

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta

MIKROBIOLOGIE

(pro zahradnické obory)

Díl 2. Ekologie mikroorganismů

Ing. Ivan Tůma, Ph.D.

**Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta**

**MIKROBIOLOGIE
(pro zahradnické obory)
Díl 2. Ekologie mikroorganismů**

Ing. Ivan Tůma, Ph.D.

Brno, 2015



esf evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



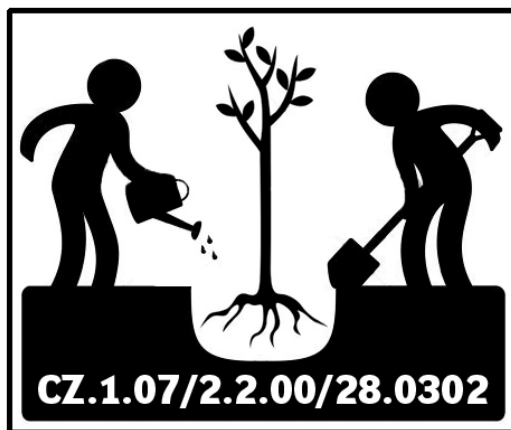
OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



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

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

Recenze: Mgr. Petr Holub, Ph.D.

© Ing. Ivan Tůma, Ph.D., 2015

ISBN 978-80-7509-227-4

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

ISBN 978-80-7509-226-7 (I. díl)

OBSAH

1	EKOLOGIE MIKROORGANISMŮ	4
1.1	Vztahy organismů v ekosystému s důrazem na mikroorganismy	5
1.1.1	Mikrobiální biofilm	14
1.2	Vztahy mezi mikroorganismy a rostlinami	20
1.2.1	Mykorrhiza.....	22
1.3	Vztahy mezi mikroorganismy a živočichy	28
1.3.1	Manipulační aktivita.....	31
2	RŮST MIKROORGANISMŮ	32
2.1	Významné faktory prostředí působící na růst mikroorganismů	35
2.1.1	Fyzikální faktory působící na mikroorganismy.....	37
2.1.2	Chemické faktory působící na mikroorganismy.....	43
3	MIKROBIOLOGIE VZDUCHU, VODY A PŮDY	48
3.1	Mikroorganismy a vzduch.....	48
3.2	Mikroorganismy a voda.....	50
3.3	Mikroorganismy a půda.....	54
3.3.1	Rozdělení půdních organismů	57
3.3.2	Prostorové rozmístění a počty organismů v půdě.....	60
3.3.3	Dekompoziční procesy	63
3.3.4	Bioremediace	69
4	KOLOBĚHY ŽIVIN A ÚLOHA MIKROORGANISMŮ V NICH	69
4.1	Koloběh uhlíku	70
4.1.1	Uhlík v půdě	72
4.1.2	Vliv antropogenní činnosti na obsah půdní organické hmoty a globální koloběh uhlíku.....	76
4.2	Koloběh dusíku.....	78
4.2.1	Biologická fixace molekulárního dusíku.....	79
4.2.2	Mineralizace organických dusíkatých látek	84
4.2.3	Imobilizace minerálního dusíku	90
4.2.4	Denitrifikace	91
4.3	Koloběh fosforu.....	93
4.4	Koloběh síry	95
4.4.1	Asimilace a imobilizace síry	96
4.4.2	Mineralizace síry	97
	POUŽITÁ A DOPORUČENÁ LITERATURA	100

1 EKOLOGIE MIKROORGANISMŮ

Ekologie se zabývá vzájemnými zákonitostmi a vztahy mezi organismy (tedy i mikroorganismy) navzájem a jejich přirozeným prostředím. **Ekosystém** je soubor všech organismů žijících v určitém místě a jejich přirozeného prostředí. Ekosystém svojí specifickou strukturou zabezpečuje v určitém prostoru a čase přeměnu energie a koloběh látek pomocí autoregulačních trofických mechanismů. Ekosystém má svojí strukturu i funkci a obsahuje biotickou složku, do které zahrnujeme organismy působící jako producenti, konzumenti a dekompozitoři (společenstva, např. mikrobiální) a složku abiotickou (fyzikální a chemické podmínky). **Společenstvo** je soubor druhů, které se vyskytují ve stejném čase na stejném území. Společenstvo je tvořeno **populacemi**, což je skupina jedinců jednoho druhu obývajících určité území. Mikroorganismy nalezneme v ekosystému prakticky všude, tedy ve vodě i vzduchu, ale základním životním **biotopem (nikou)** mikroorganismů je půda. Jednotlivé skupiny organismů biotické složky ekosystému jsou na sebe vázány jako na zdroj výživy a energie; proto je možné hovořit o **potravinovém řetězci** v ekosystémech. Každý organismus má vymezené místo a funkci při zabezpečování koloběhu látek a přeměně energie.

Producenti jsou autotrofní organismy, které jsou schopné z anorganických sloučenin vytvářet organické látky (**primární produkce biomasy**). Patří sem některé mikroorganismy (sinice, řasy, chemoautotrofní bakterie), ale rozhodující úlohu zde sehrávají hlavně zelené rostliny, které prostřednictvím fotosyntézy zajišťují pro sebe i pro heterotrofní konzumenty a dekompozitory energeticky bohatou potravu. Zelené rostliny mají tedy klíčové postavení v ekosystému, protože pouze ony jsou schopné přeměňovat světelnou energii na chemickou, využitelnou dalšími organismy včetně člověka.

Konzumenti jsou heterotrofní organismy, hlavně z živočišné říše. Žijí v ekosystému buď trvale, nebo migrují z ekosystému do ekosystému. Patří sem býložravci, masožravci a všežravci. Mezi konzumenty patří i člověk, který se stal z ekologického hlediska, i z hlediska vývoje lidské společnosti jedním z nejsilnějších a nejúčinnějších ekologických faktorů. Přírodní ekosystémy mění na kulturní (agroekosystémy). Dále mezi konzumenty počítáme i parazitické rostliny a půdní mikroorganismy, které spolu s živočichy vytvářejí **sekundární produkci biomasy**.

Dekompozitory (reducenty), kam patří heterotrofní organismy, představují v ekosystémech především mikroorganismy, ale i někteří drobní živočichové. Jejich hlavní

funkcí je rozklad a přeměna odumřelého organického materiálu primární i sekundární produkce až na minerální látky. Odbourávání (**dekompozice**) odumřelé organické hmoty je pro život ekosystémů stejně důležitá jako tvorba organické hmoty z minerálních látek producenty. Dekompozitoři, stejně jako mezistupně rozkladu organických látek, vstupují často do nových koloběhů, jsou konzumováni dalšími organismy, čímž výrazně přispívají k tvorbě sekundární produkce.

1.1 Vztahy organismů v ekosystému s důrazem na mikroorganismy

Mezi členy společenstva ekosystémů je možné nalézt prakticky všechny možné varianty vzájemných vztahů, od vzájemné kooperace až po vzájemný tvrdý konkurenční boj. V životním prostředí panuje velká konkurence mezi organismy, mikroorganismy nevyjímaje. Hlavní konkurenční boj se vede o živiny, vodu a životní prostor. Strategií, jakých organismy používají, je velké množství forem. Mezi nejobvyklejší strategie mikroorganismů patří například □růstová strategie, různé formy pohybu, využívání neobvyklých živin, □negativní působení na konkurenci, □spolupráce s jinými organismy, ochrana vlastního teritoria.

Většina organismů se snaží v co největší míře rozmnožit a kolonizovat maximální území. Obecně lze v tomto směru rozeznat tři základní strategie:

K-stratégové mají obvykle pomalejší rozmnožování, tedy i méně vyprodukovaného potomstva za jednotku času, nicméně kvalita tohoto potomstva (např. bohatší enzymatické vybavení) bývá velká a velká část potomků má šanci na přežití. K-stratégové nemají obvykle velkou tendenci migrovat. Při kolonizaci nového prostředí tvoří zprvu minoritní složku, která, ale v průběhu sukcese (po uchycení dostatečně velké populace) mohou získat dominantní postavení.

R-stratégové jsou opakem K-stratégů. Rozmnožují se obvykle velice rychle, tvoří velké množství potomstva, jehož kvalita, ale není velká a významná část potomstva se nedožije dospělosti. Tyto organismy dávají obvykle velký důraz na mobilitu a velké množství potomstva jim umožňuje rychle kolonizovat nová prostředí. Zde zaujmou zpočátku dominantní postavení, které, ale časem obvykle ztrácejí.

S-stratégové se svým způsobem široké konkurenci vyhýbají a to osidlováním lokalit se stresujícími životními podmínkami. Pokud mají předpoklady se na dané prostředí adaptovat, pak získávají konkurenční výhodu a v prostředí převládají.

Je třeba si uvědomit, že přesné vymezení organismu na K- či R-stratéga není obvykle jednoznačně přesné.

Mezi organismy v ekosystému se vytvářejí jednak **vnitrodruhové (homospecifické) vztahy**, kterými rozumíme vztahy mezi jedinci stejného druhu, jednak **mezidruhové (heterospecifické) vztahy**, které se utvářejí mezi jedinci a populacemi různých druhů. Příkladem **vnitrodruhových** vztahů je trvalé nebo periodické seskupování jedinců stejného druhu do skupin, často s charakteristickou organizací a řízením. Tato seskupení umožňují větší míru přežívání, rozmnožování a zvyšují schopnost konkurovat jiným druhům.

Základní vztahy mezi organismy, včetně mikroorganismů, jsou v podstatě dva – synergické a antagonistické.

Synergii se rozumí stav, kdy činnost jedné populace prospívá jiné populaci. **Syntrofismus** je synergie uplatňovaná v potravním řetězci. V rámci této koexistence bakterií dochází k vzájemnému těsnému vyměňování produktů a substrátů metabolismu. Příkladem může být methanogeneze, kdy methanogenní archea využívají odpadní oxid uhličitý a vodík produkovaný jako konečný produkt fermentačního metabolismu některých rodů bakterií (např. *Clostridium*). Velmi často se synantrofií setkáváme v anoxygenním prostředí. **Synergismus** zastupují hlavně takové typy vztahů, jako jsou komenzalismus a metabióza, symbióza a mutualismus.

Komenzalismus je takový vztah mezi organismy, při kterém jeden (komezál) má prospěch bez vlivu na druhý. Přidružený druh svým růstem mění fyzikální a fyziologické prostředí tak, že příznivě ovlivňuje rozvoj komezála. Velmi rozšířenou formou tohoto vztahu je produkce látek, které podporují růst jiných mikroorganismů. Např. kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* produkuje kyselinu nikotinovou stimulující růst bakterie *Proteus vulgaris*. Jedna populace může stimulovat růst druhů jiného společenstva i tím, že zneškodňuje látky, které jsou pro tyto druhy toxické nebo tím, že jeden druh přeměňuje určitý substrát, který je jinak nevyužitelný, na substrát využitelný komezálním partnerem. Např. aerobní mikroby konzumují O_2 v prostředí a tak umožňují rozvoj anaerobních mikroorganismů a nebo oxidací H_2S chemolitotrofními a fototrofními sírnými bakteriemi se v takto detoxikovaném prostředí mohou rozvíjet jiné mikroorganismy. Jiné bakterie zase produkují enzymy rozkládající antibiotika, případně oxidují fenoly a jiné deriváty uhlovodíků a takto umožňují rozvoj jiných mikrobů. Mezi různými formami komenzalismu jsou i takové, kdy komezál mající prospěch ze svých partnerů zpětně tvoří produkt, který je esenciální živinou pro sukcesní druhy. Např. při anaerobním rozkladu rostlinných zbytků v bažinách bakterie rozkládající celulózu tvoří velké množství organických kyselin, které zase působí zpětně a umožňují růst metanogenních bakterií. Komenzalismus se vytváří i tak, že jedna populace vylučuje růstový faktor potřebný pro druhou populaci. V komenzalismu se však

vhodně uplatňují vztahy mezi producentem a konzumentem. Tento typ vztahů představuje nejrozšířenější formu komenzalizmu, která je známa jako metabióza.

Metabíóza je vztah, kdy v důsledku životní činnosti (tvorby meziproduktů a sekundárních metabolitů) některého druhu nebo skupiny mikrobu se vytvářejí vhodné podmínky pro rozvoj jiných mikroorganismů, často následujících první v postupných stádiích sukcese. Velmi markantní a běžný typ tohoto vztahu je v půdě a ve vodě (při samočistění), kdy při mineralizaci organických látek nastává jejich sukcesivní odbourávání od nejsložitějších až po základní složky jednotlivými asociačními bakteriemi, které se postupně střídají, přičemž přicházející skupina vytváří příznivé podmínky pro rozvoj další skupiny s odlišným typem jejích fyziologických potřeb a požadavků. Takovýmto příkladem mohou být mikrobiální procesy při koloběhách C a N jako rozklad dusíkatých sloučenin postupující v řadě bílkovina – močovina – amonné soli – dusitany – dusičnany; dusičnany jsou zase akceptory elektronů pro denitrifikační bakterie. V podstatě jde o mnohoetapový komenzalizmus vytvářený proteolytickou, ureolytickou, nitrifikační a denitrifikační mikroflórou. Metabíóza představuje tedy určitý potravinový řetězec. Čím má řetězec více článků, tím je mikrobiocenóza stabilnější.

Symbióza je forma vztahu, při které dochází k výhodné spolupráci dvou jedinců různého druhu nebo dvou populací. Často bývá alespoň pro jednoho **symbionta** nepostradatelná, popř. výrazně zvyšuje jeho životaschopnost. Namísto zúženého pojmu symbióza se upřednostňuje a používá pojem mutualismus. **Mutualismus** označuje vztah, který znamená vzájemné pozitivní ovlivňování. Jeden organismus podporuje druhý.

Základními znaky symbiózy jsou trvanlivost, stálost jako vrozená vlastnost, kterou si jedinec či asociace udržuje větší část života. Složkou vztahu určující partnera je specifčnost, která jako druhý základní znak vylučuje náhodnost vztahu. Symbióza nepředstavuje vzájemnou pomoc, ale vzájemné využívané přítomnosti a činnosti zúčastněných partnerů zakládající se na výměně metabolitů. Např. v chemicky definovaném médiu *Lactobacillus plantarum* produkuje kyselinu listovou, kterou vyžaduje *Streptococcus faecalis*. Ten naopak produkuje fenylalanin, který potřebuje *L. plantarum*. Symbióza azotobaktera s celulolytickými bakteriemi se zakládá na tom, že celulolytická mikroflóra uvolňuje z celulózy glukózu, která je zdrojem uhlíku a energie pro azotobaktera poutajícího vzdušní dusík. Azotobakter obohacuje prostředí dusíkem nezbytným pro rozklad celulózy. Podobný vztah je mezi azotobakterem a zelenými řasami. Azotobakter je „dodavatelem“ sloučenin dusíku, řasy zase dodavateli uhlíkatých látek jako zdrojů energie.

Klasickým příkladem vysoce vyvinuté symbiózy dvou odlišných mikroorganismů je lišejník. Na této asociaci řasy (fykobiont) s houbou (mykobiont) se mohou účastnit mnohé rozdílné druhy. Nejčastěji to bývá zelená řasa *Trebouxia* a mykobiontem bývá nějaká askomyceta, zřídka bazidiomyceta. Řasy fotosyntézou zabezpečují uhlík, někdy i vitamíny pro svého partnera, houba dodává řase vodné roztoky minerálních solí a poskytuje i ochranu před nepříznivými vnějšími vlivy.

Symbiotické vztahy jsou i mezi mléčnými bakteriemi a kvasinkami v kefirových zrnech. Mléčné bakterie rozkládají laktózu na glukózu a galaktózu, které jsou dostupné i kvasinkám a ty jejich mohou zkvašovat na etanol. Kvasinky přitom produkují vitamíny skupiny B, které využívají mléčné bakterie.

Antagonistické vztahy zahrnují především antagonismus (amenzalismus), konkurenci (kompetici), parazitismus a predaci.

Konkurence (kompetice) je soutěž o společné zdroje živin a energii dostupné v určitém místě. Výsledkem konkurence, kdy jeden z nich má efektivnější metabolismus, je selekce, kdy se začínají navzájem omezovat ve své existenci, růstu a rozmnožování, což vede k postupnému vyloučení jedinců nebo populace s méně výhodnou vlastností. Podle tzv. **principu kompetitivní exkluze** není totiž pravděpodobné, aby dva druhy využívali to stejné prostředí stejně dobře. Lepší kompetitor (konkurent) je vitálnější, rychleji se rozmnožuje a favorizuje ho přirozená selekce. **Mezidruhová** (interspecifická) a **vnitrodruhová (intraspecifická) konkurence** je velmi variabilní a závisí na mnohých vnitřních a vnějších činitelích, jako je například rychlost růstu – druh, který se rychle rozmnožuje (má krátkou generační dobu) a rychle využívá limitující živiny nebo jiné možnosti, má zjevnou výhodu před pomalu rostoucím nebo naopak tolerance vůči jednomu nebo vícero abiotickým faktorům (teplotě, vlhkosti, světlu aj.). Výhodná je schopnost růst i v extrémních podmínkách nebo schopnost rozmnožovat se při nízkých koncentracích limitující živiny. Důležitá může být schopnost mobility do přilehlého prostoru se zásobou limitujícího zdroje výživy (např. extenze hub myceliem). V půdě běžně dominujícími v začáteční aktivitě jsou bakterie rodu *Pseudomonas* a příslušné gramnegativní tyčinky, z hub mukorovité houby, jejichž spory rychle klíčí, hyfy se rychle vyvíjejí a kolonizují nové substráty; jsou tedy dobře vstrojeny pro pionýrskou úlohu v sukcesi. Houby jako skupina jsou schopnější kolonizovat mírně kyselé mikrostanoviště než bakterie nebo aktinomycety. V heterogenních společenstvech dominující rychle rostoucí druhy se vyznačují vysokým stupněm konkurence. Rozdílné populace mohou růst současně a neeliminují se, protože vlastnosti jejich mikroprostředí se mění časem (v průběhu dne i sezóny) a selekční tlak se zmírňuje. Kompetici (konkurenci) mezi

populacemi s podobnými nároky se dá vyhnout, když každá využívá stejný zdroj výživy v různém čase nebo místě.

Antagonismus (amenzalizmus) představuje vzájemné negativní ovlivňování populací vedoucí k potlačování druhého organismu, případně vyvolává jeho smrt. Příčiny tohoto nepříznivého působení bývají různé (např. změny fyzikálně-chemických podmínek prostředí, nahromadění toxických metabolitů v prostředí aj.). Z inhibičně, případně až toxicky působících látek to mohou být peroxid vodíku, amoniak, nitrity, oxid uhličitý, kyslík, sirovodík, jednoduché mastné kyseliny, etanol, ale i antibiotika a toxiny. Rezistence vůči antimikrobním látkám může být pro mnohé druhy a populace ekologicky výhodná. Rezistence bývá často spojená se syntézou detoxikujících enzymů a neprostupností buněčné stěny pro jedovatou látku, příp. s existencí metabolických drah nebo celulárních složek, které jed nepoškozuje. Producent toxinu však může být citlivý na nějakou látku vylučovanou do stejného prostředí jeho blízkým sousedem nebo může být postižený tak, že jím eliminované druhy mohou být právě ty, které potlačují konkurenty nebo parazité organismů produkujících pro něj škodlivý metabolit.

Pokud vzpomenuté metabolity (peroxid vodíku, amoniak, nitrity, sirovodík a další) jsou v prostředí v nízké koncentraci a jejich vliv se odráží v zastavení růstu a rozmnožování mikroorganismů, posuzujeme jejich účinek na mikroby jako **inhibiční**. Např. produkce kyseliny mléčné laktobakteriemi v mléku a jimi indukovaný pokles pH je jasným příkladem antagonizmu těchto bakterií vůči ostatním, především proteolytickým bakteriím přítomným v mléku. Známý je inhibiční vliv kyslíku na anaerobní mikroby, stejně tak retardační vliv etanolu na vývin hnilobných bakterií. Při fermentaci vína působí nejen na kvasinky – producenty etanolu, ale i na anaerobní bakterie, které by se jinak v něm vyvíjely. Etanol však musí mít určitou koncentraci, aby byl organickým toxinem. Oxid uhličitý v blízkosti kořenů brzdí extenzi mycelií, klíčení spor některých druhů hub, jako i tvorbu konidií a chlamydospor hub různých skupin. Silnými inhibitory v půdě a ve vodě mohou být amoniak, nitrity a sirovodík, které ve vyšších koncentracích působí toxicky na mikrobiální společenstva.

Velmi významné jsou vzájemné vlivy mikroorganismů v prostředí a vliv hostitelského makroorganismu, tj. živočicha nebo rostliny na parazitující nebo symbiotické mikroorganismy. Studium obranných reakcí hostitelské živočišné buňky na přítomné mikroorganismy je předmětem imunologie. Mezi biologické faktory s antibiokrobiálním účinkem patří především antibiotika.

