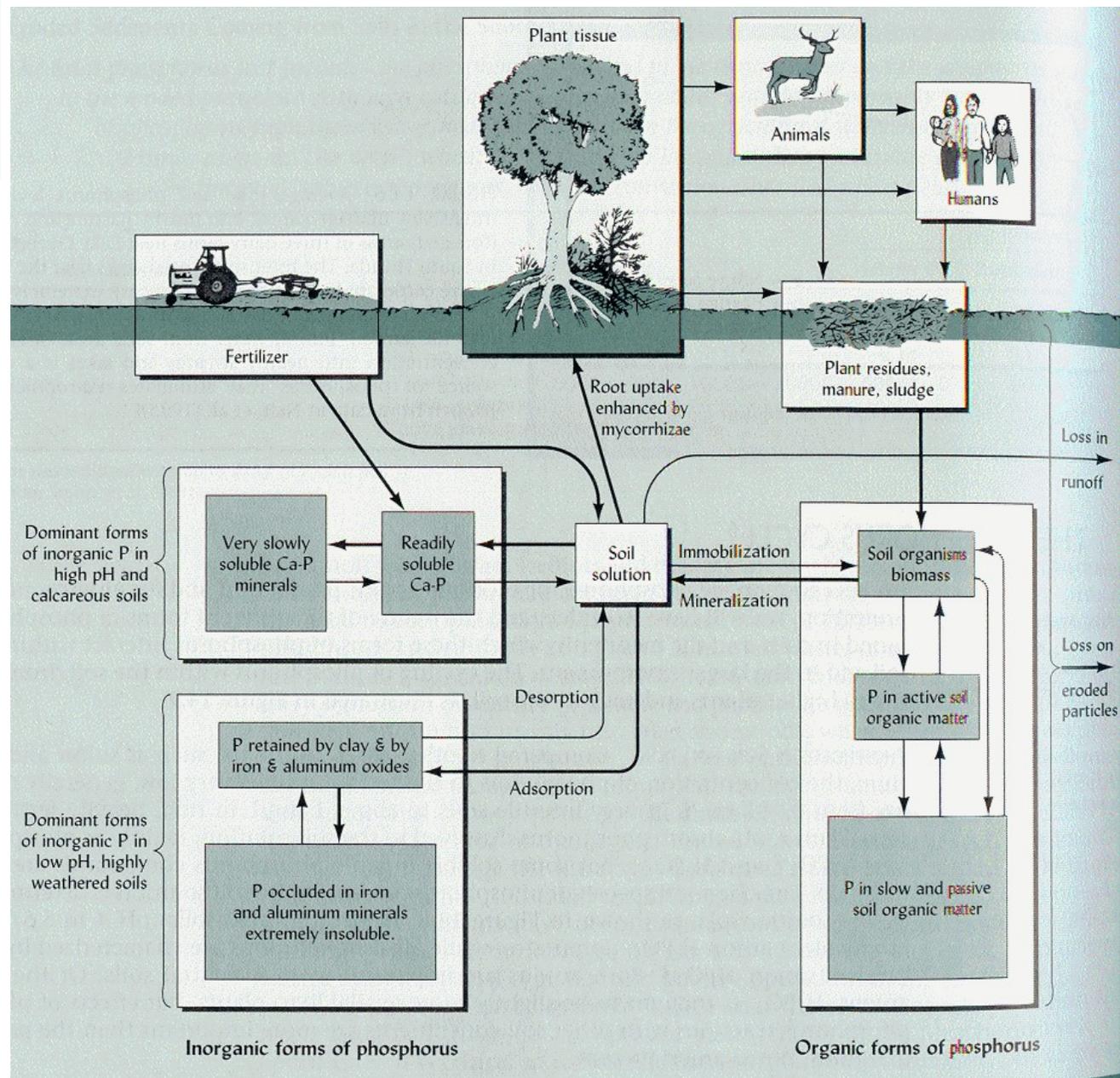
**Důležitá složka RNA, DNA a přenašečů energie (ADP, ATP)**

- 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

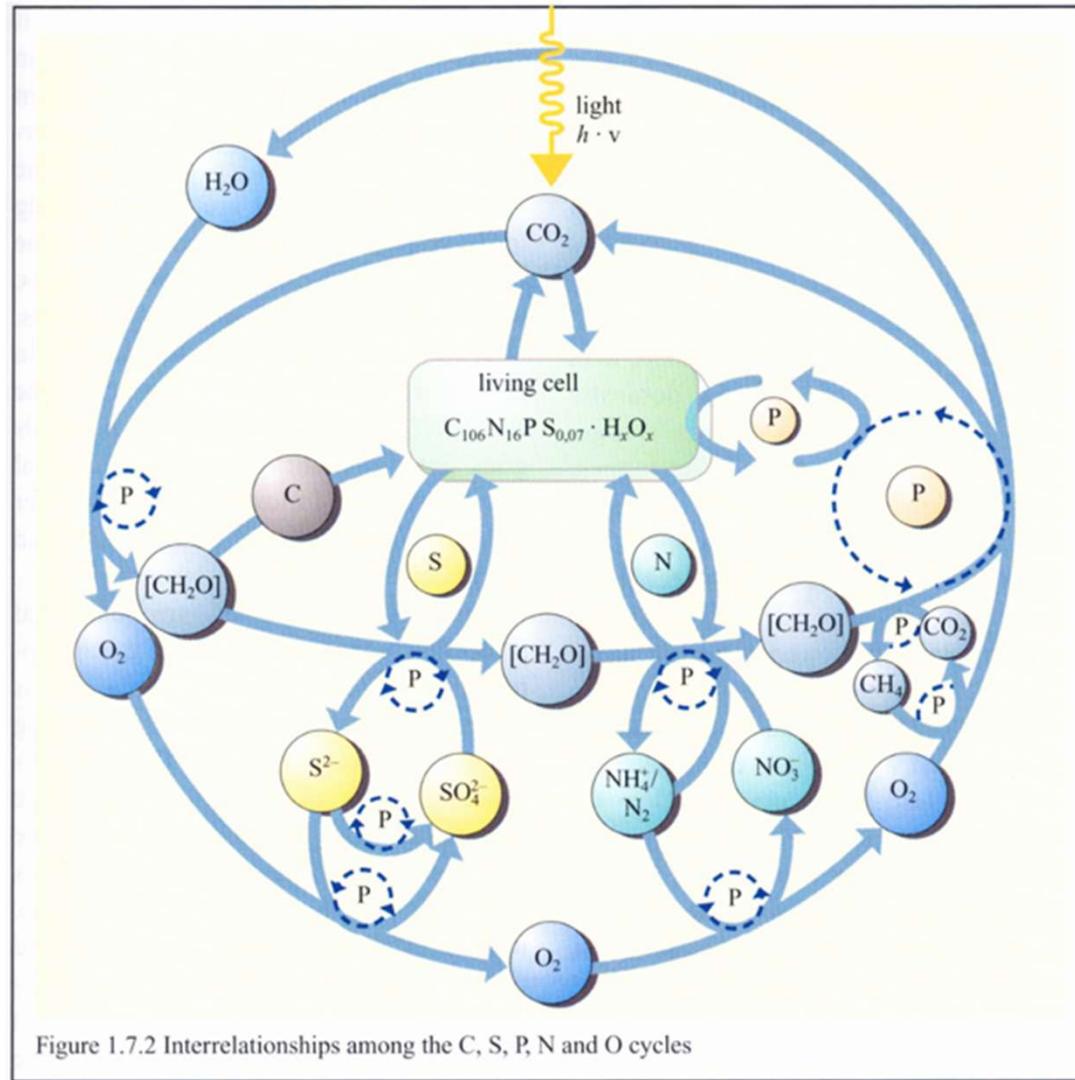
## Stabilita atmosféry:

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:

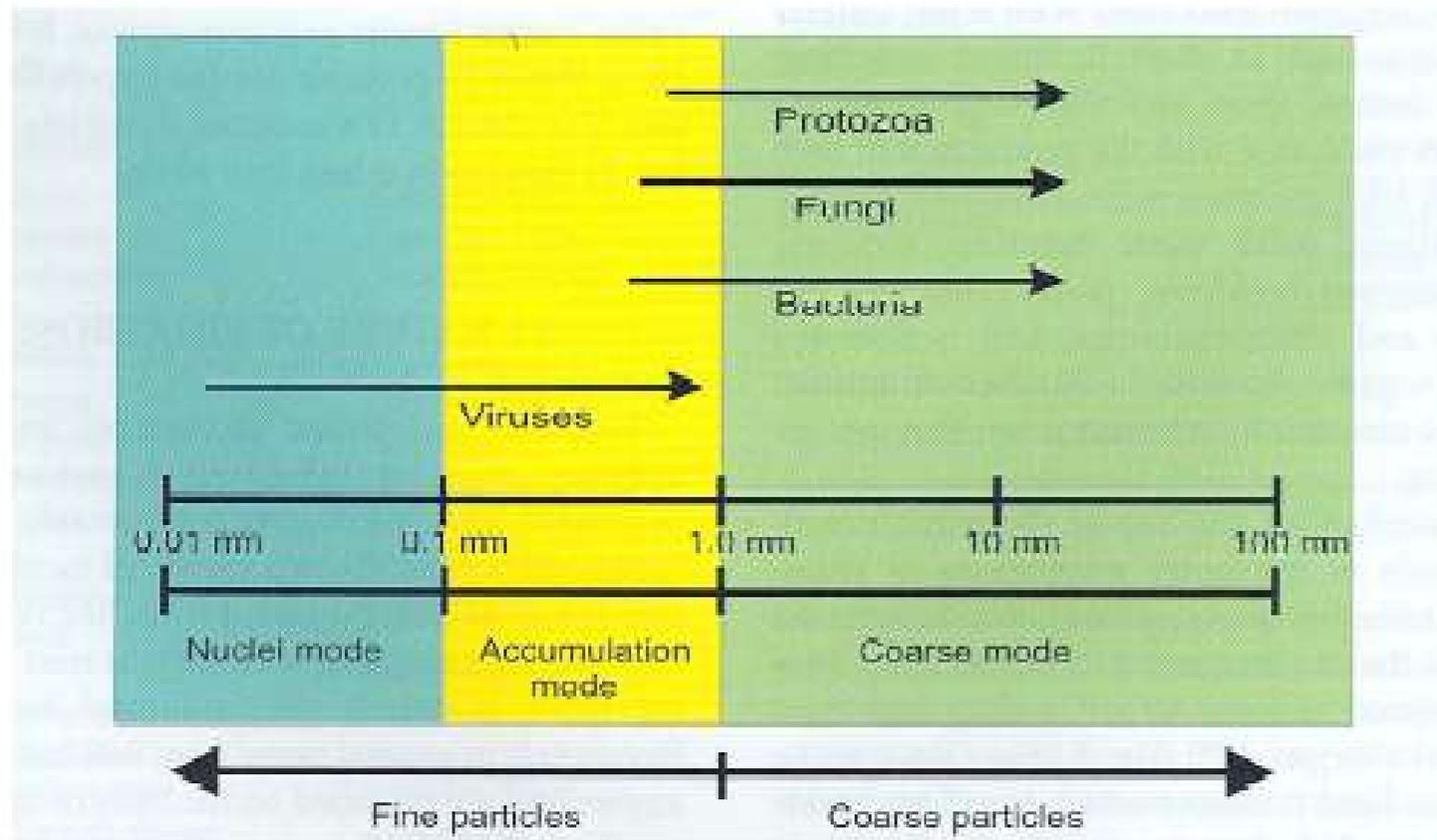
- Relative humidity
- Temperature
- Radiation

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

- O<sub>2</sub> radicals
- Open air factors
- Ions

Microbes reach the air by **aerosolization**

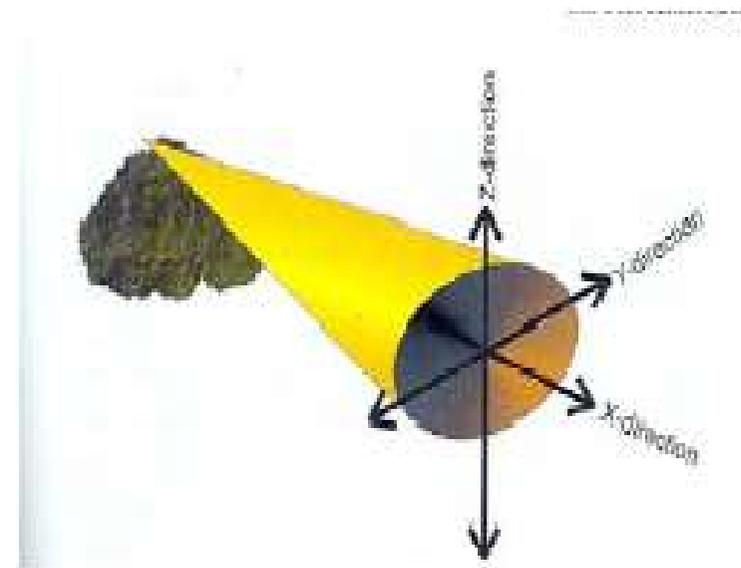
Depends on type of organisms, particles and gaseous phase



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  $\mu\text{m}$ ], air flow and velocity)