Antibiotika jsou přirozené látky produkované mikroorganismy (někdy i vyššími organismy), které v malých koncentracích potlačují životní procesy buňky. Mají tedy toxický

účinek nejen na buňky mikroorganismů a některé i rostlinné a živočišné buňky. Významné je, že se vyznačují selektivní toxicitou, tj. že působí jen na některé části buňky. Selektivní toxicita je dána strukturou molekuly účinné látky, propustností membrán pro antibiotikum a ve schopnosti buňky obejít metabolickou dráhu blokovanou antibiotikem. Antibiotika mají mikrobistatický nebo mikrobicidní účinek. Souhrn všech mikrobiálních druhů, na které antibiotikum působí, se označuje jako spektrum účinnosti antibiotika. Antibiotika produkují vícere kmeny rodů *Streptomyces*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Cephalosporium* a dalších rodů aktinomycet a mikromycet, z bakterií některé kmeny rodu *Streptococcus* (v mléce ve smíšených mlékařských startovacích kulturách), kmeny *Bacillus subtilis* a kmeny rodů *Bacillus*, *Bordetella*, *Diplococcus*, *Escherichia*, *Pasteurella*, *Pseudomonas*, *Salmonella* a *Shigella*. Jeden typ antibiotika může být produkován větším počtem mikroorganismů. Antibiotika jsou buď výměšky živých buněk v rámci jejich normálního metabolismu nebo se uvolňují příležitostně autolýzou odumírajících nebo mrtvých buněk.

Antibiotika lze třídit podle několika hledisek, nejčastěji se používá třídění podle chemické struktury a podle způsobu účinku na buňku mikroorganismů. Antibiotika chemicky podobná mají podobný mechanismus účinku, ale neplatí to naopak, podobný mechanismus účinku mohou mít i antibiotika s různou chemickou strukturou (např. penicilin a vankomycin). Vzhledem k tomu, že antibiotika jsou látky chemicky rozdílné, není u nich jednotný mechanismus účinku. Pro třídění a porovnání základních mechanismů účinků jsou antibiotika řazena do skupin, které zasahují (i) syntézy buněčné stěny, (ii) funkce cytoplazmatické membrány, (iii) syntézy bílkovin, (iv) syntézy nukleových kyselin.

Antibiotika, která působí na syntézu buněčné stěny, inhibují syntézu peptidoglykanu bakterií. Do této skupiny řadíme β -laktamová antibiotika a dále např. bacitracin, cykloserin a vankomycin. β -laktamová antibiotika obsahují β -laktamový kruh a působí jako selektivní inhibitory syntézy peptidoglykanu. Mezi nejpoužívanější antibiotika této řady patří peniciliny a cefalosporiny. β -laktamová antibiotika jsou účinná pouze na rostoucí buňky, protože v nerostoucí klidové buňce neprobíhá řízené štěpení peptidoglykanu. Proto nemá smysl terapeuticky kombinovat antibiotika zastavující růst (např. tetracyklin) s antibiotiky β -laktamovými. Současně je zřejmé, proč jsou β -laktamová antibiotika zcela netoxická pro člověka (eukaryotické buňky nemají peptidoglykan). Buňky rezistentní k penicilinu produkují β -laktamázu (penicilinázu), která štěpí β -laktamový kruh za vzniku kyseliny penicilové. Penicilin je nejdéle používané antibiotikum, které působí na grampozitivní bakterie, gramnegativní koky a rickettsie. V nižších koncentracích působí mikrobistaticky. Mezi další antibiotika působící na buněčnou stěnu bakterií patří bacitracin, polypeptidové antibiotikum

s účinkem na grampozitivní bakterie, cykloserin – nízkomolekulární neurotoxické antibiotikum (strukturní analog D-alaninu) účinkující na rostoucí buňky za vzniku protoplastů s maximálním účinkem na *Mycobacterium tuberculosis*. Inhibičně působí na syntézu peptidoglykanu také vankomycin.

Antibiotika působící na cytoplazmatickou membránu působí inhibičně tím, že se váží na proteiny, popř. i lipidy, membrány, čímž narušují její integritu a fyziologickou funkci. Vyvolávají tak ztrátu selektivní permeability cytoplazmatické membrány, která vede k volné difuzi látek směrem ven z buňky. Tento efekt není závislý na růstu. Tato antibiotika mohou tvořit nesespecifické póry v membráně, kterými se vyrovnává chemický a elektrický gradient na membráně (oligopeptid gramicidin A), což vede k odpřažení respirace a tvorby ATP. Jejich účinek je okamžitý i u klidových buněk. V jejich přítomnosti unikají z buňky především nízkomolekulární látky. Rychlý baktericidní účinek má také polymyxin (bazické polypeptidové antibiotikum), jehož působením dochází k dezorganizaci membrány tím, že lipidová dvojvrstva je narušena za vzniku otvůrků a tunelů a tím je zrušena i její izolační funkce. Polymyxin je účinný zejména na gramnegativní bakterie.

Mezi **antibiotika působící na syntézu bílkovin** patří řada látek s rozdílnou chemickou strukturou, např. aminoglykozidy, chloramfenikol, tetracykliny, makrolidy a linkosamidy. Aminoglykozidy (např. streptomycin, kanamycin, tobramycin, amikacin) se ireverzibilně vážou na menší ribozomální podjednotku a způsobují její distorzi. Následkem toho je zabráněno správné interakci kodon – antikodon, což vede ke ztrátě přesnosti překladu mRNA v bílkovinu a vyvolává tak chyby a nepřesnosti v translaci. Tetracykliny se také vážou na menší podjednotku a způsobují inhibici vazby nové tRNA na ribozom. V jejich přítomnosti se nevytvářejí polyribosomy. Jsou to širokospektrá antibiotika působící na grampozitivní i gramnegativní bakterie, rickettsie, aktinomycety i některá protozoa. Jejich účinek je po odstranění antibiotika reverzibilní. Chloramfenikol se váže na větší podjednotku ribozomu stejně jako všechna následující antibiotika blokující proteosyntézu. Inhibuje činnost enzymu peptidyltransferázy. Jeho účinek je reverzibilní. Makrolidy (erytromycin, spiramycin) a linkosamidy (linkomycin, klindamycin) se vážou na podjednotku 50S a zabraňují interakci velké podjednotky s iniciačním komplexem a pravděpodobně také inhibují peptidyltransferázovou reakci.

K **antibiotikům působící na syntézu nukleových kyselin** patří inhibitory gyrázy (chinolonová antibiotika – kyselina nalidixová a oxolinová, ciprofloxacin). Působí v DNA lokálně specifické dvouřetězcové zlomy. Rifampicin blokuje iniciaci transkripce tím, že se váže na RNA-polymerázu. Klinicky nepoužitelná jsou antibiotika aktinomycin D, který

blokuje transkripci i replikaci DNA a mitomycin C, který vytváří kovalentní vazbu mezi oběma řetězci DNA. Obě tato antibiotika působí kromě bakterií i na živočišné buňky.

Některé bakterie mohou být **rezistentní** vůči účinku různých antibiotik. Může to být vlastnost druhová nebo vlastnost získaná selekcí buněk, které přežily působení daného faktoru. Tato vlastnost může být determinována chromozomálně nebo plasmidově. Primární rezistence vůči danému antibiotiku je poměrně vzácná. Je dána druhem bakterie a přirozenými vlastnostmi druhu. Tento druh bakterie je rezistentní vůči danému antibiotiku bez jakékoliv genetické změny, protože nenes pro dané antibiotikum zásahové místo. Příkladem mohou být některé gramnegativní bakterie, které jsou ve srovnání s grampozitivními méně citlivé na penicilin, příkladem volně žijící patogenní bakterie s vysokým stupněm rezistence je *Pseudomonas aeruginosa*. Naproti tomu získaná rezistence vzniká jako důsledek mutací ovlivňujících geny na chromozomu nebo tím, že bakterie získá geny přenášející (plasmidy a transpozony) rezistenci na původně citlivé mikroorganismy.

Biochemické mechanismy, které způsobují možnost rezistence bakterií na antibiotika, mohou spočívat například v tom, že bakterie tvoří enzym destrující antibiotikum. Častou příčinou rezistence na antibiotika je také vytvoření náhradní metabolické dráhy. Mechanismus zneškodnění antibiotika bakteriálním enzymem je využíván u bakterií, které produkují β -laktamázy. Tento enzym otevře β -laktamový kruh, ten se již neváže na své zásahové místo a proto nemá žádnou antimikrobiální aktivitu. Podobné mechanismy byly nalezeny i u bakterií rezistentních k aminoglykosidům, kde specifické enzymy modifikují aminoskupiny nebo hydroxylové skupiny a antibiotika a molekuly modifikovaného antibiotika již nejsou schopny vázat se na cílové ribozomální proteiny. Rozdíly ve složení obalů grampozitivních a gramnegativních bakterií jsou odpovědné za rozdíly v přirozené průchodnosti některých látek do buňky a také za rozdíly v přirozené rezistenci vůči antibiotikům.

Producent antibiotika nemusí být v mikrobiálním společenstvu dominantní, ale produkce antibiotika mu pomáhá při ochraně před parazity, při neschopnosti efektivně konkurovat rezistentním populacím nebo při nízké koncentraci substrátů, které umí využívat. Schopnost syntetizovat antibiotika se často ztrácí, produkce trvá krátce a je významná, pokud počet jejich producentů roste.

Antagonistické vztahy v přírodě jsou vystupňované přechodem do parazitismu. **Parazitismus** znamená využívání živin a energie z těla jednoho organismu (**hostitele**) druhým organismem (**parazitem**), nemusí nutně způsobit smrt hostitele. Hostiteli činnost parazita škodí. Parazité regulují početnost hostitelských jedinců a někdy mohou redukovat jejich stav na blízky vymření. Hranice mezi komenzalismem a parazitismem nebývají vždy

ostré, v komenzalizmu však asociát hostiteli neškodí. Fakultativně závislé mikroby mívají znaky obou typů vzájemných vztahů. Jako **fakultativní parazité** se označují druhy, které mohou žít nezávisle, samostatně i paraziticky. **Obligátní parazité** naopak musejí mít hostitele, ve kterých probíhá část nebo celý jejich životní cyklus. **Endoparazité** žijí uvnitř organismu (např. bakteriofágy), **ektoparazité** jsou lokalizovány na vnějších površích svých hostitelů (např. *Bdellovibrio bacteriovorus* na povrchu G⁻ bakterií).

Vyrovnaný (nedestruktivní) parazitismus charakterizuje prolongované vyživování parazita, přičemž hostitel tuto situaci přežívá. **Destruktivní parazitismus** se vyznačuje intenzivním rozmnožováním parazita a smrtí a destrukcí hostitele.

Někteří parazité mají strukturní prvky, které je odlišují od volně žijících jedinců. Jsou to např. specializované hyfy hub nebo specifické struktury fimbrií, cilií a flagel, pomocí kterých se přichytávají na hostitelích. Okruh hostitelů vhodných pro parazita vymezuje specifčnost hostitele. Někteří parazité mají úzký okruh hostitelů (např. řasa *Spirogyra* hostí parazitickou hubu *Rhizophyidium sphaerocarum*), jiné mají široký okruh hostitelů (např. některé bakteriofágy, viry řas, houby rodu *Rhizoctonia*, *Mucor*, *Pythium* a další). Mnozí parazité, především obligátní, mají vysokou reprodukční schopnost, která kompenzuje vysokou rychlost mortality parazitů nenacházejících vhodného hostitele. Obligátní parazitismus charakterizuje těsné existenční spojení parazita s hostitelem, na úkor kterého parazit roste a vyvíjí se. Někteří obligátní parazité žijí v určitých stádiích jejich životního cyklu volně, bez hostitele, jiné rostou a replikují se jen v trvalém svazku s hostitelem, tedy jsou absolutně závislé od metabolismu hostitele. Obligátními parazity jsou virulentní viry, jejichž hostiteli jsou bakterie, aktinomycety, houby, řasy, vyšší rostliny a živočichové, rickettsie, které se reprodukuje pouze v živočišných buňkách, z bakterií je to *Bdellovibrio bacteriovorus*, který je parazitem jiných bakterií. Ektoparazitem zelené řasy *Chlorella* sp. je bakteire *Vampirovibrio chlorellavirus*. Patří sem i zástupci fytopatogenní hub (např. moučnatky *Erysiphaceae*) a další ekonomicky významné mikromycety, ale najdeme zde i mykoparazity, které můžeme využít při biologické ochraně rostlin před patogenními houbami (*Trichoderma harzianum* potlačuje patogeny *Fusarium oxysporum*, *Botritis cinerea* atd.).

Pokud primární parazité, kterých existence se váže na metabolismus hostitele, jsou navíc nepadnuty parazity (např. viry), hovoříme o **hyperparazitismu**. Hyperparazitismus má většinou podobu sekundárního parazitismu. Může se vyskytnout i terciární parazitismus, při kterém např. bakteriofágy infikují kmeny bakterie *Xanthomonas uredovorum*, které jsou parazity rzi *Puccinia graminis* var. *tritici*; tato rez je primárním parazitem – patogenem pšenice.

Predace je stav, kdy je jeden organismus (**kořist**) zabit a zkonsumován druhým organismem (**predátorem**). Z řady mikroorganismů najdeme prodátory především mezi prvoky (např. *Ochromonas*), kteří se živí bakteriemi, ale jsou známé i dravé houby.

Neutrální vztahy (neutralismus), kdy žádný z partnerů nemá na druhého vliv, se mezi organismy vyskytují spíše zřídka a jsou vždy relativní, protože i mezi druhy jakkoliv vývojově nebo ekologicky vzdálenými jsou nakonec vícestupňové ekologické vazby v rámci celého ekosystému.

1.1.1 Mikrobiální biofilm

Mikrobiální biofilm je forma existence mikroorganismů v přirozených ekosystémech. Dřívější poznatky o biologii mikroorganismů, především bakterií vycházely ze znalostí vzešlých z výzkumů získaných z laboratorních kultivací patřičných mikroorganismů. Zpočátku to byly kultivace v tekutých živných médiích, o něco později kultury čistých jednodruhových bakteriálních kultur na pevných agarových půdách. Tyto výzkumy přinesly celou řadu pro mikrobiologii převratných objevů. Přesto některé závěry získané pozorováním kultivovaných mikroorganismů v ideálních, ale zároveň nepřirozených podmínkách, neodpovídaly vždy výsledkům zkoumání metabolismu a chování mikroorganismů v přirozených ekosystémech. Nepotvrzovaly se například některé výsledky testů vyvíjených léků na patogenech pěstovaných v laboratorních podmínkách s hodnocením testů na přirozených populacích mikroorganismů. Metody molekulární biologie nám daly možnosti prokázat mikroorganismy v prostředí, kde jsme jejich existenci nepředpokládali z důvodů extrémnosti podmínek v určitém prostředí. Například v laboratorních podmínkách simulujících podmínky žaludku nebyl žádný mikrob kultivovatelný, přesto v reálných podmínkách je schopno v žaludku žít několik druhů bakterií. Stanovení počtu druhů půdních mikroorganismů pomocí sběru a sekvenování DNA a následných analýz ukazují na mnohonásobně větší množství druhů či kmenů mikrobů, než jsme schopni zjistit metodou laboratorních kultivací. Jedná se o takzvanou nekultivovatelnou většinu, kdy klasickými metodami nejsme schopni postihnout až 95 % druhů v populaci.

Tyto a další nejasnosti vedly k intenzivnějšímu výzkumu přirozených mikrobiálních ekosystémů. Při těchto výzkumech se zjistilo, že charakteristickou vlastností mikroorganismů v přirozených ekosystémech, je přisedat k pevným povrchům a jejich společná existence ve formě tzv. **biofilmu**, což je společenstvo mikroorganismů tvořících společně odolnou slizkou vrstvu na pevném podkladu. Ukazuje se, že existence v biofilmu je pro bakterie z mnoha důvodů výhodnější a ve většině prostředí je také základním způsobem jejich přirozené

existence. V přírodě mají bakterie přirozenou tendenci přichycovat se a přilnout na pevný povrch.

Biofilm je tedy podle nejnovějších definic přisedlé multidruhové společenstvo mikroorganismů, charakterizované tím, že buňky které jsou ireverzibilně přichycené k podkladu nebo k sobě navzájem, jsou zapuštěné v hlenové matrici extracelulárních polymerních látek těmito buňkami produkovaných, a které dále vykazují odlišný fenotyp s ohledem na rychlost růstu a transkripci genů.

Tato forma existence mikroorganismů je pro ně velice výhodná. Oproti bakteriím rostoucím v planktonické formě (žijící volně v tekutém médiu), poskytuje biofilm bakteriálním buňkám, které jsou z tohoto hlediska nejvíce prozkoumány, ochranu a udržuje určitý stupeň homeostázy, kdy vytvořená biofilmová vrstva obklopující buňky představuje bariéru, která izoluje mikroby od okolí. Mikroorganismy mohou mít v biofilmu vyšší odolnost vůči toxickým látkám, UV záření, mechanickému poškození nebo bakteriofágům či predátorům. Patogenní mikroorganismy v tělech hostitelů lépe odolávají působení imunitního systému nebo antibiotikům. Biofilmové formy mikrobů vykazují také vyšší metabolickou aktivitu ve srovnání s planktonicky žijícími mikroorganismy.

1.1.1.1 Vznik a význam biofilmu

Mechanismus tvorby biofilmu můžeme rozdělit do několika fází, které vyžadují mezibuněčnou signalizaci a komunikaci, kdy buňky vykazují celou řadu specifických genetických transkripcí odlišných od planktonních buněk.

Nejprve dochází k **přilnutí buněk k povrchu a adhezi**, která probíhá ve dvou krocích. Prvním je reverzibilní adsorpce a druhým permanentní neboli ireverzibilní zachycení. Tyto kroky jsou zprostředkovány třemi typy interakcí bakterií a okolí, ke kterým patří fyzikální síly, nespecifické chemické vazby a specifické interakce mezi receptory bakterií a receptory potenciálního hostitele. Těsně před přilnutím se u bakterií spouští řada genů. Při dotyku s vhodným povrchem se nejdříve aktivuje především vznik bičků, v biofilmu se pak jejich tvorba ve většině případů snižuje nebo úplně ustává. V přichycení (adhezi) pomáhají bakteriím další buněčné struktury, např. fimbrie. K adhezi používají mikroorganismy specifické povrchově aktivní látky zvané **adheziny**. Mohou to být molekuly látek různé povahy – bílkoviny, glykopeptidy, polysacharidy. Bezprostředně po kontaktu buňky s povrchem se aktivují geny zajišťující produkci právě těchto polymerů. Po přichycení a změně fenotypu buňky začíná **kolonizace povrchu**, kdy se bakterie začínají dělit a kumulovat a tvořit tak **primární biofilm** (obr. 1).

V další fázi dochází k **přichytávání** a **množení dalších buněk** (různých druhů) za vzniku **sekundárního biofilmu**. V této době bakterie také vylučují na svůj povrch poměrně velké množství (až 100krát více než je hmotnost buňky) **extracelulární polymerní matrice (EPM)** – slizu různého chemického složení. Společně s bakteriálními buňkami je základní stavební složkou biofilmu a výrazně ovlivňuje jeho vlastnosti. EPM produkují kromě bakterií případně i buňky eukaryotní přítomné v biofilmu a v této matici jsou potom buňky fixovány. V tomto ireversibilním stádiu zde dochází k redistribuci buněk a tvorbě **mikrokolonií**.

Plně vyztřálý biofilm není homogenní, ale má heterogenní strukturu, buňky a kupy buněk tvořící mikrokolonie jsou rozptýleny v matici s mezerami, kde vznikají kanálky a póry, kterými proudí voda a výživa do hlubších vrstev společenství buněk. Tyto kanálky, jež mohou většími mikrokoloniemi i procházet jsou propojeny s okolní kapalnou fází. Okolní kapalina obsahuje molekuly živin a dalších nezbytných organických a anorganických látek, prostřednictvím kanálků a pórů v mikrokoloniích vstupuje do biofilmu, těmito živinami ho zásobuje a naopak odnáší metabolické produkty. Z kanálků proudí kapalina póry do nitra větších mikrokolonií a dále se již dostává pouhou difuzí. Ta je však účinná pouze do určité hloubky biofilmu. S rostoucí hloubkou proto dochází ke zřetelnému úbytku koncentrace kyslíku a dalších životně důležitých látek. Protože matrice izoluje mikrokolonie buněk od proudící kapaliny, umožňuje biofilmová vrstva metabolické aktivity zcela odlišné od dějů probíhajících okolí. V jednom společenství mohou koexistovat vedle sebe bakterie s odlišnými nároky například na kyslík a s odlišnou respirační aktivitou. Tak je možné, aby například anaerobní aktivity (produkce metanu) probíhaly v aerobním prostředí a aerobní i anaerobní, jako např. oxidace sulfidů a redukce síranů, v odlišných vrstvách téhož biofilmu. Struktura biofilmu a koncentrační gradienty různých látek způsobují různé rozvrstvení metabolicky aktivních a neaktivních buněk. Kapalina, která biofilm obklopuje a obtéká zvenčí, přináší využitelné organické i anorganické látky a odnáší produkty metabolismu. Do hloubky jsou, stejně jako kyslík, zanášeny již zmíněným systémem kanálků. Tloušťka biofilmu závisí na dostupnosti živin a na tom, zda je složen z jednoho či více bakteriálních druhů a může dosahovat od několika μm do několika stovek μm .