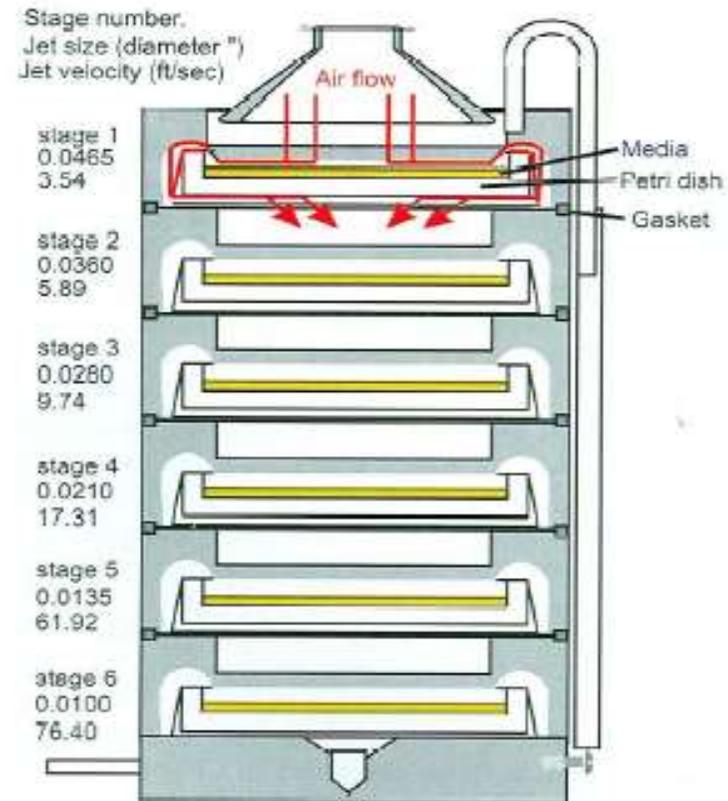
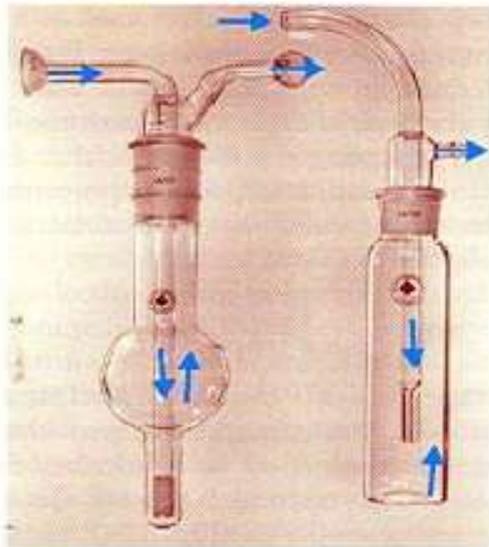
Impingement – trapping in liquid, e.g., AG-30

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

Centrifugation

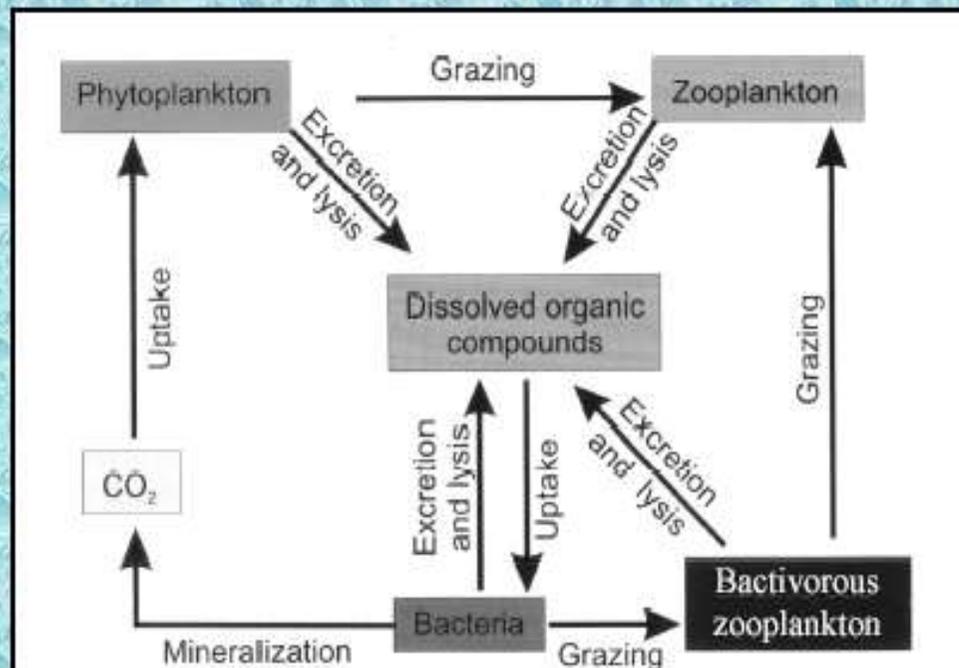
Filtration

Deposition – passive collection

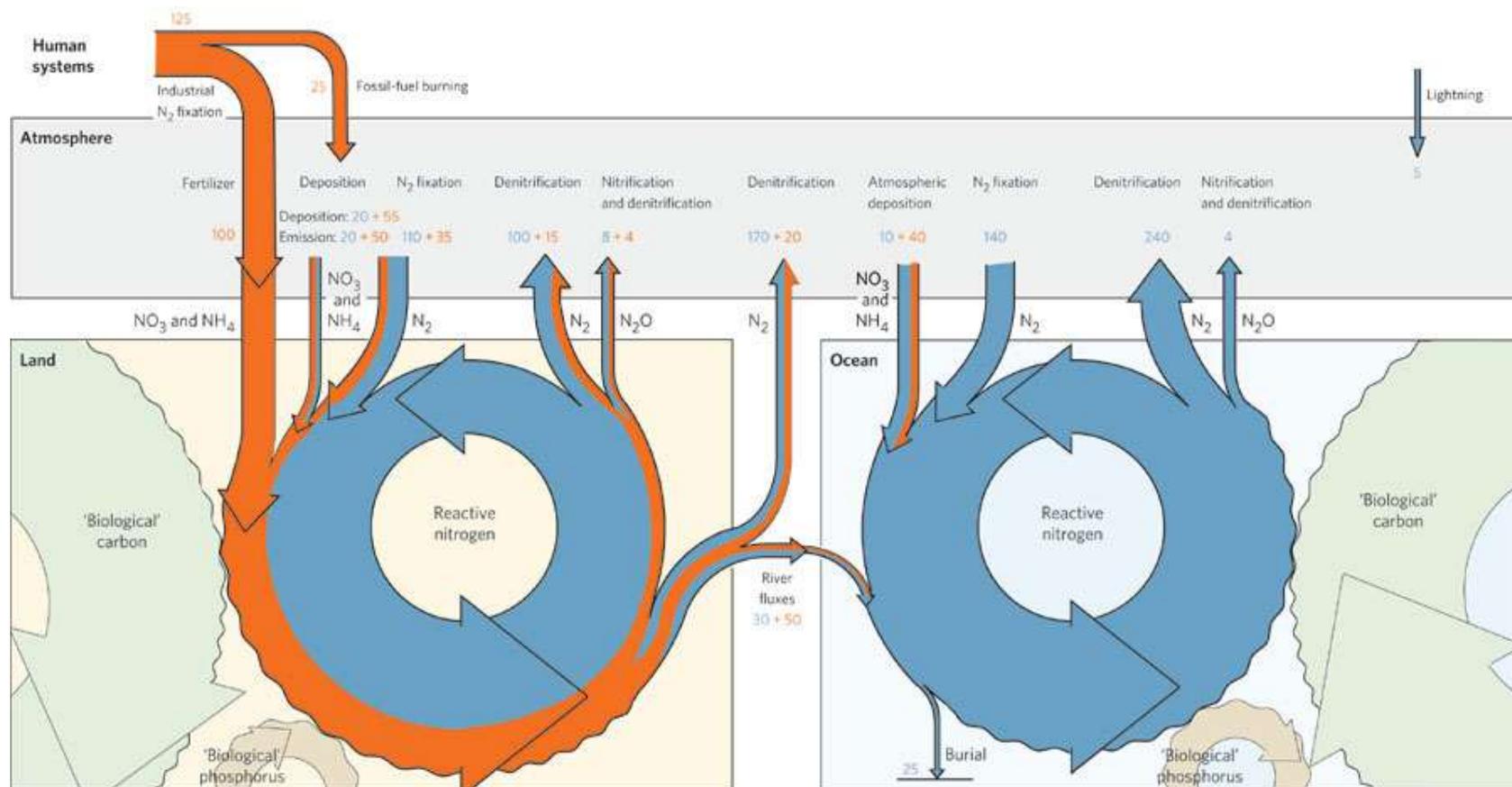


## Opět specifika daná akvatickým prostředím

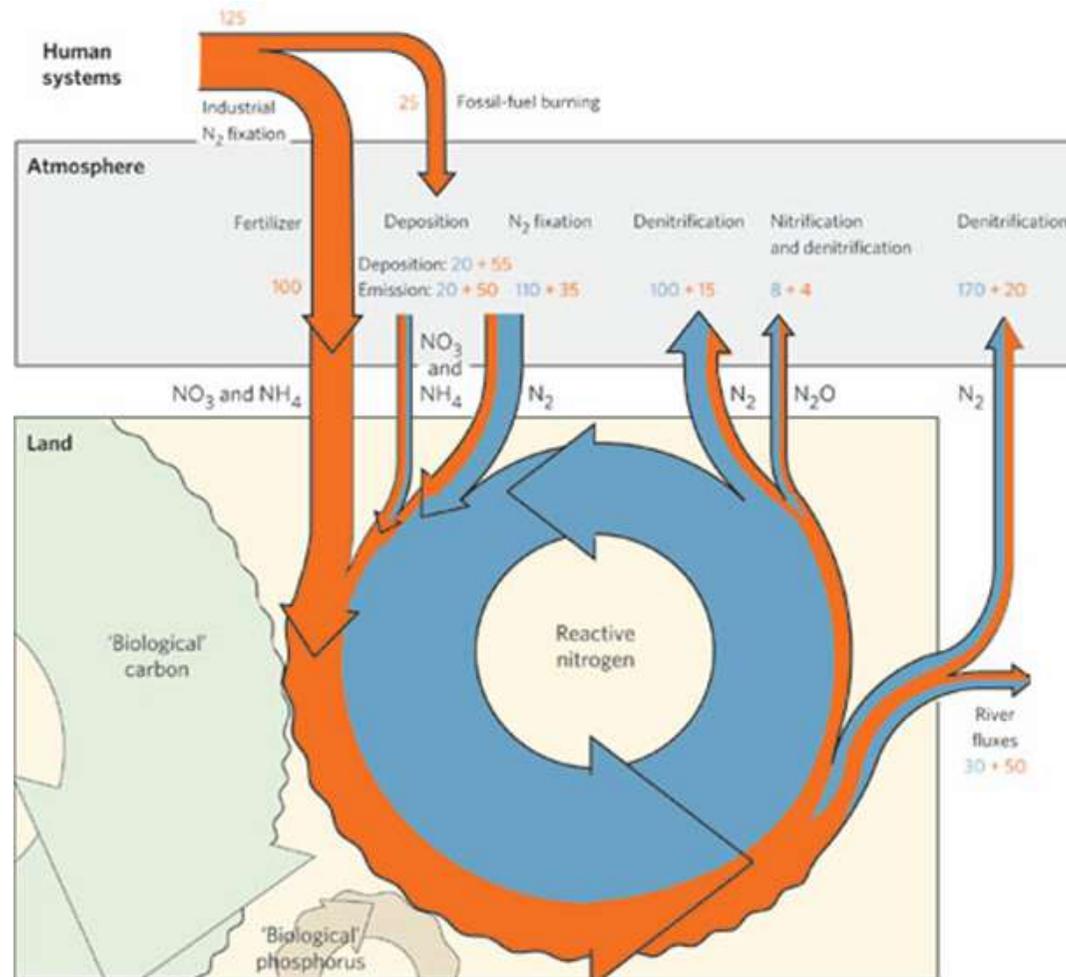
- hlavní rozdíl je, že v akvatických ekosystémech zastávají mikroorganismy také roli producentů (i tzv. heterotrofni producenti - microbial loop)



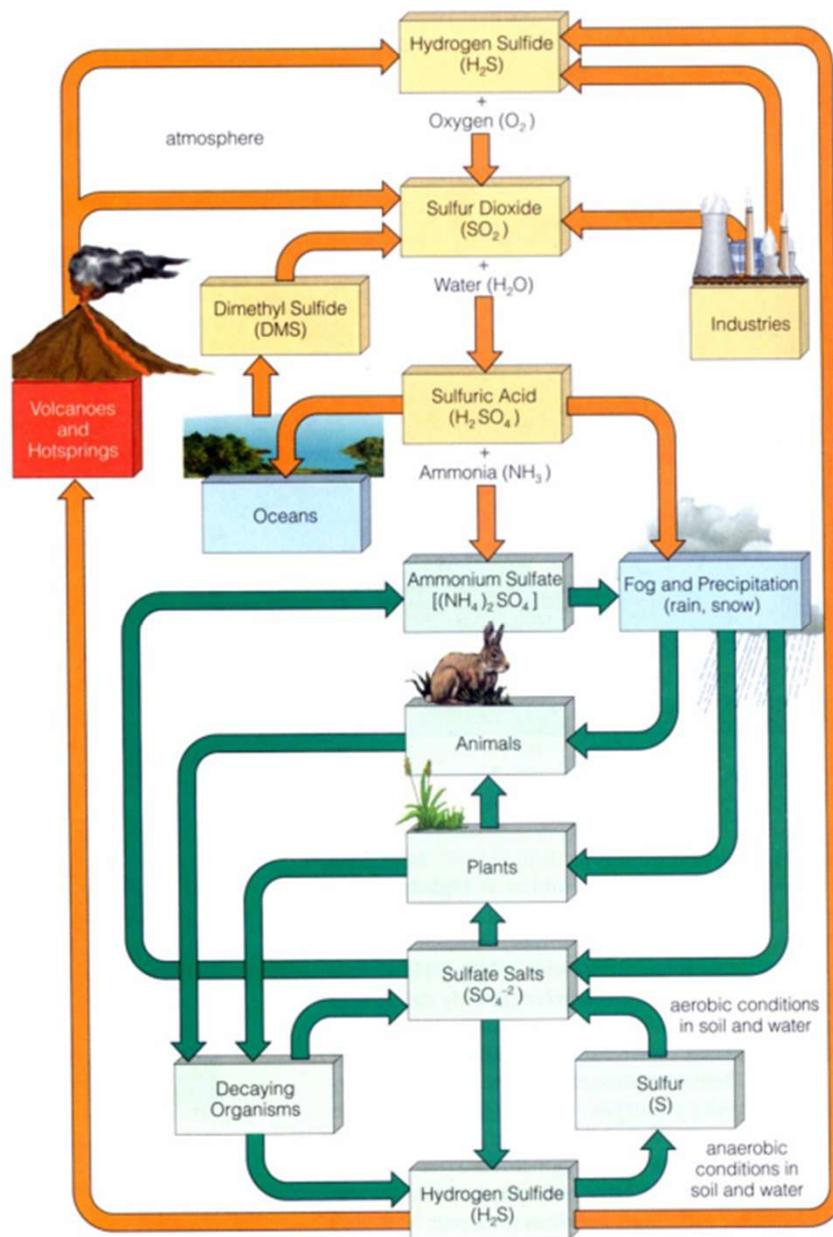
**FIGURE 6.1** The microbial loop in the planktonic food web. The microbial loop represents a pathway in which the dissolved organic products are efficiently utilized. The role of bacterioplankton is to mineralize important nutrients contained within organic compounds and to convert a portion of the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