Mikroorganismy v biofilmu se od svých planktonických forem liší transkripcí odlišných genů a tudíž i svými fyziologickými vlastnostmi, vzniká tak určitý **biofilmový fenotyp**. Biofilm může být tvořen jedním druhem mikroorganismu nebo se může jednat o vícepruhové společenstvo mikroorganismů. **V jednom biofilmu mohou být pohromadě zástupci různých domén, např. bakterie, prvoci, mikromycety a archea.** Buňky v biofilmu vzájemně metabolicky spolupracují. Takováto společenství mají velmi rozmanitou

infrastrukturu, která je do značné míry obdobná organizaci tkání vyšších vícebuněčných organismů s rysy buněčné specializace a kooperace.

V poslední fázi existence biofilmu dochází na určitý impuls (tento jev označujeme jako **quorum sensing** viz níže) k **uvolňování mikrobiálních buněk** z mikrokolonií. Příčinou může být konkurence a neúnosnost další existence ve společenstvu. Chemické signály vycházející z buněk umožňují zjišťovat hustotu populace a některé buňky se na tento impuls odlučují, přecházejí do planktonického stavu (odplouvají) a kolonizují další části povrchu, čímž se zabrání zhušťování populace v původním biofilmu. Nejčastěji jsou uvolňovány jednotlivé buňky a malé shluky, ale oddělují se i velké kusy hmoty biofilmu (díky aktivní tvorbě polysacharidových lyáz nebo ektoenzymů vedoucím ke štěpení extracelulární matrice).

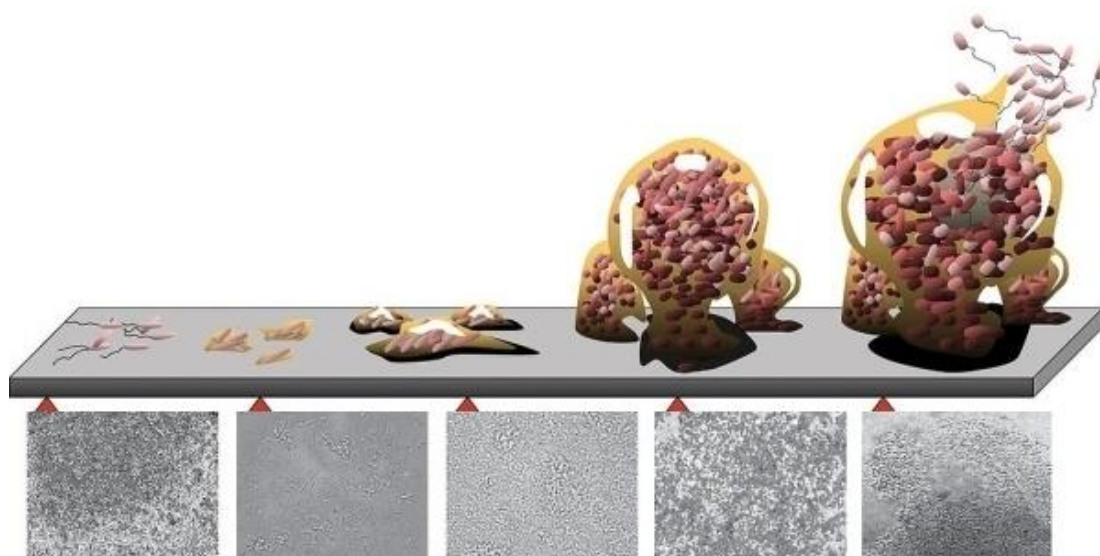
Mikroorganismy jsou schopny tvořit biofilmy na různých površích, jako je PVC, sklo, nerezová ocel, apod. Biofilmy se vyskytují prakticky všude, kde jsou přítomné mikroorganismy. Mohou se vytvářet na:

- (i) **rozhraní pevné a vzdušné fáze** (mokrý povrchy, plicní infekce), kde biofilm získává živiny a vlhkost z pevné fáze a kyslík ze vzduchu; výsledkem je vznik opačných gradientů živin a kyslíku v biofirmu,
- (ii) **rozhraní inertní pevné a tekuté fáze** (potrubí, kloubní implantáty), kde živiny a kyslík jsou získávány z tekutého prostředí a gradient koncentrace těchto materiálů klesá s rostoucí hloubkou biofirmu,
- (iii) **rozhraní pevné živné a tekuté fáze** (půdní prostředí, infekce měkkých tkání), kde živiny a kyslík mohou pocházet z pevné nebo tekuté fáze a výsledkem je vznik různých fyzikálně-chemických gradientů v mikrobiálním společenstvu biofirmu.

Kromě přírodního prostředí se tedy vyskytují i **v mnoha typech humánního prostředí**, kde **způsobují četné problémy**. Znečišťují totiž povrchy, na nichž se tvoří, případně je poškozují korozi. Biofilm například zvyšuje odpor lodního trupu při plavbě a poskytuje základ pro další usazování řas a larev bezobratlých. V potrubí rozvinutý biofilm způsobuje turbulenci protékající kapaliny a omezuje průtok, podílí se také na korozi ropovodů či nádrží paliva v letadlech. V průmyslových výměnících tepla tvoří tepelnou izolační vrstvu a snižuje jejich účinnost.

Zcela samostatnou, ale nesmírně důležitou a v současnosti nejvíce studovanou otázkou je výskyt biofilmů v medicíně, především na cizích tělesech v lidském těle, jako jsou kanyly, katetry nebo plastové protetické implantáty (umělé srdeční chlopně, kardiostimulátory, umělé kloubní náhrady), kde mohou vyvolávat řadu obtížně léčitelných infekcí. Tvorba biofilmů byla prokázána u většiny patogenních bakterií, např. u zástupců rodů *Pseudomonas*, *Vibrio*,

Escherichia, *Salmonella*, *Listeria*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* nebo *Mycobacterium*. Biofilmová forma patogenů (různé fenotypy) může výrazně změnit virulenci a patogenitu těchto mikroorganismů. Pakliže se například tyto parazité dostanou do těla nikoliv jednotlivě, ale ve fragmentálních chuchvalcích uvolněných z biofilmu, snáze uniknou imunitnímu systému, nemohou být pohlceny fagocyty. Patogenní mikroorganismy v biofilmu mají zvýšenou rezistenci vůči čistícím a dezinfekčním prostředkům i vůči biocidním látkám používaným k léčbě infekčních onemocnění (antibiotika). Tato **zvýšená rezistence** může být způsobena například mechanickou ochranou extracelulární polymerové matrice. Dále díky různé úrovni rozvrstvenosti buněk v biofilmu, kdy mohou být více zasaženy horní vrstvy buněk, které mohou odumřít, ale spodní buňky, které jsou zasaženy méně, snáze přežijí a mohou se dál dělit a nahradit ty odumřelé. Dochází zde také ke spolupráci a kooperaci, kdy například jeden druh buněk dokáže inaktivovat určitou toxickou látku v prostředí (např. určité antibiotikum) pomocí svých enzymů (exoenzymů) a jiný organismus zase toxin jiný. Tímto chrání nejen sebe sama, ale zároveň i sousední buňky. Navíc v biofilmu dochází k vyššímu stupni genetické výměny, kdy se díky poměrně úzkému kontaktu mezi nimi intenzivně vyměňuje genetická informace, zvláště konjugací a přenosem plasmidů. Tímto způsobem se mohou mezi jednotlivými populacemi v biofilmu rychle šířit (**až 1000krát rychleji** než u planktonních buněk) plasmidy kódující rezistenci k antibiotikům.



Obr. 1 Vznik a vývoj biofilmu

(<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/4/4a/Biofilm.jpg/1024px-Biofilm.jpg>)

V mnoha odvětvích průmyslu, jako jsou biotechnologie, čištění odpadních vod nebo bioremediace (využití mikrobiálního metabolismu k odstraňování polutantů z vody nebo

půdy), je naopak **přítomnost biofilmů žádaná** a často nezbytná. Důležitá je existence biofilmu nativní mikroflory člověka (**mikrobiom**) například v trávicím traktu, kde nám pomáhá trávit potravu a vytváří prostředí potlačující patogeny. Velice významná je existence biofilmu v různých ekosystémech, například ve vodních prostředích, ale především v půdě kolem kořenového systému v rhizosféře, kdy jde o tzv. **rhizoplanní mikrobiální biofilm**. Na povrchu nadzemních částí najdeme **fyloplanní** společenstva mikrobů ve specifické formě biofilmu – v **bioagregátech** (lokální shluky mikrobů).

1.1.1.2 Regulace tvorby biofilmu a quorum sensing

V určité fázi vývoje biofilmu se mohou začít některé buňky z kolonií odlučovat, měnit opět svůj fenotyp, přecházet do planktonního stavu a následně mohou kolonizovat další části povrchu. Pravděpodobnou příčinou tohoto chování je zvyšující se konkurence mezi buňkami v biofilmu.

Jednotlivé buňky bakterií produkují **chemické signály** (informační molekuly odvozené od laktonů a peptidů) upozorňující okolní buňky na jejich přítomnost. Okolní buňky jsou schopny zachycovat tyto chemické signály na speciálních receptorech a reagují na informaci migrací, zabraňují tak dalšímu zahušťování populace. Produkce signálních látek stoupá se zvyšující se hustotou populace a tyto látky se ve vysokých koncentracích hromadí v buňkách a jejich okolí. Tento způsob **vnitrobiofilmové komunikace** se označuje pojmem vnímání množství (**quorum sensing, QS**). *Quorum* znamená vlastně nejnižší počet účastníků, minimální hranici (např. v parlamentu je to nutný počet účastníků, aby byl usnášeníschopný) a *sensing* vychází z latiny, kdy znamená detekci či vnímání. V biofilmu tedy toto slovní spojení dohromady znamená detekci určitého množství buněk. Quorum sensing byl poprvé pozorován v 70. letech 20. stol. u mořské bakterie *Vibrio fischeri*, kde kontroluje luminiscenci. Tyto bakterie fungují často jako mutualistický světelný orgán (fotofor) v symbióze s určitými mořskými organismy a jsou schopné luminiscence pouze tehdy, když dosáhnou dostatečné buněčné hustoty. Quorum sensing je tak vlastně druhem rozhodovacího procesu směřujícího ke koordinaci chování určité populace (mohou změnit své individuální chování na chování skupinové). Dosud bylo popsáno několik rozdílných typů signálu, gramnegativní bakterie využívají jako signální molekuly v QS systému nejčastěji N-acyl-homoserin laktony složené z mastné kyseliny a aminokyseliny serinu, u grampozitivních mikrobů jde obvykle o krátké oligopeptidy, které lze přirovnat k feromonům nebo hormonům. Signální látky po zachycení na receptory sousedních buněk řídí jejich dělení, a tím hustotu populace v biofilmu, ale také

tvorbu slizové polysacharidové matrice. Můžeme říci, že QS je regulací exprese příslušných genů jako odezvy na okolní změny density bakteriálních buněk.

Mezibuněčná komunikace zprostředkovaná QS systémem může výrazně ovlivnit například vznik chorob, kdy působí zároveň na expresi faktorů virulence u celé řady patogenních bakterií. Absence jedné či několika složek QS systému může způsobit výrazné snížení virulence. Zdá se, že je ekonomické tvořit extracelulární faktory až poté, co bylo dosaženo kritické populační hustoty. QS totiž umožňuje bakteriálnímu patogenu koordinovat syntézu extracelulárních faktorů virulence tak, že se neuplatní v rané fázi infekce, kdy je bakteriální populace slabá a může být při výraznějších projevech rozpoznána a snadněji zničena imunitním systémem. Naopak načasované pozdější uvolnění těchto faktorů umožní, že se patogen dostatečně pomnoží bez přílišného upozorňování na svou přítomnost a pak překvapí útokem, kdy vypustí faktory virulence (např. různé extracelulární substance) v koordinované a masové podobě vedoucí k překonání imunitních bariér. Příkladem mohou být zástupci bakterií rodu *Pseudomonas*, kdy při nízké densitě mohou žít s živočišným hostitelem bez jeho zjevného poškozování. Po dosažení určité minimální koncentrace (quorum sensing), kdy je jeho počet dostatečný k překonání imunitního systému hostitele, může dojít k poškozování hostitele, dojde k propuknutí choroby (např. *P. aeruginosa* může způsobit u lidí záněty plic, nekrózu tkání, poškození nervového systému).

1.2 Vztahy mezi mikroorganismy a rostlinami

Různé vztahy mikroorganismů s rostlinami jsou velice běžné a časté. Negativní dopad na život rostlin v přírodě, ale i rostliny zahradnický pěstované má aktivita parazitických mikroorganismů způsobujících celou řadu chorob. Fytopatogeny najdeme mezi bakteriemi (rody *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Agrobacterium*, atd.), viry (virus šárky či neštovic slivoní), ale nejvíce jich najdeme mezi mikromycetami (např. rody *Fusarium*, *Botrytis* atd.). Více v pasážích o jednotlivých skupinách mikroorganismů.

Mikroorganismy najdeme na všech nadzemních i podzemních částech rostlin. Můžeme konstatovat, že žádná jednotlivá rostlina nežije osamocena, jedná se spíše o konglomerát navzájem se ovlivňujících organismů. Počty mikroorganismů vyskytujících se na nadzemních částech rostlin (**fylosféra mikroflora**) se pohybují ve stovkách až tisících na gram sušiny rostlin. Najdeme zde mimo patogenů třeba bakterie (*Erwinia herbicola*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, bakterie mléčného kvašení, plisně a kvasinky atd. Přítomnost těchto mikroorganismů může ovlivnit posklizňovou úpravu či skladování sklizených zemědělských

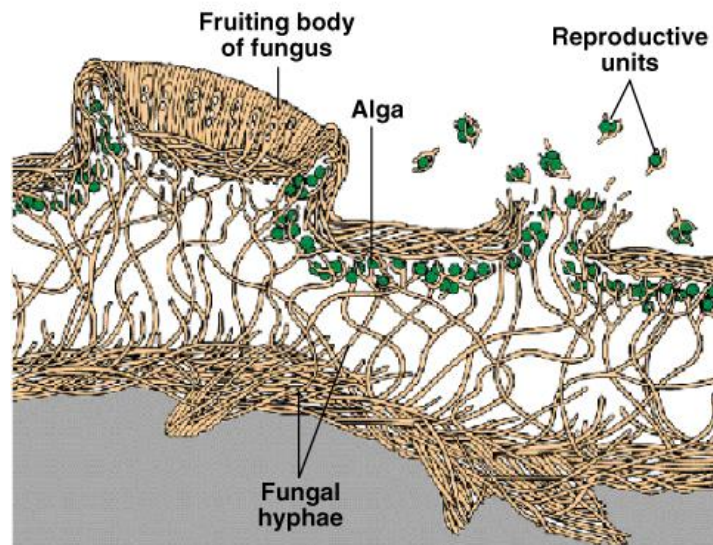
a zahradnických plodin. Součástí fylosféry jsou patogenní mikrobi, ale též mikroorganismy, které fytopatogeny potlačují, např. *Pseudomonas fluorescens*. Přítomnosti některých fylosférických mikroorganismů můžeme využít při konzervaci některých zelenin (bakterie mléčného kvašení). Přirozeného výskytu kvasinek na plodech (révy) bylo odjakživa využíváno při kvašení a výrobě vína.

Nejvíce interakcí však probíhá v oblasti kořenů a jejich nejbližším okolí v tzv. **rhizosféře**, tedy v oblasti půdy, která je bezprostředně ovlivněna kořeny a uvolňováním jejich exsudátů. Rhizosféra představuje druhotně bohaté společenstvo mikroorganismů (zejména bakterií, hub a prvoků) a makroorganismů (kromě kořenů rostlin tu nacházíme běžnou půdní faunu, např. hlístice či hmyz). V rámci společenstva existuje mnoho vzájemných vztahů. Počet a druhové zastoupení je závislé na druhu rostliny a růstovém stadiu, půdním typu a způsobu hnojení. V rhizosféře bývá obvykle zvýšená koncentrace organismů a zejména mikroorganismů. Důvodem je větší nabídka látek využitelných mikroorganismy. Jedná se např. o odumřelé části kořenů, ale i o látky produkované kořeny do prostředí, hlavně nízkomolekulární zdroje uhlíku (tzv. rhizodepozice). V rhizosféře vznikají četné potravní řetězce, ve kterých mikroorganismy hrají jak roli konzumenta (např. rozkládají nejrůznější odpadní látky), tak roli potravy pro prvoky či vyšší organismy. Rhizosférický život působí na rostlinu obvykle celkově pozitivně, hlavně proto, že přítomné (mikro)organismy obohacují půdu o vázané minerální živiny. Pozitivně také působí bohatost různě provázaného společenstva. Do bohatého společenstva mají další mikroorganismy ztížený vstup, což představuje pro rostlinu třeba ochranu proti vnějším patogenním mikroorganismům. Více o rhizosféře v kapitole o úloze mikroorganismů v půdě.

Velice významným vztahem je **symbióza bakteriálních fixátorů dusíku s některými rostlinami** například z čeledi bobovitých (hrách, fazole, jetel, sója apod.). Bakterie rodu *Rhizobium* žijí přímo v kořenech rostlin, kde je rostlina zásobuje výživou (organickými kyselinami a přiměřeným množstvím kyslíku). Bakterie naopak fixují vzdušný dusík a produkují amonné ionty přímo do kořene. Více v kapitole o koloběhu dusíku.

Lišejníky představují další zajímavé soužití houby (tzv. **mykobiont**) a fotosyntetizujícího mikroorganismu (**fotobiont, fykobiont**). Mykobiont je obvykle askomycetní houba (cca 98 % lišejníků), výjimečně basidiomycetní houba (cca 2 %). Fotobiont je nejčastěji eukaryotická zelená řasa, méně často sinice (cca 8 %), výjimečně jiná (nezelená) eukaryotická řasa. Soužití je obvykle párové, výjimečně je lišejník tvořen více partnery, častěji je více fotobiontů než mykobiontů. Lišejníky jsou pojmenovávány podle mykobionta. Vzájemné vztahy mezi mykobiontem a fotobiontem jsou různé a obecně jsou označovány termínem **lichenismus**

(obr. 2). Vztah je obvykle oboustranně prospěšný, fotobiont poskytuje organické látky, mykobiont naopak vodu, minerální látky a vhodné životní prostředí.



Obr. 2 Příklad výjimečně těsného soužití autotrofního a heterotrofního organismu – lichenismus (<http://www.orko.cz/Biologie%202010/Fungi05.ppt>)

1.2.1 Mykorhiza

Velice rozšířeným a důležitým symbiotickým vztahem mezi rostlinami a houbami je **mykorhiza**. Výrazem mykorhiza (z řec. *mycés* – houba, *rhizó* – kořen) nazýváme mutualistickou (symbiotickou) asociaci, která vzniká mezi kořeny vyšších rostlin a specifickými půdními houbami.

Mykorhizní symbióza je obecně u většiny rostlinných druhů rozšířená a je spíše pravidlem, výjimkou je spíše absence některých typů mykorhizy. Mykorhiza byla prokázána u více než 90 % krytosemenných rostlin, u všech jehličnanů a také u výtrusných rostlin, např. u kapradin čeledi *Ophioglossaceae* nebo u plavuní (*Lycopodium*) a najdeme ji ve všech typech půd. Mykorhiza se tedy vyskytuje asi u 90 až 95 % cévnatých rostlin. Mykorhiza byla dle paleontologických nálezů zjištěna již u nejstarších psilofytních suchozemských rostlin. Mykorhizní symbióza je charakteristická pro cévnaté rostliny, které mají dobře vyvinuté kořeny. Ze zkoumaných 200 čeledí zahrnujících 10 000 rodů cévnatých rostlin nebyla mykorhiza nalezena (nebo jen v omezené míře) pouze u rostlin ze 14 čeledí. Jedná se například o čeledi *Brassicaceae*, *Cyperaceae*, *Juncaceae*, *Lemnaceae*, *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae* atd.

Mykorhizní houby patří mezi houby stopkovýtrusé (*Basidiomycetes*), vřeckovýtrusé (*Ascomycetes*) a spájivé (*Zygomycetes*). Rozvoj těchto hub v kořenech hostitelských rostlin je

omezen pouze na kořenovou pokožku (rhizodermis) a primární kořenovou kůru. Nikdy nepronikají do středního válce kořene, který obsahuje vodivá pletiva. Vlákna mykorhizních hub propojují vnitřní prostor kořene s okolní půdou. Vytváří síť mimokořenového mycelia, které podstatným způsobem zvětšuje objem půdy, z něhož rostlina může prostřednictvím houby sorbovat živiny. Při mykorhizní symbióze dochází mezi houbou a rostlinou k obousměrnému toku živin. Vzájemná a rovnovážná výměna živin mezi účastníky symbiozy je základem fungování mykorhizy. Mykorhizní houba **čerpá uhlikaté sloučeniny** jako zdroj energie a uhlíku ke své výživě od hostitelské autotrofní rostliny a za to ji na oplátku **dodává některé minerální látky**, zejména fosfor, minerální dusík i další prvky. Například fosfor se sice vyskytuje v půdě zpravidla v dostatečném množství, je však silně poután v půdním sorpčním komplexu a tedy pro rostlinu nedostupný. Mycelium hub může fosfor uvolňovat z půdního sorpčního komplexu a transportovat ve své cytoplazmě do buněk hostitele. Houbové mycelium funguje vlastně jako prodloužení rostlinných kořenů, přičemž toto prodloužení je mnohonásobné ve srovnání s kořenem rostliny. Mycelium lesních hub může mít délku i v řádech kilometrů a může fungovat fakticky jako „potrubí“ a transportovat živiny z jednoho konce lesa na druhý. Při jistém experimentu byla zastíněna část porostu dřevin, kde vlivem nedostatečné fotosyntézy chyběly některé cukry. Do těchto rostlin propojených myceliem putovaly, jak bylo zjištěno, cukry od rostlin nezastíněných a tedy plně fotosyntetizujících. Délka hyf a jejich propojenost i s hostitelskou rostlinou žijící v mykorhize a jejich vzájemná komunikace na chemické a biologické úrovni vede k úvahám o podobnosti s internetovou sítí. Pomocí hyf může docházet ke komunikaci rostlin napojené mykorhizou mezi sebou navzájem. Pomocí této sítě si mohou posílat informace o napadení škůdci, kdy bylo například zjištěno, že rostliny, které ještě nebyly napadeny a byly spojeny přes mycelium s těmi napadenými, začaly preventivně syntetizovat ochranné látky proti škůdcům.

Mykorhiza také **zlepšuje příjem vody**. Voda může být aktivními hyfami hub přijímána a translokována do rostliny nebo se může pohybovat po povrchu těchto hyf, které spojují jednotlivé půdní částice. Mykorhizní houby zprostředkovávají pro rostliny transport vody a živin ze sedmi až desetinásobně většího objemu půdy než samotné kořenové vlášení rostliny.

Mohou tak přispívat ke **zvýšení odolnosti rostlin vůči abiotickým stresovým faktorům**, jako je sucho, ale také nízká teplota, salinita, nízké hodnoty pH nebo vysoká koncentrace těžkých kovů. Dochází k zadržování těžkých kovů v myceliu mykorhizních hub a omezuje se tak vstup toxických kovů do biomasy rostlin (užitkových částí plodin).

Mykorhizní houby mohou **zvyšovat rezistenci hostitelských rostlin proti napadení patogeny** tím že, mohou příznivě ovlivňovat strukturu půdních mikrobiálních společenstev a vytvářet bariéru obtížně překonatelnou patogenními organismy. Kořen obalený houbovým myceliem je hůře napadnutelný parazity či patogenními mikroorganismy. Menší míra napadení rostlin byla zjištěna u houbových patogenů rodu *Phytophthora*, *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* nebo *Verticillium* a také u patogenních bakterií *Erwinia carotovora* a *Pseudomonas syringae*. Přítomnost houby navíc stimuluje mikrobiální život v rhizosféře, z čehož rostlina obvykle také těží. Je experimentálně i z praktických pokusů prokázáno, že po vzniku mykorhízy se oběma symbiontům lépe daří. Např. ve školkách vysazované stromky mají v přítomnosti houby větší pravděpodobnost uchycení a také rychleji rostou.

Významnou roli hrají mykorhizní houby i při **stabilizaci půdních agregátů**. Hyfy těchto hub prorůstají půdou, omotávají a zachycují primární půdní částice, organický materiál a malé agregáty a tím vytváří podmínky pro tvorbu mikroagregátů. Důležitou látkou, která je vylučována do půdy myceliem hub je glykoprotein glomalin, který pravděpodobně působí jako jeden z hlavních faktorů stabilizujících půdní agregáty. V důsledku toho extraradikální hyfy, společně s vláknitými kořeny rostlin, mohou vytvářet „lepkavou síť“, která proplete půdní částice a podpoří tvorbu makroagregátů, základní stavební prvek půdní struktury. Mikroagregáty a malé makroagregáty se tak stabilizují a spojují do strukturovaných makroagregátů. Spojování částic půdy pomocí hyf mykorhizních hub do agregátů větších než 250 µm v průměru je významné pro stabilitu zemědělských půd, kdy zvyšují soudržnost půdy a tím zvyšují její odolnost proti vodní a větrné erozi. Arbuskulární mykorhizní houby mohou nepřímo zlepšit půdní strukturu také tím, že poskytují uhlíkaté látky pro aktivitu půdních bakterií a dalších mikroorganismů produkujících chemické látky, které také pojí půdní částice.

Na základě druhu mykorhizní houby vstupující do symbiózy a hostitelské rostliny a dle typických morfologických znaků (např. přítomnosti nebo absence příčných přehrádek – sept v hyfách mycelia, vnitrobuněčné kolonizace primární kůry kořene, tvorby houbového pláště atd.) rozeznáváme několik odlišných typů mykorhizních symbióz. Obecně rozlišujeme dva základní typy mykorhízy: endomykorhizu a ektomykorhizu.

Endomykorhiza je typ symbiózy, kde dochází k rozrůstání hyf v inter- a intracelulárních prostorách kořene. Houba kolonizuje tedy buňky primární kůry kořene, kde proniká přes buněčnou stěnu, ale nikoliv přes cytoplazmatickou membránu. Je doprovázena tvorbou extraradikálního (mimokořenového) mycelia, které prorůstá z kořene do půdního prostředí, opakem jsou intraradikální hyfy uvnitř kořene. Kořeny se při tom morfologicky nemění

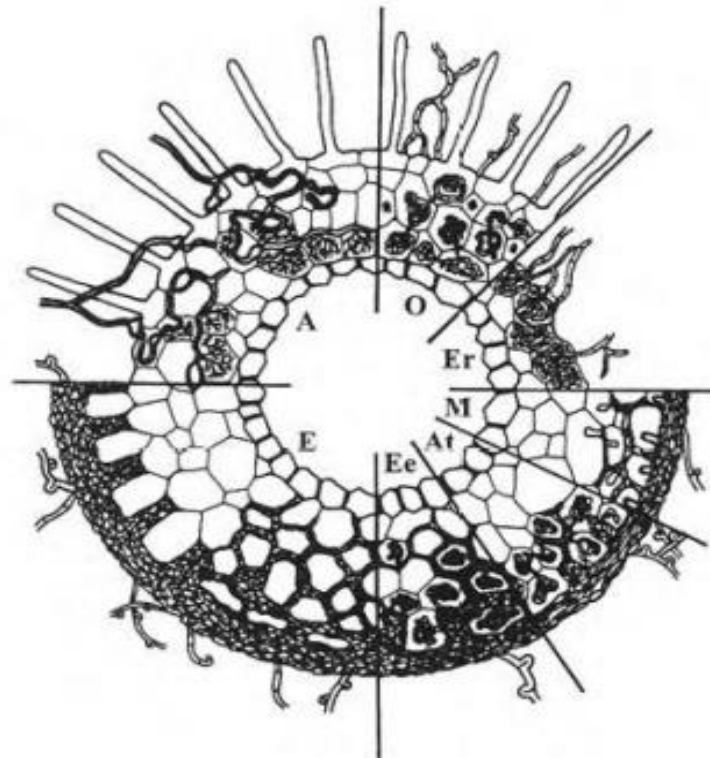
a kořenové vlášení zůstává zachováno. Patří sem arbuskulární mykorrhiza, orchideoidní a erikoidní mykorrhiza.

Arbuskulární mykorrhiza (AM) je pravděpodobně nejvíce rozšířeným a nejvíce univerzálním (nejméně specifickým) typem mykorrhizní symbiózy (obr. 3). Předpokládá se, že se vyskytuje u 90 % druhů rostlin, což představuje asi 11 000 rodů čítajících 225 000 druhů. Najdeme ji u rostlinných druhů všech podnebných pásem i ekologických nároků. Je významná mimo jiné i proto, že ji nacházíme u velké většiny kulturních rostlin, z čehož plyne, že arbuskulární mykorrhizní houby mohou být přítomny prakticky ve všech typech agrekosystémů. Arbuskulární mykorrhizní symbióza je také vývojově (fylogeneticky) nejstarším typem mykorrhizní symbiózy. Nejstarším nálezem je 455 až 460 milionů let starý fosilní materiál z ordovického dolomitického vápence, který obsahuje spory tvarově totožné se spory dnešních hub rodu *Glomus*. Ve vnitřních vrstvách primární kůry, blíže k endodermis, se tvoří keříčkovité útvary, kde dochází k intenzivní výměně látek mezi hostitelem a houbou zvané **arbuskuly**, v pozdějších fázích vývoje se začnou vytvářet oválné útvary, které plní zásobní funkce – **vezikuly**. Z kořene také vyrůstají hyfy mimokořenového mycelia. Vykličené spory v půdě a z ní vyrůstají tenkostěnné hyfy, jsou chemotropicky atrahovány ke kořenům hostitelské rostliny, kde dochází k jejich intenzivnímu větvení. Morfologie kořenů se po vytvoření arbuskulární mykorrhizní symbiózy nemění. Pro zemědělské účely se může jako inokulum pěstovaných rostlin použít spor, kousky infikovaných kořenů nebo půda.

Orchideoidní mykorrhizní symbióza je vztah, který najdeme výhradně a jen u všech zástupců čeledi vstavačovitých (*Orchidaceae*). Houby vytvářející orchideoidní mykorrhizu patří do třídy *Basidiomycetes*. Využívají se uvnitř buněk primární kůry kořene, kde se hyfy penetrující dovnitř buňky větví a vytváří hustou propletenou strukturu, přičemž houba posléze prorůstá do buňky sousední. Vnitrokořenovou strukturou typickou pro orchideoidní mykorrhizu jsou tzv. **klubíčka hyf** (smotky, pelotony). Hlubší vrstvy primární kůry, buňky endodermis a pletiva středního válce nebývají houbou infikovány. Orchideje vytváří velmi malá semena s omezeným množstvím zásobních látek, proto jsou v prvních ontogenetických stádiích jejich vývoje závislá i na přísunu uhlíkatých látek od houbového endofyta a v tomto období parazitují malé rostlinky na houbě. Houba získává uhlíkaté organické látky rozkladem organických látek nebo z jiných kolonizovaných rostlin v ekosystému.

Erikoidní mykorrhizní symbióza je tvořena houbami patřícími do třídy *Ascomycetes* a většinou zástupců rostlin řádu *Ericales* (vřesovcotvarých), kam patří např. rod *Calluna*, *Erica*, *Rhododendron*, *Azalea*, *Vaccinium*. Rostliny vytvářející erikoidní mykorrhizu se

vyskytují na kyselých stanovištích s velmi nízkou zásobou dostupných minerálních živin (dusík a fosfor), např. vřesoviště a rašeliniště. Vnitrokořenovou strukturou typickou pro erikoidní mykorhizu jsou hustá klubička hyf uvnitř epidermálních buněk, které nazýváme smotky (pelotony), které jsou místem výměny látek a informací mezi houbou a rostlinou. Kolonizace se nešíří, na rozdíl od jiných typů endomykorhiz, prorůstáním hyf mezi sousedními buňkami, ale každá z epidermálních buněk je samostatnou infekční jednotkou, která je iniciována penetrací hyfy mimokořenového mycelia. Mezi faktory, které negativně ovlivňují dynamiku rostlinného společenstva v těchto ekosystémech, patří nízká dostupnost živin, vysoký poměr C : N v opadu a s tím související pomalý koloběh živin v půdě nebo nízké pH způsobující vysokou hladinu volných iontů těžkých kovů. Erikoidní mykorhiza umožňuje erikoidním rostlinám vyrovnat se s těmito nepříznivými podmínkami a úspěšně obstat v konkurenci s ostatními rostlinami.



Obr. 3 Schematické znázornění různých typů mykorhizních symbióz dle relativního rozšíření (četnost výskytu) v příčném řezu: A – arbuskulární mykorhiza, E – ektomykorhiza, Ee – ektendomykorhiza, At – arbutoidní mykorhiza, M – monotropoidní mykorhiza, Er – erikoidní mykorhiza, O – orchideoidní mykorhiza (Gryndler et al., 2004)

Ektomykorhizní symbióza je druhým základním typem mykorhizy, kdy intraradikální mycelium prorůstá pouze mezibuněčné prostory kořenových buněk, kde tvoří hustou tzv.

Hartigovu síť hyf, která je místem, kde dochází k nejintenzivnější látkové výměně mezi oběma symbionty. Povrch kořene je obalen kompaktní sítí hyf, kterou nazýváme **hyfový plášť**. Toto mimokořenové mycelium je hlavní strukturou zodpovědnou za sorpci minerálních látek z půdy. V ektomykorhizní symbióze žije 5 až 10 % vyšších rostlin, zhruba 2 000 rostlinných druhů, většinou stromů a keřů. Mezi tyto druhy patří zástupci čeledí *Pinaceae* (borovicovité), zejména rody *Pinus* (borovice) a *Picea* (smrk) a *Fagaceae* (bukovité) s rody *Fagus* (buk) a *Quercus* (dub), proto je tento typ důležitý zejména v mírném podnebním pásmu. Ektomykorhizní symbiózy jsou tvořeny houbami třídy *Basidiomycetes*, *Ascomycetes* a *Zygomycetes*. Často jeden strom tvoří mykorhizu s několika druhy hub současně, stejně jako jediný druh houby může být mykorhizní s několika druhy dřevin. Houby vytváří typické nadzemní (epigeické) plodnice nebo podzemní (hypogeické) plodnice. Pro ektomykorhizní symbiózu je typické, že dochází k inhibici tvorby kořenového vlášení. Objevují se výrazné změny ve stavbě terminálních laterálních kořenů, které se vlivem hub zkracují, tloustnou a často i vidličnatě větví a porůstají kompaktní sítí hyf (hyfový plášť), takže mykorhizní kolonizace kořenů je dobře patrná již pod lupou.

Mezi dvěma základními typy mykorhiz (ektomykorhiza a endomykorhiza) existují i tzv. **přechodné typy mykorhiz**.

Ektendomykorhizní symbióza je odvozený typ, který spolu vytváří dřeviny a taxony hub, které běžně tvoří i ektomykorhizní symbiózy. Všechny aspekty vývoje a tvorby typických struktur jsou obdobné jako u ektomykorhiz. Vytváří se jak hyfový plášť, tak Hartigova síť a současně dochází k prorůstání hyf dovnitř buněk kořenové kůry hostitele, kde se intenzivně větví. Typicky vyvinutá je u semenáčků jehličnatých dřevin (*Pinus*, *Larix*) a mykobionti jsou zřejmě houby pododdělení *Ascomycotina* a *Basidiomycotina*.

Arbutoidní mykorhiza je doložena u některých rostlin řádu *Ericales* a lze ji charakterizovat jako ektendomykorhizní symbiózu erikoidních rostlin. Nacházíme ji u rodů *Arbutus* (planika), *Arctostaphylos* (medvědice) a *Pyrola* (hruštička). Spektrum hub, které tvoří arbutoidní mykorhizu není přesně známo, zřejmě se však bude překrývat s ektomykorhizními houbami. Pro arbutoidní mykorhizu jsou typické výrazné změny v morfologii jemných terminálních kořenů, které mohou být ztloustlé a vidličnatě větvené. Tvoří se dobře vyvinutý hyfový plášť a hyfy hub pronikají do buněk rhizodermis, které mohou i zcela zaplnit.

Monotropoidní mykorhizní symbióza je vztah mezi nezelenými rostlinami z řádu *Ericales*, čeledi *Monotropaceae* (hnilákovité), rodu *Monotropa* (hnilák) a houbami, které kromě tohoto typu mykorhizy vytvářejí s jinými druhy rostlin typickou ektomykorhizu. Monotropoidní mykorhizní symbióza je příkladem **parazitismu**, kdy nezelené hostitelské

rostliny nepřímo, zprostředkovaně přes mykorhizní houbu, parazitují na fotosyntetizujících rostlinách (ektomykorhizních stromech). Základní vnitrokořenové struktury jsou obdobné jako u ektomykorhizní symbiózy – houby tvoří hyfový plášť a Hartigovu síť. Do vnitřního prostoru buněk zasahují krátkými výrůstky hyf – kolíčkovitými haustorií.

Zvláštním typem vztahu je forma soužití specifického typu vláknitých hub označovaných jako DSE (z angl. *Dark Septate Endophytes*, kde typickým zástupcem jsou *Phialocephala fortinii* a *Phialocephala dimorphospora*) a širokého spektra vyšších rostlin (zatím známo 600 druhů) zejména u konifer a erikoidních rostlin a který je nazývána **pseudomykorhiza** (nebo také **DSE asociace**). Výskyt těchto pseudomykorhizních hub je limitován extrémními podmínkami prostředí. Jedná se o nejméně prozkoumaný typ symbiózy kořenů vyšších rostlin a houby. Dlouhou dobu byla prezentována pouze jako příklad mírného parazitismu houby na rostlině (pseudomykorhiza). Současné výzkumy však potvrzují i oboustrannou prospěšnost asociace. Mykorhizní charakter se v určitém prostředí při specifických podmínkách může opět změnit na neutrální až mírně parazitický. DSE houby mají tlusté, melanizované hyfy s přepážkami, které často tvoří hustou síť okolo hostitelského kořene, často vytváří apresoria, pronikají do pletiv kořene, kde uvnitř jednotlivých (nejčastěji rhizodermálních) buněk tvoří typické struktury, tzv. mikrosklerocia. Zatímco funkce mykorhiz je relativně dobře známa, o funkci DSE hub toho mnoho nevíme, ale rozsah hostitelských rostlin a jejich abundance v půdě poukazuje na jejich potenciální důležitost.

Mykorhiza není většinou druhově specifická, především vesikulo-arbuskulární mykorhiza, je vztah, kde jeden strom může kooperovat až s 2 000 různých druhů mykorhizních hub. A naopak, prostřednictvím mycelia jedné houby může být propojeno více druhů vyšších rostlin. Celá řada rostlinných druhů je tak schopna účastnit se různých typů mykorhizních symbióz. Příkladem je dub *Quercus agrifolia*, u kterého byla popsána jak ektomykorhizní symbióza, tak arbuskulární mykorhizní symbióza a někdy dokonce pozorujeme, že různé části kořenového systému téže rostliny jsou kolonizovány houbami tvořícími různé typy mykorhiz. U topolu *Populus tremuloides* byla ve větších hloubkách půdy zjištěn jiný typ mykorhizy, než u povrchu půdy.

1.3 Vztahy mezi mikroorganismy a živočichy

I mezi mikroorganismy a živočichy najdeme celou řadu interakcí. Po celý život je existence živočichů spjata s existencí a životními projevy metabolismu mikroorganismů,

sounaživajícími s živočichy od jejich narození až po jejich konec, kdy po smrti se mikroorganismy podílí na jejich rozkladu.

Na nebo v lidském těle rostou stovky mikrobiálních druhů a nespočetně množství individuálních buněk. Uvádí se, počet buněk příslušejících nativní mikroflóře člověka a tvořící tzv. mikrobiom, je v lidském těle **10 krát více než buněk lidských**. V tomto kvantitativním ohledu je tedy lidský jedinec jen z „jedné desetiny člověk“, ač hmotnost mikrobiomu je jen zhruba 1,5 kg.

Mikroorganismy najdeme v různých dutinách živočišných těl, na povrchu těla, ale nejvíce jich najdeme v **trávicím traktu** živočichů včetně člověka, jde o **mikroflóru gastrointestinálního traktu**. Mikroflóra trávicího traktu zvířat i člověka má význam tím, že se stává součástí obranných mechanismů hostitele, posilují jeho imunitní systém. Svou aktivitou a produkcí různých metabolitů mohou bránit výraznějšímu rozvoji patogenních mikroorganismů. Jestliže dojde k narušení přirozeného osídlení nativní mikroflóry (tzv. dysmikrobie) trávicího traktu, například po podávání antibiotik, může to vést k osidlování a pomnožování patogenních mikroorganismů. Od makroorganismu přijímá nativní mikroflóra část živin, ale na druhé straně živočichům, kteří jsou enzymaticky hůře vybavení než mikroflóra, pomáhají potravu i trávit a k tomu syntetizují také důležité vitamíny (B₆, B₁₂, K aj.).