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).



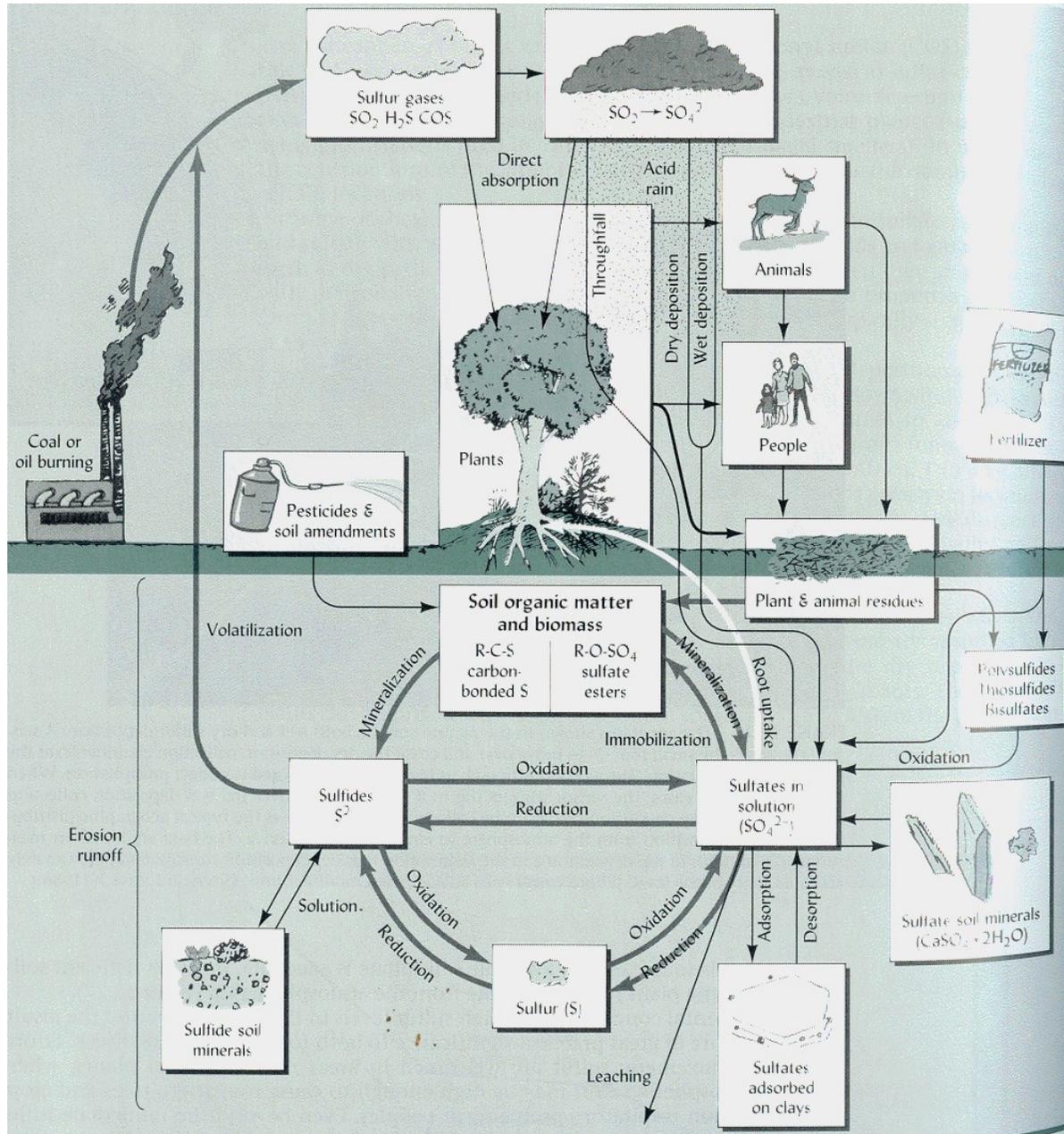
## Cyklus síry

Většina síry vázána minerálně (pyrit, sádrovec).

- $\text{H}_2\text{S}$  a  $\text{SO}_2$  uvolňován z aktivních vulkánů
- rozkladem organické hmoty
- $\text{SO}_4^{2-}$  do atmosféry tříštěním slané vody
- DMS (dimethylsulfoxid) uvolňován do atmosféry planktonem