V dutině ústní člověka, tedy na začátku trávicího traktu se nachází velmi bohatá mikroflóra, jejíž složení i množství může být individuální, u malých dětí bývá velmi chudá. Může se měnit s věkem, stravou, hygienou chrupu i v průběhu dne. Převládají zde mikroorganismy se sacharolytickou schopností. Běžně se vyskytují *Streptococcus salivarius* a především na povrchu zubní skloviny *Streptococcus mutant*, dále příslušníci rodů *Lactobacillus*, *Leptotrichia*, *Corynebacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Spirillum*, *Actinomyces*, aj. Může docházet k narušování zubní skloviny působením kyselin produkovanými mikroby a nakonec k tvorbě kazu. V žaludku najdeme výrazně kyselé prostředí (pH 4 a nižší) dané přítomností HCl. Množství bakterií v 1 ml žaludečních šťáv se pohybuje kolem 10⁴ jedinců (G⁺ bakterie, proteobakterie a další). Může se vyskytovat i *Helicobacter pylori* způsobující žaludeční vředy. Acidorezistentní mikroorganismy mohou procházet žaludkem do dalších částí zažívacího traktu. Jestliže dojde ke zvýšení pH žaludeční šťávy narůstá počet bakterií v žaludku. Ve dvanácterníku a začátku tenkého střeva najdeme jen malé množství mikroorganismů. Je to způsobeno peristaltikou a přítomností žluče. Směrem k tlustému střevu mikroflóry přibývá a na konci tenkého střeva dosahuje 10⁸ jedinců. Jde především o enterobakterie, enterokoky a laktobacily. V tlustém střevě, které je naopak na

mikroflóru velmi bohaté, můžeme najít až 10^{11} bakterií na gram stolice. Více než 90 % tvoří striktně anaerobní nesporulující mikroorganismy (např. bifidobakterie, klostridia atd.). Z fakultativně anaerobních bakterií jsou to enterokoky (*Enterococcus faecalis* a *E. faecium*) a různé stafylokoky. Nejrozšířenějším druhem je *E. coli*, která tvoří asi 1 % ze všech organismů v tlustém střevě.

V horních cestách dýchacích se nachází různé laktobacily, korynebakterie, stafylokoky, enterobakterie i některé viry, např. adenoviry. U určité části populace (20 až 40 % osob) najdeme trvale přítomné patogeny *Streptococcus pneumoniae* nebo *Neisseria meningitis* atd.

Zaživací trakt vyšších organismů představuje kvalitní životní prostředí a proto je obýván bohatou mikroflórou. Symbióza mezi přežvýkavci (skot, jeleni, velbloudi apod.) a jejich žaludeční mikroflórou je ale poměrně unikátní a umožňuje trávení stravy obsahující velký podíl celulózy. Přežvýkavci sami nejsou schopni celulózu trávit, protože jim chybí celulólytické enzymy. Těmi ale disponují symbiózní mikroorganismy, vyskytující se především v bachoru přežvýkavců. Ty celulózu (polysacharid) postupně rozkládají až na glukózu (monosacharid), kterou dále fermentují až na organické kyseliny, stravitelné živočichy. Zvíře kromě toho tráví i symbiotické mikroorganismy, které představují cenný zdroj dalších látek, hlavně bílkovin, cukrů a vitamínů. Za rozklad celulózy není odpovědný jeden druh mikroorganismů, ale celé společenstvo. Počet bakterií v 1 ml bachorové tekutiny obsahuje 10^{10} až 10^{11} , tj. až stovky miliard jedinců. Společenstvo je druhově bohaté, najdeme zde bakterie, metanogenní archea, mikroskopické houby a četné prvoky. V žaludcích skotu je anaerobní prostředí a mikrobiální metabolismus je proto anaerobní, převážně fermentační. Uvádí se, že v bachoru se nachází jeden z nejkompexnějších mikrobiálních ekosystémů, který svou druhovou bohatostí a komplexností připomíná ekosystém tropického pralesa a v němž se pozitivně uplatňují vztahy jak uvnitř společenstva mikroorganismů, tak mezi mikroorganismy a hostitelem.

Ve velkých hloubkách moří, kde panuje absolutní tma, se vyskytuje zajímavá symbióza luminiscenčních bakterií s různými mořskými živočichy. Schopnost aktivního svícení (luminiscence) může přinést organismu četné výhody proti konkurenci (při útoku, obranně, komunikaci, lákání potravy apod.). Mnohé hlubokomořské organismy sice nemají vlastní schopnost svítit, nicméně si vytvořily zajímavou symbiózu s luminiscenčními bakteriemi (např. *Vibrio fischeri*), které tuto schopnost mají. Různí podmořští živočichové mají proto dokonce speciální orgány, ve kterých tyto bakterie bohatě vyživují (kultivují) a dosahují tak vysoké bakteriální koncentrace nutné k tomu aby bakterie zářily a dosahovaly docela vysoké intenzity světla. Vztah je oboustranně prospěšný. Bakterie získávají snadný přísun živin,

hostitelský organismus získává světlo. U těchto luminiscenčních bakterií se projevuje zajímavá regulace začátku svícení, které je spouštěno jen, pokud je bakterií vysoká koncentrace (**quorum sensing**), a ke které přirozeně dochází právě jen ve světelných orgánech hostitelských organismů.

Mezi mikroorganismy najdeme i celou řadu parazitických patogenních druhů, které se vyskytují mezi viry, bakteriemi, mikromycetami i mezi prvoky. Hlavní zástupci patogenů živočichů včetně člověka jsou uvedeny v kapitolách věnovaných jednotlivým skupinám mikroorganismů.

1.3.1 Manipulační aktivita

Při vztazích mezi patogenními mikroorganismy a jejich hostiteli především z řad živočichů může docházet k velice zajímavým interakcím, popisovaných jako tzv. **manipulační aktivita**, spadající mezi tzv. **etologické (behaviorální) adaptace**. Etologické adaptace parazitů zahrnují specifické typy chování umožňující nalezení svého hostitele a dosažení vhodného místa v jeho organismu. Při manipulační aktivitě parazita dochází k manipulaci chování hostitele vedoucí k dalšímu šíření parazita a zvýšení efektivity přenosu parazita. Případná manipulace bude zaměřena na takový typ chování, který bude zvyšovat pravděpodobnost transmise (přenosu a rozšíření parazita). Např. komáři rodu *Anopheles*, infikovaní prvoky *Plasmodium spp.* způsobující malárii, sají signifikantně častěji oproti neinfikovaným komárům, čímž zvyšují pravděpodobnost přenosu parazita na teplokrevné živočichy včetně člověka.

Podle způsobu přenosu můžeme tedy očekávat změny v určitém typu chování. Tato působení může vést často k poruchám psychiky nebo změny chování hostitele z řad živočichů včetně člověka. Tato manipulační aktivita se předpokládá u některých pohlavně přenosných parazitů (např. bakterie *Neisseria gonorrhoeae*, původce kapavky), kteří svým působením zvyšují sexuální apetenci svého hostitele, vedoucí k většímu šíření patogena na další hostitele. Manipulační aktivitu vyvíjí pravděpodobně i jeden z nejrozšířenějších parazitů – **prvok *Toxoplasma gondii***. Přenos parazita do konečného hostitele – kočky probíhá obvykle formou predace. Přirozenou kořistí kočky jsou drobní hlodavci a ptáci. Zvýšení pravděpodobnosti přenosu do kočky by mohl parazit dosáhnout změnou chování zvyšující pravděpodobnost ulovení hlodavce či ptáka kočkou. U nakažených zvířat byly zjištěny například zhoršené motorické schopnosti, objevovaly se zpomalené reakce, ztrácel se strach z nových podnětů atd. Tyto změny mohou vést ke snadnějšímu ulovení predátorem a z hlediska parazita ke snadnějšímu šíření a dokončení cyklu vývoje v konečném hostiteli, kterým je v tomto případě

kočka. Změny v chování byly však sledovány i u lidí nakažených toxoplazmózou. Vliv tohoto parazita se může projevit i změnou osobnostního profilu (psychiky) infikované osoby. U infikovaných jedinců se objevují například zpomalené reakce a změny v osobnostních kategoriích, jako je agresivita, pasivita, míra superega atd., které mohou mít dopad na život jedince. Bylo například zjištěno, že mezi nakaženými osobami byl 2,5krát vyšší podíl účastníků dopravních nehod (těch, kteří nehodu způsobili), než mezi osobami nenakaženými. U současného člověka asi změny osobnosti pravděpodobnost přenosu na konečného hostitele nezvyšují (lze si jen těžko představit, že člověk je predován kočkami). Je však známo, že predátorem evolučních předků člověka byly velké kočkovité šelmy.

Behaviorální změny byly studovány také u některých virových infekcí. Onemocnění infekční mononukleosou má vliv jak na náladu, tak i na výkonnost. Infikované osoby vykazovaly vyšší míru úzkosti a deprese. Osoby v akutní fázi infekce měly pomalejší reakční rychlost a hůře udržovaly pozornost ve srovnání s kontrolami. U osob v chronické fázi infekce bylo zjištěno zhoršení krátkodobé paměti a logického zdůvodňování. Podobný selektivní efekt na výkon jako u infekční mononukleosy byl zjištěn také u experimentální nákazy viry způsobujícími onemocnění horních cest dýchacích (rýmy) a chřipky. Onemocnění horních cest dýchacích mělo vliv na reakční čas nemocných. Nemocní lidé s příznaky psychopatie vykazovali vyšší titry protilátek proti viru oparu.

Změny v chování u jedinců napadených parazity byly zaznamenány i u různých druhů hmyzu (např. mravenců napadených plísněmi) či ryb. Změny v životní strategii ovlivněné parazitem však mohou vykazovat i rostliny. U některých rostlin vlivem působení určitých bakterií (fytoplazmy) dochází ke změnám reprodukčních orgánů na vegetativní (zezelenání květů a ztráta schopnosti tvořit semena). Takto rostlina přichází o budoucnost, tedy o možnost tvorby dalšího potomstva a z rostliny se tak stává vývojově „živá mrtvola – zombie“, produkující asimiláty pro parazita, eventuálně pro herbivorní hmyz, který slouží jako vektor přenosu parazita na jiné rostliny.

2 RŮST MIKROORGANISMŮ

Růst živého organismu můžeme charakterizovat přírůstkem části těla, její biomasy a nakonec jejím rozmnožením. Za optimálních podmínek se mohou mikroorganismy rozmnožovat obrovskou rychlostí. Čas mezi za sebou jdoucími děleními buňky, tedy doba od vzniku buňky po její rozdělení na dvě buňky dceřiné nazýváme **generační dobou**. U populace je to tedy doba, za kterou se zdvojnásobí počet jedinců v populaci. U bakterií je tato doba

velice krátká, za optimálních podmínek asi 20 minut. Při této rychlosti by z jedné buňky do 48 hodin vzniklo přibližně $2,5 \cdot 10^{43}$ buněk o celkové hmotnosti rovnající se asi 4 000 násobku hmotnosti Země. O něco málo pomaleji se mohou rozmnožovat kvasinky. Takovéto množství buněk však nemůže vzniknout z důvodu brzkého vyčerpání živin v prostředí rozmnožujících se buněk a navíc jsou omezovány produkty vlastního metabolismu, které na ně většinou působí inhibičně.

V takzvaném uzavřeném systému (statická kultivace) probíhá růst populace v charakteristických fázích vzestupu a nakonec z výše uvedených důvodů (úbytek živin a vzestup koncentrace metabolitů) dojde i k sestupu. Počáteční pomalý růst je vystřídán velkou rychlostí růstu, až po určitém zlomu nastává úbytek počtu mikroorganismů. Tento proces se dá charakterizovat tzv. **růstovou křivkou**. Jednotlivé její úseky charakterizované rychlejší nebo menší rychlostí růstu populace se nazývají **fáze růstu**, kterých najdeme na této křivce několik (obr. 4).

Lag-fáze (přípravná, adaptační) je počáteční fáze, kdy buněk zatím nepřibývá. Buňky se nerozmnožují, ale zvětšují svůj objem a aktivuje se jejich enzymový systém pro využití substrátu. Délka lag-fáze závisí na druhu mikroorganismu, fyziologickém stavu buněk, velikosti inokula a na složení růstového prostředí. U *Escherichia coli* trvá tato fáze zhruba 30 až 180 min.

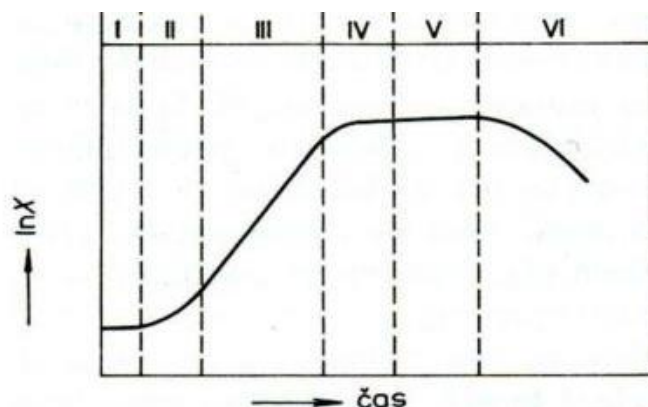
Fáze zrychleného růstu (akcelerační) je přechodná fáze, kde se buňky přizpůsobené novému prostředí začínají množit zvyšující se rychlostí a se zkracující se generační dobou. Buněčná populace v této fázi přechází do fáze exponenciální.

Exponenciální fáze (logaritmická) 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. Metabolismus mikroorganismů je velmi aktivní, proces ještě není limitován nedostatkem živin. Úbytek odumíráním je v poměru k přírůstků minimální. Tato fáze se také označuje jako logaritmická, vzhledem k lineární závislosti mezi logaritmem počtu buněk a dobou růstu.

Fáze zpomaleného růstu (deklinační) nastává po exponenciální fázi růstu. Rychlost rozmnožování postupně klesá až k rovnovážnému stavu s odumíráním buněk.

Stacionární fáze nastává při vyčerpání některé živiny nebo při vzrůstu koncentrace toxického metabolitu nad určitou hranici, kdy dojde k zastavení růstu buněčné populace. V této fázi buňky nepřibývají, ale ani neubývají. V této fázi se tvoří endospory sporulujících bakterií. Počet odumírajících buněk je kompenzován jejich pomalým rozmnožováním.

Fáze postupného odumírání. Buňky se téměř vůbec nerozmnožují, hynou a jejich koncentrace v čase klesá. Koncentrace živin je v podlimitním množství a dochází k odbourávání zásobních látek buňky. U různých mikroorganismů může trvat dny, týdny nebo měsíce.



Obr. 4 *Jednotlivé fáze růstové křivky populace mikroorganismů; I – lag fáze, II – fáze zrychleného růstu, III – exponenciální fáze, IV – fáze zpomaleného růstu, V – stacionární fáze, VI – fáze postupného odumírání*
(http://homen.vsb.cz/hgf/546/Materialy/Radka_2010/images/zpuv/graf.jpg)

Kontinuální kultivace v otevřeném systému znamená, že mikroorganismy rostou v konstantním objemu živné půdy, do, které se kontinuálně přidává živná půda čerstvá za soustavného odebírání části kultury. Tím je zajištěn dostatek živin a zředění nepříznivě působících metabolitů. Prostředí je ve stavu dynamické rovnováhy. Při těchto kontinuálně udržovaných stabilních podmínkách se udržuje i konstantní rychlost růstu populace. Tento systém je možné považovat za otevřený, neboť ve stavu dynamické rovnováhy lze mikroorganismy udržovat neomezeně dlouho. Z praxe jsou známé dvě základní metody kontinuální kultivace se dvěma typy zařízení a to chemostat a turbidistat.

V turbidistatu roste kultura maximální rychlostí, všechny živiny jsou v nadbytku. Zařízení je vybaveno kontinuálním stanovením počtu mikroorganismů (turbidimetrickou metodou). Rovnovážný stav je dosažen zvýšením rychlosti přítoku, kdy se množství mikroorganismů v kultivační nádobce zvyšuje, či snížením rychlosti přítoku, kdy se množství mikroorganismů snižuje.

V případě **chemostatu** je živná půda přidávána konstantní rychlostí do kultivační nádoby, ve které je udržován její stálý objem. Rychlost růstu je limitována nízkou koncentrací jedné z přidávaných základních živin, zatímco ostatní živiny jsou v nadbytku.

2.1 Významné faktory prostředí působící na růst mikroorganismů

Růst a vývoj populace mikroorganismů je v ekosystému ovlivňován nejen vlastním **genomem** a **biotickou složkou** společenstva všech druhů organismů, které jsou součástí, ale také **složkou abiotickou**. Aby se mohl organismus rozmnožovat, musí být v prostředí dostatek živin a energetických zdrojů, ale musí k tomu mít i odpovídající vnější podmínky charakterizované **fyzikálními** a **chemickými faktory**. Prostředí ovlivňuje životní projevy mikroorganismů, mikroorganismy svým působením zase modifikují prostředí (např. změnou pH). Mikroorganismy jsou schopny se přizpůsobit vnějším podmínkám poměrně rychle. Má-li mikrobiální buňka změnu přežít, musí se přizpůsobit buď **fyziologickou změnou** nebo **změnou genetickou**, která se přenáší i na potomstvo. Mikroorganismy jsou schopny se přizpůsobit vnějším podmínkám nejen změnou enzymového vybavení, ale mohou do určité míry změnit i složení a tvar buněk. Tato schopnost mikroorganismů se označuje jako **adaptace** k vnějšmu prostředí. Všechny tyto schopnosti mikroorganismů jsou ovšem omezeny určitým limitem, za nímž dochází k zastavení růstu nebo usmrcení buňky.

Změnami některých faktorů vnějšího prostředí můžeme ovlivňovat růst a aktivitu mikroorganismů. Úpravou prostředí žádoucím směrem k optimalizaci jednotlivých faktorů můžeme napomoci k větší metabolické aktivitě mikroorganismů např. při různých výroбах nebo při odbourávání toxických látek z prostředí pomocí mikroorganismů. Negativními změnami parametrů faktorů prostředí můžeme použít v případech nežádoucího nebo škodlivého výskytu mikroorganismů (např. patogeny, cizorodé mikroorganismy v potravinách, v různých výroбах) a vést proti nim „boj“. Usmrcení nebo odstranění všech mikroorganismů, včetně ostatních forem živé hmoty, se nazývá **sterilizace** (sterilace). Výraz **dezinfekce** se většinou používá pro usmrcení patogenních mikroorganismů, nejčastěji pomocí chemických prostředků. **Konzervace** je úmyslný zásah, který prodlouží použitelnost (v případě potravin požitelnost) ošetřené látky.

Faktory vnějšího prostředí se v účinku na mikroorganismy projevují charakteristickým způsobem, kdy můžeme určit u jednotlivých faktorů jejich minimum, optimum a maximum. Z odpovědi mikroorganismu lze **minimální** účinek faktoru charakterizovat jako proces, při němž tato hodnota faktoru má téměř zanedbatelný vliv na zvýšení aktivitu buněk, buňky se v určité míře ještě rozmnožují. Při **optimu** působení mikroorganismus vykazuje maximální odpověď, odpovídá maximální rychlosti růstu, případně největší metabolické aktivitě. Bod **maxima** je dán takovou koncentrací faktorů, která má za následek zastavení životních projevů

buňky a následně i jejich odumírání. Potom hovoříme o mikrobistatickém nebo mikrobicidním působení.

Mikrobistatický účinek je jev reverzibilní, tzn., že po odstranění faktoru, který změnu vyvolal, pokračují buňky v „normálních“ životních pochodech. Mikrobistatický účinek spočívá v tom, že se buňky mikroorganismů přestanou dělit, takže se jejich počet po dobu působení faktoru nezvyšuje. Naproti tomu **mikrobicidní účinek** je jev ireverzibilní. V přítomnosti faktoru s tímto působením dochází současně k zastavení růstu a zároveň ke ztrátě životaschopnosti buněk a k jejich odumírání. To neprobíhá v celé populaci najednou. Rychlost odumírání je dána citlivostí k danému faktoru a heterogenitou populace a obvykle se vyjadřuje logaritmickou křivkou odumírání.

Podle mechanismu účinku můžeme rozdělit antimikrobiální látky do několika skupin:

- (i) látky poškozující strukturu buňky (buněčnou stěnu, cytoplazmatickou membránu, ribozomy atd.),
- (ii) látky působící na mikrobiální enzymy,
- (iii) látky reagující s DNA.

Antimikrobiální účinek vnějších faktorů mohou ovlivňovat různé podmínky. Jsou to zejména:

- (i) **povaha a intenzita působení faktoru** – většina fyzikálních a chemických faktorů postihuje téměř všechny bakterie; naproti tomu antibiotika a chemoterapeutika se vyznačují selektivitou, tzn. druhově specifickým účinkem vůči bakteriím; u chemických látek je intenzita působení závislá na koncentraci (mikrobicidní nebo mikrobistatický účinek),
- (ii) **povaha a fyziologický stav organismu** – citlivost mikroorganismů k účinkům vnějšího prostředí je dána druhově i fyziologickým stavem buňky. Mladé buňky jsou výrazně citlivější než buňky staré (závislost na fázi růstu); buňky ve vegetativní formě jsou rovněž citlivější než buňky v klidové formě (spory),
- (iii) **doba působení** – s narůstající délkou působení faktoru narůstá škodlivost účinku příslušného faktoru na buňky,
- (iv) **povaha prostředí** – účinek daného faktoru může být zeslaben nebo zesílen chemickými a fyzikálními vlastnostmi prostředí; zesílení účinku je možné dosáhnout např. změnou pH nebo zvýšením teploty, k oslabení účinku napomáhá např. silně viskózní prostředí.

Pro mikroorganismy je charakteristické, že dovedou žít v prostředí i s takovými extrémními podmínkami, v jakých jiné organismy prakticky nemohou žít. V těchto

podmínkách pak nacházíme především prokaryotické organismy. Příkladem mohou být slaná jezera, kde se vyskytují halofilní bakterie a archea, horké minerální prameny (termofilní a hypertermofilní bakterie a archea), kyselé důlní vody (acidofilní mikroorganismy) nebo dna hlubokomořských příkopů s obrovským tlakem v prostředí (např. archea).

2.1.1 Fyzikální faktory působící na mikroorganismy

Hlavními fyzikálními faktory s výrazným účinkem na mikrobiální buňku patří zejména teplota, vodní aktivita (sucho), tlak, ultrazvuk a záření. Pro fyzikální faktory je charakteristické, že mikroorganismy mohou žít pouze v určitém rozmezí hodnot daného parametru.

2.1.1.1 Teplota

Teplota prostředí je jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňujících rychlost rozmnožování a existenci buňky. Teplota působí na mikroorganismy tak, že může stimulovat nebo inhibovat růst, měnit metabolismus a morfologii buněk (obr. 5).

U každého mikroorganismu rozlišujeme tři základní teploty: **minimální teplotu**, tj. nejnižší teplotu, při níž se daný druh rozmnožuje ještě zjistitelnou rychlostí, **optimální teplotu**, při níž se rozmnožuje největší rychlostí a **maximální teplotu**, nejvyšší teplotu, při které je ještě schopen se rozmnožovat.

Minimální růstová teplota není pro určitý mikroorganismus stálá, mění se podle charakteru prostředí. Optimální teplota je obvykle asi o 20 až 30 °C vyšší než teplota minimální, maximální teplota převyšuje teplotu optimální pouze o 5 až 10 °C. Zvýšení teploty nad maximální může vést až ke smrti organismu.

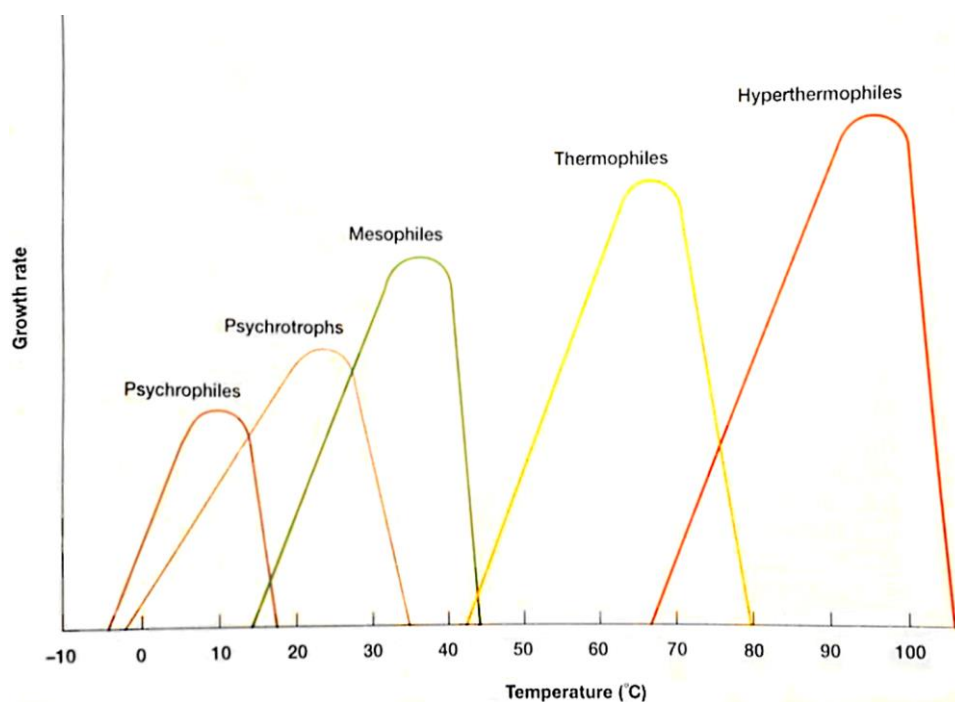
Podle vztahu k teplotě rozdělujeme mikroorganismy do tří základních skupin.

Psychrofilní mikroorganismy mají optimální teplotu růstu pod 20 °C. Poměrně intenzivně rostou i při teplotách 0 až 5 °C. Generační doba za těchto podmínek se pohybuje kolem 48 hodin. Některé organismy, zvláště plísňe, rostou ještě při teplotě -10 °C. Poměrně snadno se přizpůsobují i růstu při vyšších teplotách. **Psychrotrofní** mikroorganismy jsou takové, které se dobře rozmnožují i při teplotách nižších než 10 °C bez ohledu na jejich optimální teplotu. Vyskytují se ve vodách, v půdě a mohou způsobovat kažení potravin uskladněných při nízkých teplotách.

Mezofilní mikroorganismy rostou nejlépe při teplotách 20 až 40 °C. Do této skupiny náleží většina saprofytických i parazitických mikroorganismů. U bakterií se optimální teplota pohybuje nejčastěji kolem 37 °C, u kvasinek a plísni kolem 30 °C. Do této skupiny s optimem

kolem 37 °C patří většina patogenů lidských, neboť toto je normální lidská teplota. Vyšší teploty (horečka) výrazně potlačují jejich rozmnožování.

Termofilní mikroorganismy jsou charakteristické optimální teplotou růstu nad 45 °C, avšak většina z nich vyžaduje teplotu 50 až 60 °C. Ve výjimečných případech je zaznamenán růst ještě při teplotě 80 °C (*Bacillus stearothermophilus*). Některé druhy **hypertermofilních** archebakterií mají tyto mezní teploty ještě podstatně vyšší. Mikroorganismy striktně termofilní nerostou při teplotě pod 30 °C. Vyskytují se zejména v půdě, kompostu, horkých pramenech apod. Jejich činnost je obvykle iniciována aktivitou mezofilních bakterií, které mohou zvýšit teplotu prostředí až na 40 až 45 °C.



Obr. 5 Vliv teploty na růst mikroorganismů

(http://kmvd.agrobiologie.cz/randova/AMA73_3_vlkova.pdf)

Základem letálního účinku tepla je ireverzibilní **denaturace bílkovin**, tedy inaktivace jedné nebo více bílkovin s enzymatickou aktivitou, zvláště citlivé jsou k účinkům teploty enzymy dýchacího řetězce. Krátkodobé zvýšení teploty nad maximální teplotu vyvolává teplotní šok, který pak vede k různým výkyvům metabolismu. Vlhké teplo je účinnější než teplo suché. Účinnost tepla je také zvýšena kyselým prostředím, zatímco alkalické prostředí nebo přítomnost koloidních látek mají protektivní účinek. Větší účinnost vlhkého tepla je podmíněna tím, že vodíkové můstky držící terciární strukturu proteinů se snadněji rozrušují v přítomnosti polární molekuly vody, která je nahradí. Proto sterilizační časy i teploty

uváděné pro daný tlak nasycené vodní páry platí pouze tehdy, není-li v autoklávu vzduch. Je-li vzduch v autoklávu přítomen, potom danému přetlaku odpovídá nižší teplota vodní páry a doba sterilizace musí být delší. Pro většinu forem mezofilních mikroorganismů je letální již teplota 60 až 65 °C po době expozice 10 až 15 minut. Naproti tomu klidové formy jsou inaktivovány za stejnou dobu až při teplotách nad 120 °C. V praxi se letálních účinků tepla využívá ke sterilizaci různých nástrojů, živných půd a ke konzervaci potravin.

Teploty nižší než minimální teplota růstu přežívá většina mikroorganismů poměrně dlouhou dobu. Jestliže se však intenzívně rozmnožující buňky (v exponenciální fázi růstu) některých druhů bakterií přenesou z optimální teploty na teploty blízké 0 °C, dochází k tzv. **chladovému šoku**, který se projevuje ztrátou životnosti velkého podílu populace. Účinek nízkých teplot se může projevit přerušáním transportu látek přes cytoplazmatickou membránu. Při pomalém zmrazování mikrobiálních buněk na teploty pod 0 °C se z vnitrobuněčné i mimobuněčné vody tvoří velké krystaly ledu, které poškozují buňku a usmrcují ji. Rychlým zmrazením na teploty -30 až -190 °C se usmrtí jen malý podíl populace, neboť se tvoří pouze mikrokristaly ledu, které nemají tak škodlivé účinky. Rychlé zmrazení buněk mikroorganismů v roztoku peptonu nebo bílkovin s následující sublimací vody patří ke konzervačním postupům. Takto připravené lyofilizované kultury mají životnost několik let (u některých bakteriálních a virových kmenů jsou schopny přežít až desítky let). Také ve zmrazených potravinách, které se skladují při teplotách -15 až -18 °C, přežívá většina bakterií i některých virů po dobu delší než rok. Zmrazením potravin dochází pouze k zastavení činnosti mikroorganismů a nikoliv k jejich usmrcení.

2.1.1.2 Vodní aktivita a sucho

Voda je nezbytnou složkou buněčné hmoty, veškeré chemické reakce v živé buňce probíhají pouze ve vodném prostředí. Protože nedisociované molekuly vody mohou volně difundovat cytoplazmatickou membránou mikroorganismů, musí být dostatečné množství vody obsaženo také ve vnějším prostředí, aby buňka neztratila vnitrobuněčnou vodu a možnost metabolismu.

Vodní aktivita (a_{H_2O} čili a_w) určitého roztoku se rovná poměru tlaku vodních par nad tímto roztokem k tlaku vodních par nad destilovanou vodou za stejných podmínek. Je tedy zřejmé, že voda má $a_w = 1$ a že se stoupající koncentrací rozpuštěných látek vodní aktivita klesá. Většina bakterií je schopna se rozmnožovat v živných prostředích o a_w v rozmezí 0,99 až 0,93. Některé bakterie se však rozmnožují pouze za nízkých vodních aktivit (0,65 až 0,63), které panují např. při vysokých koncentracích (20 až 30 %) chloridu sodného. Proto se tyto

bakterie nazývají **halofilní**. Rozmnožování většiny bakterií se však zastavuje, je-li v prostředí obsaženo 6 až 10 % chloridu sodného. Výjimkou jsou **halotolerantní** koky (např. *Staphylococcus*, *Micrococcus*), které jsou schopny rozmnožování při 10% koncentraci NaCl. Minimální a_w kvasinek se pohybuje v rozmezí 0,91 až 0,88. **Osmotolerantní** kvasinky jsou schopny se rozmnožovat i při $a_w = 0,73$, např. v medu. Plísňe se většinou rozmnožují za nižší vodní aktivity než většina bakterií a kvasinek. Výjimkou jsou pouze tzv. vodní plísňe.

Snížení vodní aktivity v prostředí a tím i zabránění činnosti mikroorganismů lze dosáhnout dvěma základními způsoby: odstraněním vody sušením nebo odpařením se zvýšením koncentrace rozpuštěných látek v prostředí přidávkem vhodných chemikálií. Oba způsoby se používají při konzervaci některých potravin. Z chemikálií se pro snížení vodní aktivity v potravinách nejčastěji používá sacharóza nebo chlorid sodný. Zvýšení koncentrace rozpuštěných látek v roztoku vede ke zvýšení jeho osmotického tlaku. Za normálních podmínek se vnitrobuněčný osmotický tlak většiny bakterií pohybuje v rozmezí od 0,35 do 0,6 MPa. Osmofilní mikroorganismy však mají vnitrobuněčný osmotický tlak až 30 MPa. Rozdílné tlaky mezi buňkou a prostředím se vyrovnávají difuzí vody přes cytoplazmatickou membránu. Jestliže je tlak vnějšího prostředí větší, hypertonické prostředí znemožňuje buňkám přijímat vodu z prostředí a v ní rozpuštěné živiny, protože se kolem nich vytváří tzv. fyziologické sucho. Pokud aktivita vnitrobuněčné vody klesá pod minimální hodnotu nutnou pro metabolickou aktivitu, zastaví se životní procesy buňky. Opětná rehydratace buněk při jejich přenosu do izotonického prostředí většinou vede k obnovení životaschopnosti buňky. Pokud se buňky nacházejí v hypotonickém prostředí, molekuly vody difundují dovnitř buňky, což vede ke zvýšenému turgoru. Protože bakteriální buňky mají rigidní buněčnou stěnu, nedochází u nich většinou k prasknutí buňky. Odstraní-li se tato stěna činností specifických enzymů, vzniklý protoplast přijímá v prostředí o nižším osmotickém tlaku rychle vodu, bobtná a lyzuje.

Vlhkost prostředí, ve kterém mikroorganismus žije, výrazně ovlivňuje jeho možnosti přežít a množit se. Z hlediska vztahu organismů k okolní vlhkosti prostředí je můžeme rozdělit na:

- (i) **xerofilní** (suchomilné),
- (ii) **mezofilní**,
- (iii) **hydrofilní** (vlhkomilné).

Hydrofilní jsou především bakterie, řasy a prvoci (minimum: 30% vlhkost). Méně náročné jsou houby (minimum: 15% vlhkost). Jestliže v prostředí není k dispozici dostatečné množství využitelné vody, dochází k dehydrataci buněk, což za normálních podmínek vede

k podstatnému snížení metabolické aktivity, avšak po delší době trvání tohoto stavu buňky odumírají. Velmi odolné jsou k vysoušení bakterie *Mycobacterium tuberculosis*, které si dlouho zachovávají životaschopnost vysušené. Vysokou odolností vůči suchu se vyznačují také klidové formy bakterií nebo buňky opatřené pouzdrmem.

2.1.1.3 Záření

Elektromagnetické záření absorbované buňkou vyvolává v buňce chemické změny – je zdrojem energie pro fotosyntézu, vyvolává orientovanou odpověď (fototropický a fototaktický efekt). Může být vyžadováno pro sporulaci, ale má také mutagenní nebo letální účinek. Vlnění různých vlnových délek se značně liší svým fyziologickým účinkem na mikroorganismy. Předpokládá se, že záření nejprve zasáhne citlivé místo v buňce, energie je absorbována molekulou, která je tímto působením pozměněna. Záření poté ionizuje vodu a kyslíkové molekuly v buňce. Vzniklé volné vodíkové atomy a hydroxylové radikály následně reagují s molekulami cytoplazmy a jádra. Vlnění nejdelších vlnových délek, tj. infračervené záření a Hertzovy vlny (radiové vlny) nemají pravděpodobně letální účinek na mikroorganismy a působí pouze svými tepelnými účinky. Viditelné světlo (380 až 760 nm) má nízký mikrobicidní účinek a je využíváno především fototrofními mikroorganismy jako zdroj energie. Fototropicky se na světle chovají plísňe, lze u nich pozorovat i sporulační zóny. Pro většinu nefotosyntetizujících mikroorganismů není světlo nutné, dokonce některé z nich může poškozovat (inhibice některých fyziologických funkcí). Většina bakterií roste nejlépe ve tmě, proto se také tímto způsobem provádí kultivace v mikrobiologické laboratoři. Světlem může být indukována i tvorba některých pigmentů, především karotenoidů. Přidají-li se do prostředí barviva (pro gramnegativní bakterie safranin, pro grampozitivní např. metylenová modř, eozin), jsou fyziologické účinky světla znásobeny – fotodynamický účinek (fotosenzibilizace). Podstatou tohoto jevu je absorpce určité vlnové délky světla barvivem, které dále působí na vnitřní struktury buňky. Přímé sluneční záření působí na mikroorganismy destruktivně tehdy, pokud nemají přirozenou ochranu, např. sliz nebo pigmenty. Toxicky může působit i samotné viditelné světlo při delší expozici, zejména modré a modrofialové spektrum.

Ultrafialové (UV) záření má silné mutagenní a letální účinky na mikroorganismy. Největší mutagenní a letální účinky má UV záření o vlnové délce, jež je nejvíce absorbována nukleovými kyselinami (**265 nm**). Hlavní příčinou účinku UV záření na mikroorganismy je chemická změna struktury nukleových kyselin, tj. tvorba kovalentních vazeb mezi sousedními pyrimidiny nukleových kyselin. Účinnost UV záření se snižuje intenzivním osvětlením

viditelným světlem buď současně s UV zářením nebo krátce po něm, neboť se umožňuje tzv. fotoreaktivace (fotoreparace), tj. enzymové rozštěpení pyrimidinových dimerů, které je uskutečňováno reparačním systémem buňky. Citlivost mikroorganismů k UV záření je druhově specifická. Obvykle jsou gramnegativní bakterie citlivější k UV záření než grampozitivní bakterie. Značně odolné jsou také spory nebo mikroorganismy obsahující karotenoidní barviva. Pronikavost UV záření je malá a proto se toto záření používá pouze ke sterilizaci vzduchu, povrchovou sterilizaci předmětů, pracovních ploch, provozního zařízení apod.

Záření o vlnové délce **kratší než 10 nm** (Roentgenovo záření, γ -záření a kosmické záření) mají na mikroorganismy silné mutagenní i letální účinky. Kromě mikrobiálních buněk jsou vysoce škodlivé i pro buňky vyšších organismů. Účinek ionizačních záření je vyvolán přímým působením na citlivé molekuly buňky (např. DNA) a také prostřednictvím volných radikálů a oxiranů, které vznikají v důsledku těchto záření na buňku a její okolí a způsobují tak nespécifickou ionizaci biomolekul a neopravitelnou ztrátu jejich funkce. K ionizujícímu záření jsou velmi citlivé gramnegativní bakterie, zatímco grampozitivní bakterie, kvasinky a plísňe jsou odolnější. K dosažení letálního účinku na mikroorganismy je zapotřebí o hodně vyšší dávky, než jaká je smrtící dávka pro člověka. Spory bakterií nejsou k tomuto záření o mnoho odolnější než příslušné vegetativní formy. Účinnost těchto záření je silně ovlivněna vnějšími podmínkami, přítomnost vzdušného kyslíku zvyšuje citlivost organismů, silně redukující sloučeniny (např. kyselina askorbová) naopak působí ochranně. Také zmrazení nebo vysušené prostředí působí silně ochranně. γ -záření se v omezené míře v praxi využívá ke „sterilizaci za studena“ některých látek citlivých ke zvýšené teplotě (např. farmaceutických preparátů).

β -záření má na mikroorganismy podobné účinky jako γ -záření, avšak jeho pronikavost hmotou je mnohem menší.

2.1.1.4 Ostatní fyzikální faktory působící na mikroorganismy

2.1.1.4.1 Hydrostatický tlak

Většina známých mikroorganismů se množí za podmínek normálního atmosférického tlaku. Experimentálně bylo prokázáno, že běžným bakteriím vysoký tlak příliš nevádí. Zvýšením tlaku na 10 až 20 MPa se obvykle rozmnožování mikroorganismů zpomaluje, dochází ke změnám metabolismu a virulence a ke zpomalení nebo ztrátě pohybu, při tlaku 30 až 40 MPa se rozmnožování většiny mikroorganismů zcela zastaví, přičemž je citlivější dělení buněk než růst biomasy, takže při určitých tlacích rostou bakterie ve formě vláken.

V přírodě však existuje řada mikroorganismů, které se přizpůsobily vysokému hydrostatickému tlaku, barofilní nebo barotolerantní bakterie a archea, nalezené v oceánech v hloubce více než 7 000 m. Předpokládá se, že vysoký tlak působí nepříznivě především na syntézu buněčné stěny. Pro usmrcení mikroorganismů je zapotřebí tlaku kolem 600 až 700 MPa, přičemž doba jeho působení je uváděna v rozmezí několika minut až hodin. spory jsou odolnější k působení vysokého tlaku.

2.1.1.4.2 Ultrazvuk

Zvukové vlny o frekvenci vyšší než 20 kHz (ultrazvuk) působí na mikroorganismy inhibičně, mají-li poměrně velkou intenzitu a nízký kmitočet. Jde o tzv. kavitační ultrazvuk, který působí na živé organismy tím, že v důsledku kmitání vzniká prudká pulzace buněčných membrán a cytoplazmy doprovázené rychlým střídáním tlaku. V místech o nízkém tlaku se tvoří trhliny (kavitační bubliny), kam difundují plyny rozpuštěné v kapalině. Při náhlém stlačení těchto bublin vzniká obrovský tlak, který mechanicky porušuje buňky a usmrcuje je.

K účinkům ultrazvuku jsou nejcitlivější dlouhé tyčinkovité a vláknité mikroorganismy, zatímco koky a kvasinky jsou poměrně odolné. Mladé buňky jsou méně odolné než buňky starší. Vysoká citlivost k ultrazvuku byla zjištěna u bakteriálních spor a acidorezistentních bakterií.

Letální účinek ultrazvuku je tlumen zvýšenou viskozitou média, případně látek zvyšujících povrchové napětí. V laboratorní praxi se ultrazvuku používá k přípravě bezbuněčných preparátů za účelem získání složek buněčné hmoty (např. enzymů).

Nekavitační ultrazvuk, ultrazvuk o velmi vysoké frekvenci a nízkém rozkmitu, nemá nepříznivý vliv na biologické materiály.

2.1.2 Chemické faktory působící na mikroorganismy

Mezi nejvýznamnější chemické faktory působící na mikroorganismy patří pH a oxidoredukční potenciál, povrchově aktivní látky, dezinfekční látky a chemoterapeutika.