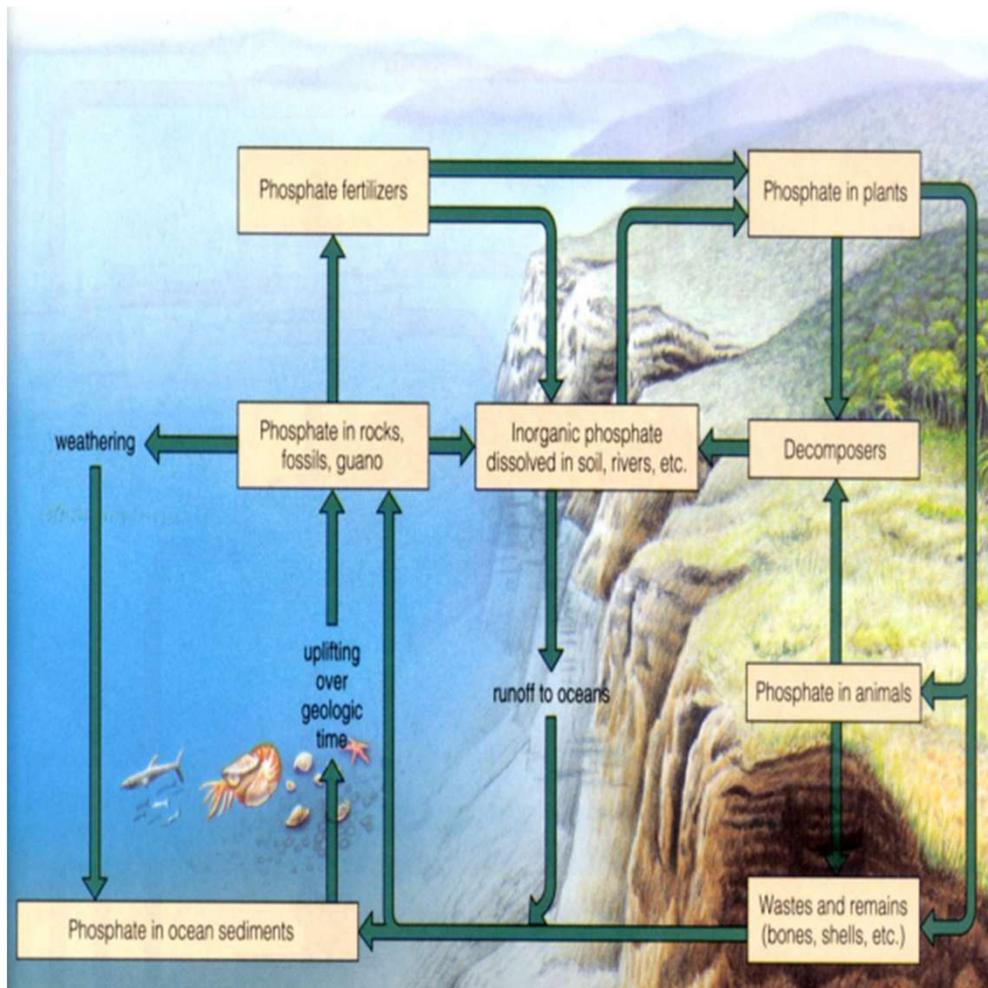
**Člověk:** kolem 1/3 z celkového množství síry do atmosféry (99 %  $\text{SO}_2$ )

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



# Cyklus síry

# Cyklus fosforu



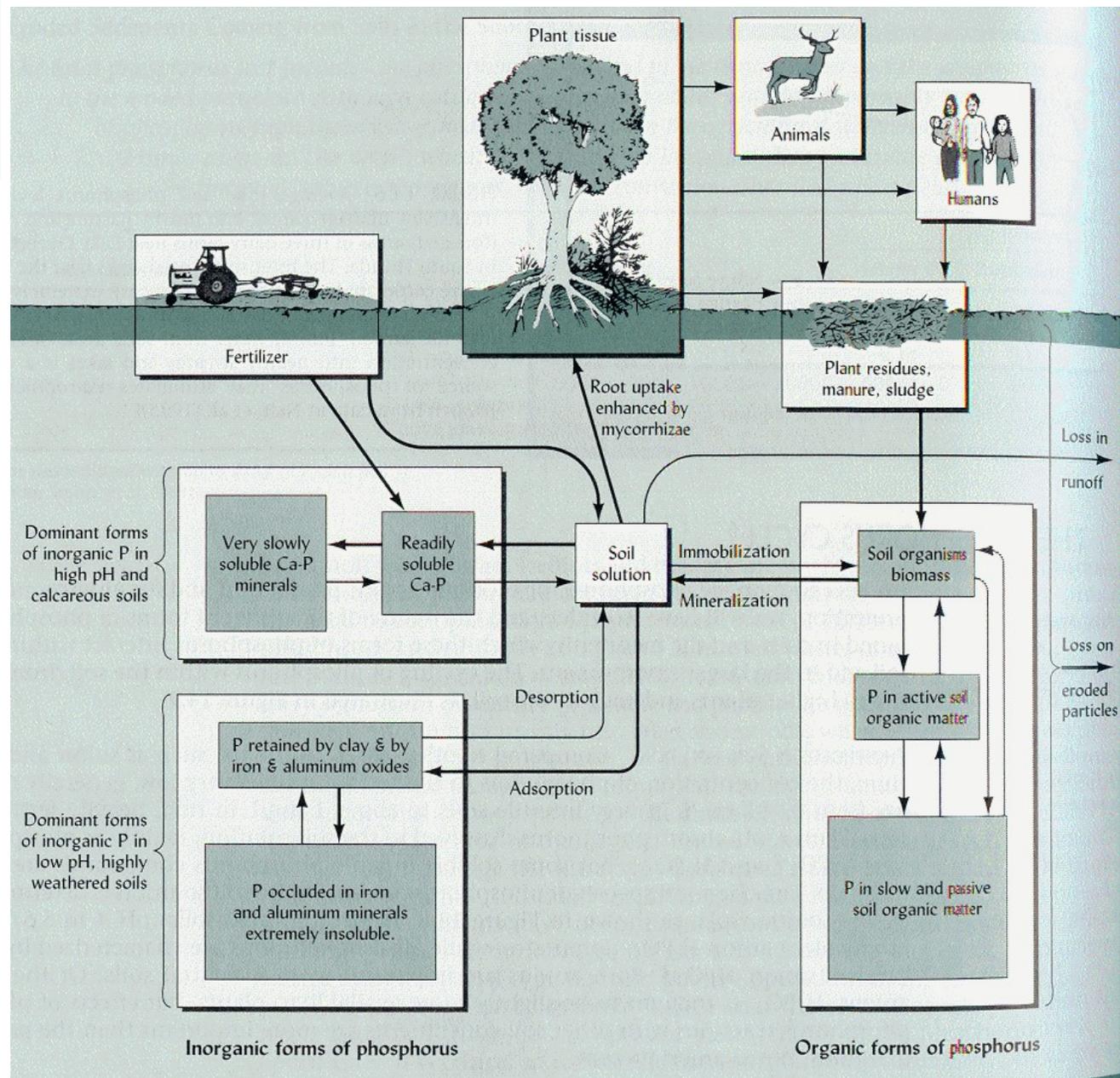
**Důležitá složka RNA, DNA a přenašečů energie (ADP, ATP)**