2.1.2.1 pH prostředí

pH je záporný dekadický logaritmus koncentrace vodíkových iontů a vyjadřuje se stupnicí od 0 do 14. Koncentrace vodíkových iontů v prostředí významně ovlivňuje růst mikroorganismů i jejich biochemickou činnost. Každý mikroorganismus je schopen se rozmnožovat pouze v určitém rozmezí pH, obecně jsou mikroorganismy schopny růstu v širokém rozmezí hodnot pH. Pro optimální růst většiny bakterií a kvasinek je toto rozmezí

poměrně úzké, zatímco u většiny plísní je podstatně širší. Extrémní pH může mikroorganismy usmrtit. Optimální hodnota pH pro růst je dána hodnotou nejvhodnější pro činnost životně důležitých enzymů. Tyto hodnoty je však nutné uvádět zároveň s teplotou, při které byly stanoveny. Významnou úlohu v regulaci pH hrají pufrы, které pomáhají udržet reakci prostředí na potřebné úrovni a zabraňují náhlým změnám pH během růstu mikroorganismů. Vnitřní prostředí buňky je velmi dobře tlumené. Takže k vyvolání změny pH buňky je nutná extrémní změna ze strany vnějšího prostředí. V biologických systémech se jako pufrы uplatňují aminokyseliny, polypeptidy a bílkoviny. Ústojnou složkou běžných kultivačních médií bývají soli slabých kyselin (fosforečnany, octany, uhličitany).

Ve vztahu k pH rozlišujeme mikroorganismy **alkalifilní** (optimum: pH 7 až 11) vyžadující zásadité prostředí (urobakterie, denitrifikační bakterie) a **acidofilní** (optimum: pH 1 až 5) rostoucí v kyselém prostředí kam patří např. *Thiobacillus* a některé plísně. Extrémní hodnoty pH snáší *Thiobacillus thiooxidans*, který oxiduje síru na kyselinu sírovou a roste i při pH kolem 1. Většina bakterií roste v neutrálním nebo slabě alkalickém prostředí. Neutrální kultivační prostředí (**neutrofilové** s optimem pH 5 až 9) vyžadují především patogenní bakterie, jejichž stanovištěm je krev nebo lymfa živočišného organismu o pH kolem 7,4. V kyselém prostředí přežívají také mikroorganismy tvořící kyseliny jako hlavní produkty metabolismu (octové, propionové a mléčné bakterie). Při příliš nízkém pH se však přestávají rozmnožovat a zastavuje se také jejich metabolická aktivita. Mezi bakterie přežívající extrémní pH patří střevní bakterie (přežívají velmi nízké pH žaludečních šťáv i alkalické pH žluči). Kvasinky vyžadují pro růst kyselé prostředí a již slabě alkalické prostředí (kolem pH 7,5) zastavuje jejich růst. Optimální pH většiny plísní je poblíž neutrálního bodu, avšak mohou se rozmnožovat ve velmi širokém rozmezí pH, často mohou být acidofilní. pH prostředí také ovlivňuje odolnost buněk ke zvýšeným teplotám. Odolnost k vysokým teplotám je tím menší, čím větší je odchylka od optimálního pH. U bakteriálních spor rodů *Bacillus* a *Clostridium* zabraňuje kyselé pH klíčení spor a jejich přeměně ve vegetativní formu.

2.1.2.2 Oxidoredukční potenciál

Růst aerobních a anaerobních mikroorganismů je závislý nejen na přítomnosti a nepřítomnosti vzdušného kyslíku, ale také na redoxních podmínkách prostředí. Každé prostředí vykazuje určitý oxidačně-redukční (oxidoredukční, redoxní) potenciál, který je dán přítomností oxidačních nebo redukčních činidel. K nejdůležitějším oxidačním činidlům patří kyslík, dusičnany, železité ionty nebo peroxidy. K nejčastěji se vyskytujícím redukujícím činidlům patří železnaté ionty, vodík nebo sloučeniny se sulfhydrylovou skupinou. Oxidačně

redukční potenciál prostředí (E_H) se vyjadřuje jako rozdíl potenciálu mezi platinovou elektrodou umístěnou do daného prostředí a normální vodíkovou elektrodou. Silně oxidační látky vytvářejí pozitivní oxidoredukční potenciál, kdežto silně redukující látky vedou k negativnímu potenciálu.

Aerobní mikroorganismy vyžadují přítomnost rozpuštěného kyslíku, tedy pozitivní oxidoredukční potenciál. V důsledku aerobního metabolismu a spotřeby kyslíku rychle klesá oxidoredukční potenciál kultivačního prostředí a proto musí provzdušňování probíhat nepřetržitě. Na anaerobní mikroorganismy působí kyslík a pozitivní oxidoredukční potenciál škodlivě, v některých případech má dokonce letální účinek. Je proto nutno vytvořit anaerobní podmínky snížením oxidoredukčního potenciálu prostředí. Jako redukční látky se používají cystein, kyselina askorbová nebo thioglykolát sodný. Předpokládá se, že enzymy anaerobů obsahují skupiny, které mohou být aktivní pouze v redukovaném stavu. Redoxní potenciál kultivačního prostředí je významně ovlivňován změnami pH a produkty metabolismu mikroorganismů, které mají povahu redoxních systémů, např. H_2O_2 .

2.1.2.3 Povrchové napětí

Povrchové napětí kapalin vede spolu se špatnou smáčitelností některých mikroorganismů k tomu, že tyto mikroorganismy rostou ve formě blanky (křísu) nebo vláknité vrstvy na povrchu kapalných pŮd. Sníží-li se povrchové napětí kultivačního prostředí přidávkem povrchově aktivních látek (tenzidů, surfaktantů), rostou tyto mikroorganismy v kapalině submerzní formou, neboť tenzidy současně zvýšily i smáčivost buněk. Povrchově aktivní látky jsou sloučeniny, jejichž molekula je tvořena hydrofobní částí (nejčastěji alkanový řetězec o 12 až 18 uhlících) a hydrofilní částí molekuly. Podle toho, zda je hydrofobní část součástí aniontu nebo kationtu, rozeznáváme anionaktivní tenzidy (mýdla), kationaktivní tenzidy (tzv. invertní mýdla) a neionogenní tenzidy. Povrchově aktivní sloučeniny se hromadí na rozhraní dvou fází a tedy také na povrchu buněk mikroorganismů v kapalném prostředí. Přispívají k lepšímu rozptýlení buněk, především u druhů tvořících shluky buněk a zlepšují jak příjem živin buňkou tak, i exkreci produktů metabolismu. Proto se jimi zrychluje růst některých velmi pomalu se rozmnožujících mikroorganismů (rody *Mycobacterium* a *Propionibacterium*). Z povrchově aktivních látek jsou k tomuto účelu nejvhodnější neionogenní tenzidy.

Anionaktivní tenzidy ve vyšších koncentracích poškozují cytoplazmatickou membránu a tím usmrcují buňky. Vyšší koncentrace také mohou denaturovat i bílkoviny. Anionaktivní

tenzidy, především alkylsulfáty a alkylsulfonáty, jsou také intenzivní smáčedla, a proto zvyšují účinnost roztoků dezinfekčních prostředků.

Kationaktivní tenzidy mají už ve velmi nízkých koncentracích, které ještě nevedou k poškození cytoplazmatické membrány, silné mikrobicidní účinky. Jejich smáčecí účinnost je však poměrně malá. Nejčastěji se používají kvarterní amoniové nebo pyridiniové soli.

2.1.2.4 Dezinfekční látky

Dezinfekční látky, které mohou působit nepříznivě na mikroorganismy, se používají k odstranění nežádoucích mikroorganismů z vnějšího prostředí, tj. k **dezinfekci** kontaminovaného náčiní, nástrojů nebo pokožky. Základní podmínkou použití dezinfekční látky je toxicita pouze pro mikroorganismy, pokud možno při nízkých koncentracích, její stabilita a rozpustnost ve vodě nebo jiných, běžně dostupných kapalinách.

K nejčastěji používaným dezinfekčním prostředkům patří fenol, fenolické sloučeniny, alkoholy, halogeny, těžké kovy, oxidovadla (H_2O_2 , $KMnO_4$), barviva, syntetické tenzidy a některé plyny.

Účinek **fenolu** spočívá ve snížení povrchového napětí prostředí s následným narušením buněčné stěny. Vodný roztok fenolu je používán k dezinfekci kontaminovaných nástrojů, moči apod., v současnosti se však od jeho používání upouští, také z důvodu výrazného zápachu. Na mikroorganismy jsou účinnější deriváty fenolu (krezol, ortonitrofenol, hydroxyrezorcinol).

Dezinfekční účinek **alkoholů**, zejména etanolu, je znám již řadu století. Absolutní alkohol je neúčinný. Nejúčinnější jsou roztoky etanolu o koncentraci 50 až 70 %. Účinnost alkoholů stoupá úměrně s jejich molekulovou hmotností (účinnější než etanol jsou např. propanol, butanol, amylalkohol). Alkoholy způsobují koagulaci bílkovin a tím destruuji membránovou strukturu. Alkohol se používá k hrubé dezinfekci pokožky, alkoholy o vyšší molekulové hmotnosti jsou špatně mísitelné s vodou, a proto se obvykle využívají k lokální dezinfekci, nepůsobí však na spory bakterií.

Z anorganických sloučenin mají mikrobicidní účinek **silné kyseliny** i **zásady**, neboť poškozují buněčnou stěnu i cytoplazmatickou membránu buněk. Pro svůj agresivní účinek na zařízení se však uplatňují vzácně. Poměrně odolné vůči kyselinám jsou acidorezistentní mykobakterie a spory.

Mikrobicidní působení vykazují rovněž **halogeny**, které způsobují oxidaci funkčních skupin biomolekul. Ze skupiny halogenů je nejčastěji využíván chlor a jod. **Chlor** jako plyn je nejčastěji používán pro sterilaci vody. Při jeho smíchání s vodou vzniká kyselina

chlorovodíková a chlorná, která je účinnou antimikrobní složkou. Obdobně působí také sloučeniny chloru až chlornany (chlorové vápno) a chloraminy (Chloramin atd.). Mechanismus účinku těchto preparátů je v tvorbě kyseliny chlorné za současného rozkladu na kyslík a HCl. Právě kyslík ve stavu zrodu je silným oxidačním činidlem, jehož působením jsou porušovány některé buněčné struktury. Obdobné letální změny mohou nastat i přímou reakcí chloru se strukturami buňky. **Jod** vykazuje silné antimikrobní účinky na vegetativní buňky i spory. Váže se na některé bílkoviny a inhibicí enzymatické aktivity dochází k celkovému porušení důležitých životních pochodů buňky. V praxi se obvykle používá alkoholický roztok jodu k dezinfekci pokožky.

Z dalších látek, které působí oxidačně, se pro dezinfekci využívají peroxid vodíku a hypermangan. **Peroxid vodíku** má silné oxidační vlastnosti, ve 3% koncentraci je mírným antiseptikem. Jako antiseptikum je také využíván **manganistan draselný (hypermangan)**. Obě látky oxidují funkční skupiny (zejména sulfhydrylové) enzymů a vyvolávají zastavení životně důležitých pochodů v buňce.

Těžké kovy a jejich sloučeniny působí svou vazbou na –SH skupiny. Tím způsobí jejich zablokování pro procesy esenciálního významu. Poškození těchto procesů lze upravit přidáním –SH látek (thioglykolát). Toxicita stoupá od lehčích kovů k těžším a od jednomocných k vícemocným. Rtuť používaná jako HgCl₂ má letální účinek na vegetativní buňky i na spory (nutná delší doba působení). Stříbro má baktericidní účinek vyvolaný uvolňováním iontů kovu do prostředí. Tento jev se nazývá oligodynamický účinek a spočívá ve vysoké afinitě některých sloučenin buňky k těmto iontům. Kromě rtuti a stříbra se ještě poměrně hojně využívají měď a arzen. Kovová měď působí podobně jako stříbro oligodynamicky, ze sloučenin arzenu se používají organické preparáty trojmocného arzenu (salvarsan) působící na bakterie *Treponema pallidum*.

Inhibiční účinek na bakterie mají také mnohá **barviva** využívaná v mikrobiologii. Jejich účinek je způsoben tvorbou komplexů s životně důležitými kovy a vazbou na buněčné bílkoviny, což vyvolává změny narušující funkci enzymů. Mnohá barviva vykazují selektivní účinek vůči mikroorganismům, např. krystalová violet inhibuje většinu grampozitivních bakterií a některé druhy hub, ale nepůsobí na gramnegativní bakterie.

Při sterilizaci citlivých biologických materiálů a prostředí, u nichž nelze použít běžné dezinfekční látky, se mohou uplatňovat **plynné látky**. Pro dezinfekci plynem se používá zejména formaldehyd, etylenoxid a β-propiolakton. Formaldehyd, glutaraldehyd a další **aldehdy** působí na vegetativní buňky, spory i acidorezistentní bakterie (např. mykobakterie) tvorbou můstků mezi blízkými –NH₂ skupinami (bílkovin i jiných molekul), čímž je

imobilizují a znemožňují jejich funkci. **Etylenoxid** se řadí mezi alkylující látky, tzn., že na mikroorganismy působí tak, že alkyluje (nahrazuje alkylem) vodík ve skupinách $-NH_2$, $-OH$, $-COOH$ a $-SH$ biomolekul a tím narušuje jejich strukturu a funkci. Jeho silný účinek je také dán vysokou penetrační schopností, proto se využívá k dezinfekci balených materiálů. Práce s etylenoxidem je však náročná, protože při zvýšené teplotě přechází v hořlavý plyn.

Kinetika odumírání buněk vlivem mikrobicidní chemické látky je shodná s kinetikou odumírání vlivem působení UV záření nebo vysoké teploty, tj. kinetika reakce prvního řádu (rychlost je přímo úměrná koncentraci substrátu).

2.1.2.5 Chemoterapeutika

Jako chemoterapeutika se označují látky, které mají toxický účinek na mikroorganismy, ale na rozdíl od dezinfekčních látek nepůsobí negativně na vyšší organismy. Chemoterapeutika se selektivním antibakteriálním účinkem inhibují biosyntetické pochody vedoucí k syntéze koenzymů, bílkovin a nukleových kyselin. Z řady dosud známých chemoterapeutik jsou nejzávažnější ta, která kompetitivně inhibují syntézu důležitých vitaminů nebo látky, které se inkorporují do molekul bílkovin a nukleových kyselin.

Nejstarší chemoterapeutika jsou **sulfonamidy** s vysokou antibakteriální selektivitou. Jejich bakteriostatický účinek je vysvětlován kompetitivní inhibicí syntézy kyseliny tetrahydrolistové, jednoho z enzymů katalyzujících syntézu kyseliny p-aminobenzoové (PAB). Sulfonamidy (např. trimetoprim) jsou strukturně podobné PAB, vstupují do metabolismu ve stejném místě (konkurují původnímu metabolitu), avšak mají větší afinitu k enzymu. Tím vznikají nefunkční analogy kyseliny listové a růst bakterií se zastavuje. Sulfonamidy mají široké spektrum antibakteriálního účinku (meningokoky, shigely, stafylokoky, streptokoky, některé gramnegativní bakterie).

K látkám s antimikrobiálním účinkem patří i látky popsané v kapitole věnované biologickým faktorům prostředí. Mezi biologické činitele s antimikrobiálním účinkem patří především **antibiotika**.

3 MIKROBIOLOGIE VZDUCHU, VODY A PŮDY

3.1 Mikroorganismy a vzduch

Mikroorganismy se vyskytují prakticky všude a tedy i ve vzduchu. Množství mikroorganismů ve vzduchu, ale není velké. Vzduch je směs plynů, par a tuhých částic

s poměrně stálým složením. Hlavními složkami ovzduší jsou kyslík, dusík, oxid uhličitý a vzácné plyny. Tyto plynné složky si zachovávají stálý objemový podíl, zatímco množství vodních par je velmi proměnlivé. Další látky, jež jsou výsledkem lidské či přírodní činnosti, se v ovzduší vyskytují ve formě aerosolů a jejich množství i vzájemný poměr značně kolísá. Tuhé částice tvoří především prach a mikroby, případně saze a jiné tuhé nečistoty. Živým organismům v ovzduší (mikroorganismy, pyl rostlin apod.) říkáme **aeroplankton**.

Ve vzduchu nejsou příznivé podmínky pro růst a rozmnožování mikroorganismů. Vzduch obsahuje minimum živin využitelných pro mikroorganismy. Nepříznivě na mikroorganismy působí UV záření a střídání teplot. Limitujícím faktorem je také vlhkost vzduchu. Mikroorganismy se přesto, někdy i ve značném množství ve vzduchu vyskytují. Do vzduchu se dostávají nejčastěji s prachovými částicemi a kapénkami vody či v malých kapičkách exkretů sliznic a slin. S množstvím prachu ve vzduchu stoupá obvykle i množství mikroorganismů, přičemž záleží i na původu prachu (prach z půdy obsahuje nejvíce mikroorganismů). Ve volné přírodě bývá obvykle méně vzdušných mikroorganismů ve srovnání např. s rušnou ulicí či průmyslovou oblastí. Více bakterií najdeme v uzavřených místnostech a to včetně patogenních. Nejméně mikroorganismů je ve vzduchu ve vysokých polohách, nad ledovci a vodními plochami, kde účinně působí UV záření. Vlhké a teplé podnebí znamená vyšší počet mikroorganismů ve vzduchu. Pohybem vzduchu a větrem se mikroorganismy roznášejí na různá místa.

Složení mikroflóry ve vzduchu kolísá. Pravidelně se vyskytují kvasinky a plísně. Kvasinky, např. *Saccharomyces*, *Candida*, *Rhodotorula* se vyskytují ve větší míře zvláště v letních měsících, kdy dozrávání ovoce, plísně, jako např. *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* či *Rhizopus*, vytvářejí barevné konidie odolné vůči UV záření. Z bakterií jsou ve vzduchu nejvíce zastoupeny rody *Bacillus*, jejichž spory jsou schopny dlouho odolávat nepříznivým podmínkám a *Micrococcus*. V menší míře se mohou vyskytovat i některé druhy rodu *Acetobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Brevibacterium*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Kocuria*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*. Většina těchto bakterií tvoří barviva karotenoidní povahy, jež je chrání před působením ultrafialového záření. Ve vzduchu se mohou vyskytovat také bakterie rodu *Staphylococcus*, zejména *S. aureus* a rodu *Proteus*, které mají dobrou schopnost udržovat se v aerosolu. Ve vzduchu se mohou vyskytovat také patogenní mikroorganismy. Do aerosolu přechází často i *Mycobacterium tuberculosis* a viry. V ovzduší stájí, anebo v centrech epidemií či epizootií, vznikají mimořádné situace. Zde se důležitými vektory mikroorganismů stávají aerosoly (často slizovité povahy) a hmyz.

Kvalita a množství mikroorganismů ve vzduchu závisí na zdrojích kontaminace a proudění vzduchu. Záleží také na počtu osob na pracovišti, jejich činnosti, na používaných strojích a zařízeních, zpracovávané surovině, na úrovni sanitace a hygieny apod. Působí zde samozřejmě i přírodní podmínky včetně nadmořské výšky, polohy, podnebí, ročního období.

Čistota vzduchu je důležitá v potravinářském průmyslu, zdravotnictví a farmaceutickém průmyslu i v zemědělství. Významně přispívá k tvorbě zdravého životního prostředí a zdraví člověka a zvířat. Požadavky na kvalitu vnitřního prostředí staveb s výjimkou prostorů vyžadujících zvýšené nároky na jeho čistotu se pokládají za splněné, nepřekročí-li koncentrace **plísni 500 KTJ . m⁻³** vzduchu. Nepřípustný je viditelný nárůst plísni na zdech a povrchu obytných místností. K zabezpečení dostatečné čistoty vzduchu lze v současnosti využít řadu opatření a způsobů od nejjednoduššího větrání, využití filtrace vzduchu přes různé filtry, UV záření až po aplikaci nanomateriálů.

Z bakterií jsou proti působení UV záření nejodolnější pigmentující bakterie *Micrococcus*, *Staphylococcus*. Všeobecně jsou ale citlivější než plísně. UV působí hlavně na nukleotidy a tím ničí buňky, po 30 min působení odumírá cca 50 % bakterií a plísňových spor. Z plísni je nejodolnější *Cladosporium*, středně odolný je rod *Penicillium* a nejcitlivější je rod *Aspergillus*. Tekuté desinfekční prostředky použitelné jako aerosol musí být netoxické. Plynné desinfekční prostředky (formaldehydové páry) mohou být použity v uzavřených prostorech bez lidí. Elektrické čištění vzduchu je založeno na tom, že elektricky nabitě částice aerosolu jsou přitahovány k opačně nabitým elektrodám.

3.2 Mikroorganismy a voda

Voda je nejen základní složkou každého organismu, ale i nevyhnutelným předpokladem jeho existence. Vodu v přírodě nacházíme v různých formách a dělíme ji na srážkovou, povrchovou a podzemní. Voda může mít také různý obsah rozpuštěných látek, **sladké vody** jich mají poměrně málo, **slané vody** jsou bohaté zejména na minerální látky, **splaškové vody** bývají bohatší na organické látky apod.