- 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

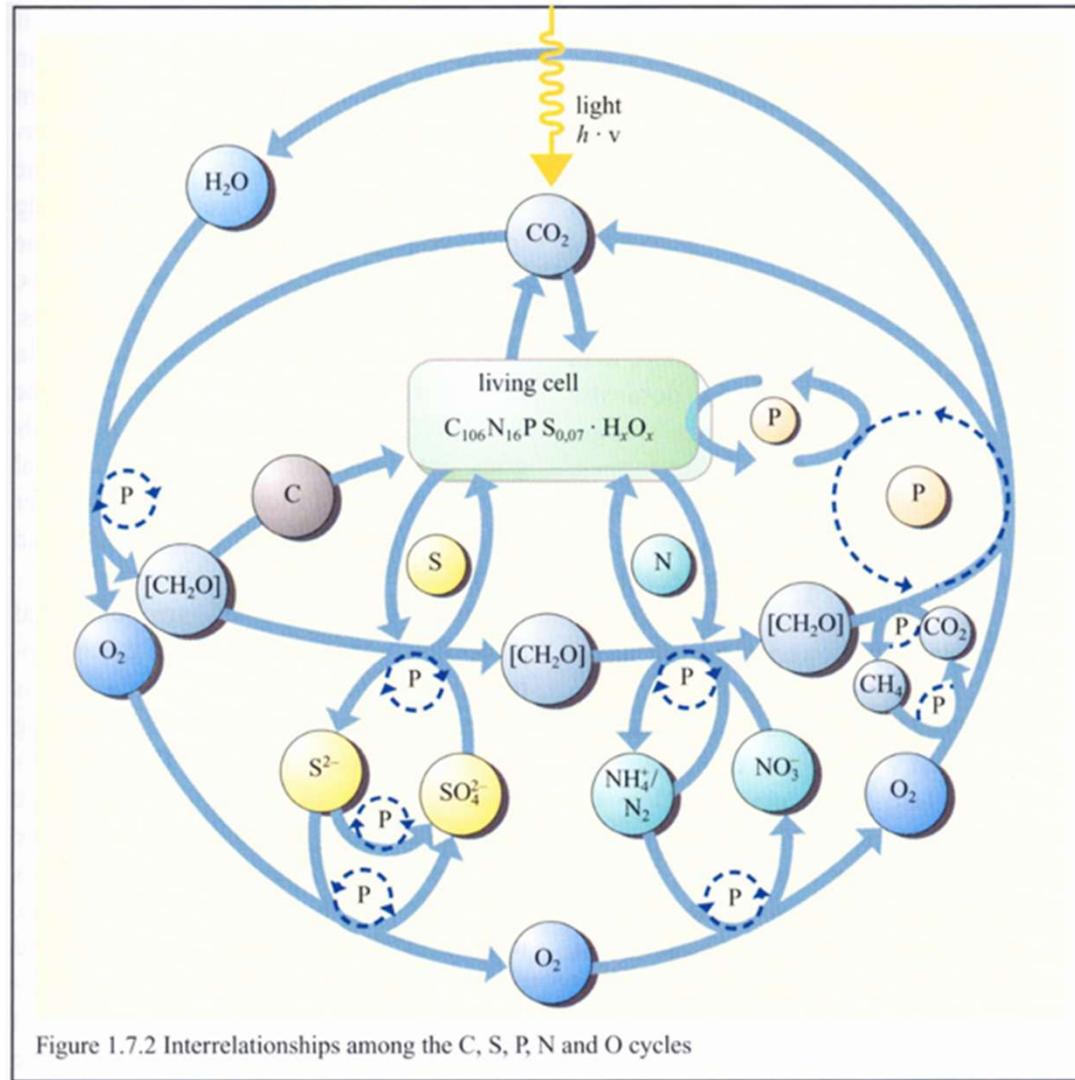
## Stabilita atmosféry:

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:

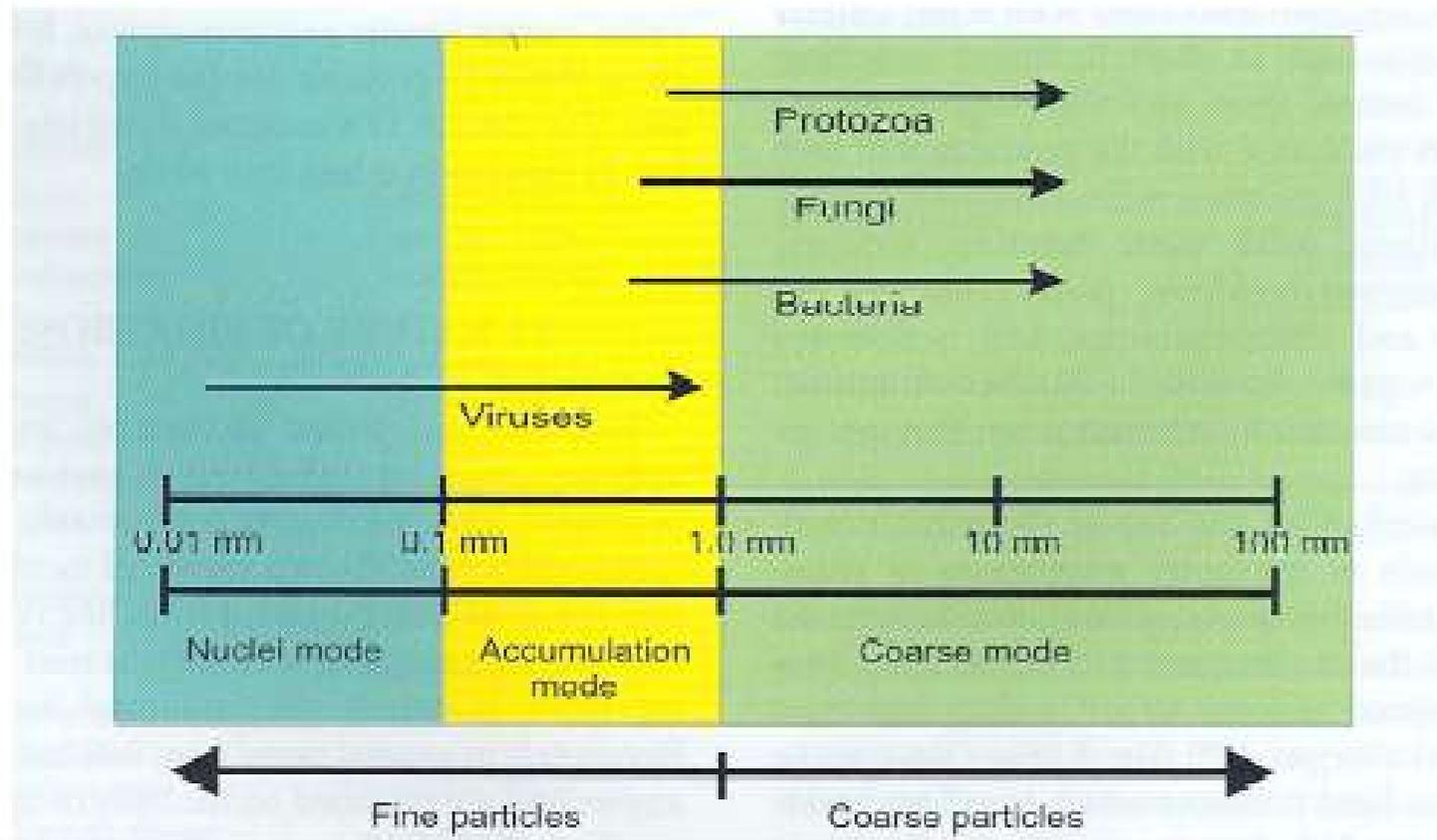
- Relative humidity
- Temperature
- Radiation

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

- O<sub>2</sub> radicals
- Open air factors
- Ions

Microbes reach the air by **aerosolization**

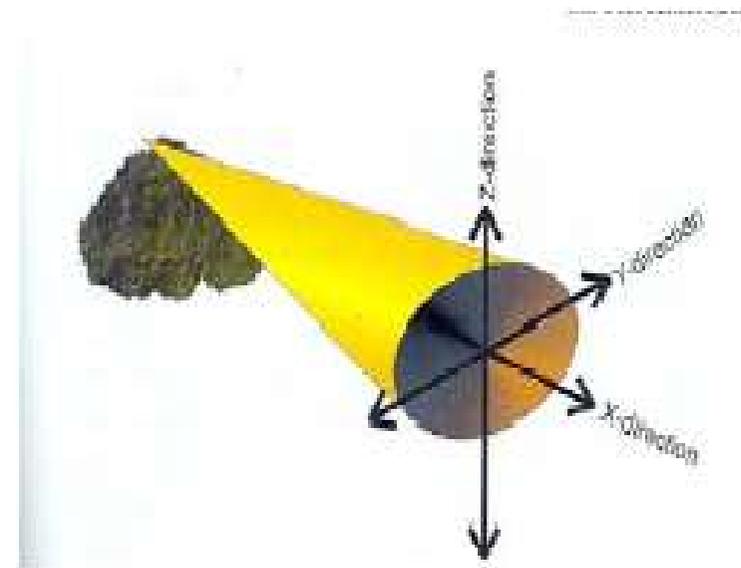
Depends on type of organisms, particles and gaseous phase



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  $\mu\text{m}$ ], air flow and velocity)

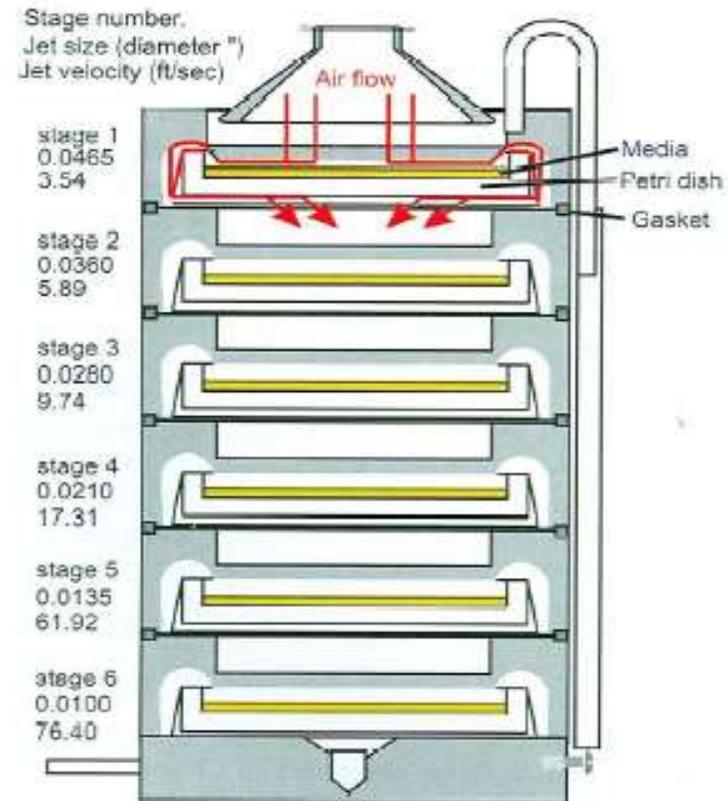
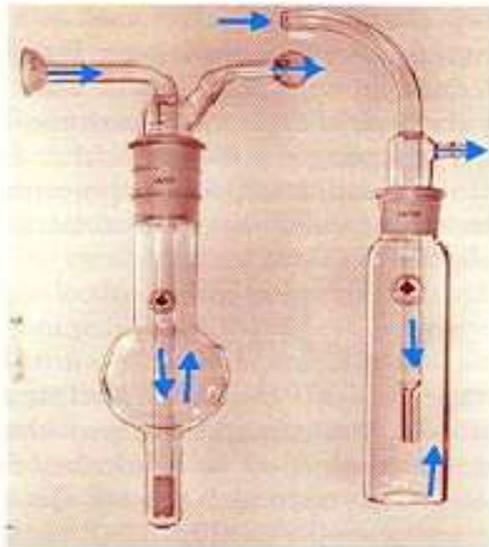
Impingement – trapping in liquid, e.g., AG-30

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

Centrifugation

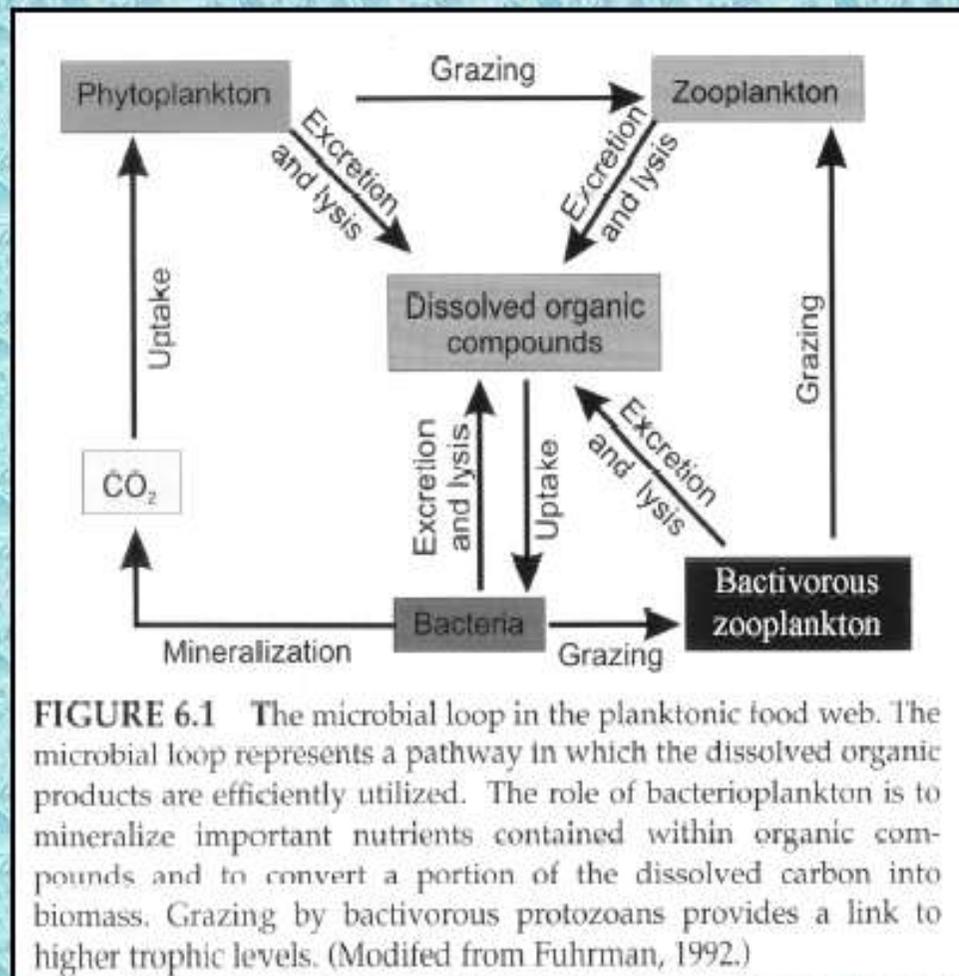
Filtration

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)



## 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