Výskyt a množství mikroorganismů v různých vodách závisí především na jejich složení, obsahu živin a intenzitě proudění. V **proudících vodách** je obecně méně mikroorganismů než ve stojatých, protože jsou intenzivněji odplavovány pryč. Ve **stojatých vodách** se také lépe kumulují živiny. Bohatá společenstva vodních mikroorganismů bývají ve splaškových vodách, které jsou na živiny velmi bohaté. V moři je více mikroorganismů v mělkých vodách než v hloubkách a více při pobřeží než v širém moři. V obou případech hraje hlavní roli faktor

živin, kterých je při hladině a při pobřeží více. Proudění vody má také vliv na její provzdušňování. V tekoucích vodách je tak více aerobních mikroorganismů. Ve stojatých vodách obecně obsah kyslíku klesá s hloubkou. To souvisí s provzdušňováním (bez promíchávání prochází kyslík od hladiny do hloubky jen pomalou difúzí).

Dále obsah kyslíku ovlivňuje činnost vodních organismů (mikroorganismů i makroorganismů), kteří kyslík spotřebovávají. Je-li společenstvo bohaté a metabolicky aktivní, může docházet i k tomu, že se u dna tvoří až anaerobní prostředí. Prakticky anaerobní prostředí je také v bahenních sedimentech. V aerobní oblasti stojatých vod převažují aerobní heterotrofní bakterie, které rychle rozkládají organické látky. Proto je voda u hladiny obvykle čistší. V anaerobní oblasti u dna pak probíhají různé anaerobní procesy v závislosti na dostupných živinách. Může to být jak fermentace organických látek, tak anaerobní respirace. V případě anaerobní respirace síranů, které jsou ve vodě obvykle přítomny, vzniká sulfan, který má charakteristický zápach. V anaerobní oblasti dna bývají také časté methanogenní archea, která provádějí methanogenezi a produkují methan. Na obsah kyslíku mají také vliv fotosyntetizující organismy. Ty, které provádějí oxygenní fotosyntézu (sinice, řasy, někteří prvoci, vodní rostliny) dokáží rybník zásobit vyprodukovaným kyslíkem.

Podle čistoty a účelu použití dělíme vodu na pitnou, užitkovou a odpadní.

Pitná voda používaná v potravinářství musí být zdravotně nezávadná a musí vyhovovat požadavkům norem, vzhledem k možnému riziku významného ovlivnění mikrobiální skladby finálních výrobků. Za pitnou vodu se považuje voda dodávaná spotřebitelům systémem hromadného a individuálního zásobování, voda používaná v potravinářských objektech a při dalších epidemiologicky významných činnostech na výrobu, zpracování anebo prodej výrobků určených ke konzumaci, potravinářský led a pára vyráběná z vody.

Užitková voda je taková, která vyhovuje technickým požadavkům a používá se k zemědělským a průmyslovým účelům. Může pocházet z různých zdrojů, z řek, rybníků, jezer, deště. Zásobování musí být upraveno tak, aby nemohla být použita jako pitná. Pro jednotlivé provozy se obvykle upravuje.

Odpadní vody lze podle původu rozdělit na komunální (splaškové), průmyslové a zemědělské. Odlišují se charakterem znečištění, chemickým složením, fyzikálními vlastnostmi podle technologických procesů, ve kterých se voda použila. Hlavními kritérii posouzení škodlivosti průmyslových odpadních vod na recipienty a posouzení efektivnosti jejich znečištění jsou: obsah nerozpustných látek, biologická spotřeba kyslíku (BSK), chemická spotřeba kyslíku (CHSK), celková sušina, teplota. Odpadní vody z potravinářského průmyslu patří většinou mezi netoxické a biologicky rozložitelné odpadní vody. Podle původu

je můžeme rozdělit na odpadní vody vzniklé při přípravě surovin na zpracování (cukrovary, škrobárny, konzervárny ovoce a zeleniny atd.), plavící vody (řepa, brambory), vody ze zpracování surovin (difuzní vody v cukrovarech), nevyužité suroviny a produkty, výrobní ztráty (krev, mléko, pivo, tuky z tukových závodů), oplachovací a umývací vody (mytí lahví, máčecí vody ze sladoven), chladicí vody (mlékárny, mrazírny, pivovary atd.). Čištění odpadních vod probíhá mechanicky (nejčastěji filtrace, cezení, usazování a zahušťování, flotace), biologicky (aerobní až aktivační proces, biofilmové reaktory nebo anaerobně).

Provozní vody jsou vody pro nejrůznější výrobní procesy, jako např. voda chladicí, promývací a podobně. Speciální požadavky na ní kladené jsou dané technologií. Neodpovídá zpravidla zdravotně hygienickým požadavkům na vodu pitnou a užitkovou.

Osídlení vody mikroorganismy je závislé na řadě faktorů, z nichž nejdůležitější jsou z fyzikálních faktorů především teplota, provzdušnění, tlak vody a rychlost sedimentace, z chemických pak obsah solí, obsah biogenních prvků, obsah organických látek a obsah rozpuštěných plynů. Mikroorganismy tvoří ve vodě nutnou a specifickou biocenózu, jejímž biotopem je převážně volná voda. I mikrobiální plankton se formuje, podléhá kvantitativním a kvalitativním změnám působením faktorů z okolního prostředí a přitom ovlivňují svým podílem i samotný biotop a do určité míry ho mění. Mikroorganismy osidlující vodní prostředí můžeme rozdělit na dvě skupiny. **Autochtonní mikroorganismy** jsou vodě vlastní, přirození obyvatelé vody, např. *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus*, *Chromobacterium*, *Achromobacter*, *Moraxella Acinetobacter*, *Xanthomonas*, *Serratia marcescens*, železité bakterie *Cladotrix*, sirmé bakterie rodu *Sphaerotilus*, mikromycety *Mucor*, *Fusarium*, *Saprolegnia*. **Alochtonní mikroorganismy** se do vody dostávají z jiných biotopů, které jsou pro ně původním a základním životním prostředím. V závislosti na kvalitě vodní lokality a jejich geneticky zafixovaných požadavcích zde buď hynou z nedostatku vhodné výživy nebo po určitou dobu přežívají. Některé se mohou za vhodných podmínek i pomnožit a daný biotop druhotně osídlit. V některých vodních biotopech lze těžko určit přesnou hranici mezi oběma typy. Především ve znečištěných povrchových vodách a v odpadních vodách často dochází k tak dokonalému přizpůsobení některých druhů (např. půdních), že jsou za daných podmínek pro lokalitu autochtonní. Naopak zase typy téměř nepřizpůsobivé jsou pro nás významnými indikátory původu znečištění vody, např. průmyslovými závody, zvláště potravinářskými, z výroby léčiv, splachem z polí, ze vzduchu atd. Z půdy a ze vzduchu se do vody dostávají bacily *Bacillus subtilis*, *B. megatherium*, řada nesporelujících tyčinek, nitrifikační a denitrifikační bakterie, kvasinky a plísně. Vyskytují se i zástupci střevní mikroflóry enterobakterie, enterokoky, *Clostridium perfringens*. Ve vodě se vyskytují

příležitostně i patogenní mikroorganismy, jako např. *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* aj. Běžnou součástí vody jsou aktinomycety. Počty a druhové zastoupení mikroorganismů podléhá v průběhu roku značným výkyvům. Větší variabilitu vykazují tekoucí vody než stojatá voda.

Pro život ve vodě jsou bakterie poměrně dobře vybaveny, i když nemají účinný aparát zabraňující jejich sedimentaci. Bakterie se mohou ve vodě poměrně dlouho vznášet. Bakterie osidlují všechny části hydrosféry. Jako součást **neuston** tvoří povrchový film na hladině, jako součást **planktonu** se vznášejí ve vodním sloupci, jako součást **bentosu** spoluvytvářejí biocenózu bahna a sedimentů. Značná část bakterií ve vodě je fixována na rozptýlený nebo vodou unášený substrát.

Voda jako taková je pro mikroorganismy původním substrátem. Záleží ovšem na tom, zda se jedná o vodu podzemní nebo povrchovou. Nejvyšší a nejčistší voda proto pochází z hlubokých studní, kde je nízký obsah kyslíku, málo živin a daleko nižší teplota než v povrchových vodách. Dalším faktorem, který ovlivňuje osídlení vody mikroorganismy je **přírozená filtrační schopnost půdy** nad podzemní vodou. Takže při toku vody přes tuto půdu dochází k přirozené filtraci a k zachytávání mikroorganismů. Ve srovnání s vodou povrchovou je obsah mikroorganismů ve vodě z podzemních zdrojů výrazně nižší a méně proměnlivý, protože zdroje povrchové jsou, na rozdíl od podzemních, přístupné jakémukoliv znečištění.

Přírodní vody jsou, před vpuštěním do veřejných vodovodů, v úpravnách vod upraveny takovým způsobem, aby vyhověly na jakost právním předpisům (vyhláška 252/2004 Sb. ve znění pozdějších úprav) a tedy i po stránce mikrobiologické neobsahovaly nadlimitní množství mikroorganismů, vč. patogenních. V úpravnách vod se voda upravuje fyzikálně (česle a síta na zachycení plovoucích nečistot, lapáky a usazovací nádrže na suspendované látky), chemicky (síranem železnatým nebo hlinitým či chloridem železitým), biologicky (pískové filtry, provzdušňovací nádrže). Dále se může upravovat tvrdost vody. Voda se desinfikuje chlorem nebo jeho sloučeninami, oligodynamickými prostředky (sagen, kovové Ag, chlorid sodnostříbrný), ozonem, UV zářením.

Vody z veřejné vodovodní sítě jsou kontrolovány a nehrozí tedy ohrožení zdraví spotřebitelů. Jiná situace je u vod studničních. Na základě průzkumů se odhaduje, že značná část studní v ČR je patogenními bakteriemi kontaminována. Skutečnost, že voda ze studny je dlouho používána bez jakýchkoliv pozorovaných nepříznivých důsledků, ještě neznamená garanci její nezávadnosti. U pravidelných uživatelů takové vody se snad může vyvinout

tolerance k těmto bakteriím, ale onemocnět mohou jak návštěvy a malé děti, tak uživatelé samotní, pokud se v důsledku různých příčin jejich imunitní systém oslabí.

Pro mikrobiologické posuzování kvality vody je používáno určité spektrum indikátorových mikroorganismů, které obvykle obsahuje indikátory fekálního znečištění a indikátory obecné kontaminace. **Indikátory obecného znečištění** tvoří umělá skupina organotrofních bakterií schopných růst na předem specifikovaném živném médiu s optimem růstu při 22 °C a 36 °C. Bakterie s optimem při 36 °C mají významnější postavení než bakterie s optimem při 22 °C pro jejich těsnější vztah k teplokrevným živočichům. V podstatě jde o běžnou součást mikroflóry okolního prostředí. Jejich význam spočívá především v indikaci průniku organického znečištění z vnějšího prostředí nebo poruchy a nedostatky při úpravě vody, či neúčinnosti desinfekce. Mezi stanovované **indikátory fekálního znečištění** patří **koliformní bakterie** (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*), **termotolerantní koliformní bakterie**, presumptivní nebo přímo stanovená *E. coli*, **intestinální enterokoky** (*E. faecium*, *E. faecalis*), **siřičitany** redukující střevní sporulující anaerobní bakterie **klostridia** (*C. perfringens*). **Indikátorem jiného než fekálního znečištění** je *Pseudomonas aeruginosa*. Současná koncepce indikátorového systému pro pitnou vodu postihuje především průnik fekálního znečištění, které představuje jedno z nejzávažnějších a nejčastějších ohrožení vodního prostředí. Selhává však ve vztahu k virologické, protozoální, mykobakteriální či mycetické a helmintologické kontaminaci, ale také k indikaci přítomnosti bakteriálních agens, jiného než střevního původu, jako mykobakterie, legionely. Mezi indikátorovými mikroorganismy pro teplou vodu, ale nalezneme i limity pro legionely a mykobakterie. Přítomnost těchto mikroorganismů ve vodě může indikovat více méně hrubé závady hygienického či epidemiologického charakteru. Dalšími nepříjemnými a doprovodnými mikroorganismy, které nejsou požadovány mikrobiologickými rozbory, jsou: stafylokoky, hemolytické streptokoky, kvasinky rodu *Candida*, aeromonády, salmonely.

3.3 Mikroorganismy a půda

Všechny organismy včetně mikroorganismů potřebují kolem sebe nějaký prostor, ve kterém jsou schopny uskutečňovat svůj metabolismus, růst a rozmnožování. Tento prostor označujeme jako **životní prostředí** neboli **biotop**. Životní prostředí mikroorganismů může být velmi rozmanité, například voda, vzduch, jiný organismus, ale primárním prostředím pro život mikroorganismů je **půda**, je to jejich hlavní rezervoár. Tento biotop poskytuje organismům živiny a energii a mikroorganismy prostřednictvím svých aktivit a účastí na

koloběžích živin zpětně ovlivňují fyzikální a chemické vlastnosti půdy. Půda je tedy prostředím pro mikroorganismy, ale zároveň je i jejich produktem. Vznik půdy je navozen spolupůsobením biologických a fyzikálně-chemických faktorů, které rozrušují horninový podklad. Půda je směsí zvětralé zemské kůry a organické hmoty včetně celé řady organismů od mikrobů přes živočichy až po rostliny. Důležitý je vliv kořenů vyšších rostlin a mikroorganismů, které se nachází v tzv. **rhizosféře**. Postupnými zvětrávacími procesy se utváří tzv. půdní profil. V půdě dochází k prolínání a vzájemnému působení litosféry s biosférou, atmosférou a hydrosférou a propojují se zde globální cykly. Půda je tedy přírodní útvar, který se neustále mění a vyvíjí v daném prostoru a čase. Vznikla působením **půdotvorných činitelů** na horninu; mezi půdotvorné činitele patří především složení a stavba mateřských hornin, reliéf území, věk krajiny, klima, rostliny, půdní organismy, ale i činnost člověka.

Půda jako základní součást životního prostředí je pro člověka nezbytnou podmínkou jeho existence. Tento obrovský význam souvisí s její základní vlastností či charakteristikou, kterou je především půdní úrodnost, její produktivita, resilience, biodiverzita a s tím související **kvalita a zdraví půdy**. Kromě filtrace, pufrční schopnosti, zdroje a zásobárny pitné vody a surovin, ochrany biodiverzity atd. je tedy hlavní funkcí půdy reprodukce biomasy (půda vytváří substrát pro růst rostlin, umožňuje jejich přichycení a je pro ně zásobárnou vody a živin) jako základní podmínku života člověka a jiných organismů na Zemi. Přežití a prosperita všech suchozemských biologických společenstev, přirozených i umělých, závisí tedy na tenké vrchní vrstvě Země. Půda je proto bezesporu nejcennější přírodní bohatství. Je přirozenou součástí národního bohatství každého státu. Z tohoto důvodu by mělo být ve vlastním zájmu člověka (jak o tom hovoří i doporučení Rady Evropy či OECD) monitorovat základní ukazatele kvality půdy a snažit se její základní atributy udržet a půdu důsledně chránit nejen pro současnou dobu, ale se značným výhledem do budoucna. Zvláště proto že vznik a vývoj půdy je velmi dlouhodobý proces, který je odvislý od celé řady abiotických a biologických faktorů. **Biologický faktor** je v pedologii považován za nejdůležitější faktor pedogeneze, ale bohatý půdní biologický život (**půdní organismy**) společně s určitým obsahem organické hmoty je důležitý i k držení půdní úrodnosti.

Mezi půdní organismy patří různorodí zástupci rostlinné, živočišné a mikrobiální říše, které se označují společným názvem **edafon**. Půdní organismy jsou součástí organické hmoty, která tvoří zhruba 6 % procent celkové hmotnosti půdy, zbylou většinu tvoří minerální část. Z tohoto celkového množství organické hmoty připadá na tzv. mrtvou organickou hmotu zhruba 85 % hmotnosti, ze zbylé živé organické hmoty připadá asi 8,5 % na kořeny a 6,5 %

na edafon. V půdě se vyskytují organismy od mikroskopické velikosti, účastníci se rozkladu organických látek, až po obratlovce, kteří mají výrazný vliv i na fyzikální vlastnosti půd. Všechny skupiny organismů tak mají vliv na biologické procesy v půdě, které jsou důležité jak pro růst rostlin, tak pro existenci živočichů. Celková svěží hmotnost edafonu v půdě může dosahovat 4 až 20 t . ha⁻¹, kvantifikovaná jako hmotnost sušiny činí tedy 1 až 5 t . ha⁻¹, někteří autoři uvádí i hodnoty vyšší.

Jaká je tedy funkce edafonu v půdě? Obrovskou roli mají půdní organismy v půdotvorných procesech, kdy napomáhají v důsledku biochemických procesů **zvětrávání hornin**. Půda obsahuje množství organických látek a většinou dostatek živin, kyslíku i vody, takže poskytuje příznivé podmínky pro růst a existenci organismů. Všechny tyto organismy se podílejí na **rozkladu a syntéze organických látek**. Mezi půdou a živými organismy existují velice výrazné oboustranné vazby. Organismy ovlivňují vlastnosti půd tím, že svojí činností zvyšují úrodnost a naopak půda výrazně ovlivňuje existenci a životní projevy rostlin a živočichů tím, že jim poskytuje prostředí k životu. Ve svrchní vrstvě půdy jsou průběžně ukládány rostlinné a živočišné zbytky (odumřelé organismy, listy, větve, kořeny, dřevo, posklizňové zbytky apod.). Co se týká původu hlavní složky organického materiálu vstupujícího do půdy, uvažovalo se, že největší množství odumřelé biomasy pochází především z opadu tvořeného z nadzemních odumřelých částí rostlin. Dle nynějších poznatků se však soudí, že významnější přísun uhlíku do **půdní organické hmoty** tvoří vstupy organických látek ve formě kořenových exsudátů vylučovaných kořeny rostlin a odumřelých kořenů. Obecně se uvádí, že se takto do půdy dostává asi 20 až 40 %, někdy až 60 % organických látek vzniklých při procesu fotosyntézy. Nicméně většina těchto látek je nějakým způsobem zpracována půdními organismy. Zatímco půdní mikroflora (bakterie, řasy, mikromycety) rozkládá organickou hmotu na jednodušší chemické sloučeniny a minerální látky, které jsou živinami pro rostliny, činnost půdních živočichů (např. žížaly) spočívá hlavně v mechanickém zpracování mrtvé organické hmoty. Každý gram půdy obsahuje milióny mikroorganismů, které se účastní přeměny organické hmoty a umožňují tak koloběh živin. Jejich činností dochází k rozkladu organických látek na anorganické sloučeniny, např. oxid uhličitý (CO₂) a vodu, minerální dusíkaté látky nebo je tato hmota rozkládána a následně syntetizována (přetvářena) do forem zvaných **humus**. Velký význam aktivity edafonu (především půdní fauny) spočívá v **promíchávání minerálních a organických složek půdy**, kdy půdní živočichové zatahují opad z povrchu půdy do jejích spodních partií, dochází k vertikální i horizontálnímu přemísťování. Také přemísťují i půdu ze spodních částí na povrch. Celkové množství takto přesunutě půdy (především žížalami) je odhadováno na

2 až 250 tun na hektar a rok. V jejich trávicím traktu dochází i za pomoci zde přítomných mikroorganismů k trávení přijaté potravy (organická hmota) a promíchávání natrávených organických zbytků a minerálních zbytků půdy přijatých s potravou. Často je tvořen komplex humus – jílovité minerály, které jsou edafonem vylučovány ve formě exkrementů a vytvářejí tak předpoklady k agregaci půdních částí. Na tvorbu **strukturních půdních agregátů** mají velký vliv i houby a bakterie vylučující slizové látky. Jsou to většinou biopolymery polysacharidové povahy obsahující uronové kyseliny. Část tmelivých látek produkují i rostliny (pektin) a živočichové, jako jsou slimáci, ale především žížaly (slizy, hlavně pak muciny). Kromě produkce tmelivých látek přispívají mikroskopické houby k tvorbě agregátů především mechanickým oplétání půdních částic sítí hyf upevňujících jejich stabilitu. Po odumření těchto hyf vzniká jejich rozkladem slizovitá hmota opět přispívající ke zpevnění agregátů.

3.3.1 Rozdělení půdních organismů

Půdní organismy můžeme dělit podle různých kritérií. Podle toho zda se jedná o v půdě přirozeně a trvaleji se vyskytující organismy, můžeme hovořit o organismech, které jsou v půdě **autochtonní (původní)**. Jsou schopny rozkládat i humus, jsou charakterizovány pomalou, ale konstantní aktivitou. Z řad mikroorganismů se jedná například o rody bakterií a aktinomycet *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Streptomyces*, *Nocardia*, *Cellulomonas* a zástupce hub *Mucor*, *Penicilium*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Trichoderma*, *Aspergillus*.

Zymogenní (oportunní) mikroorganismy se objevují ve velkých počtech při přítomnosti vhodného lehce rozložitelného substrátu a jsou charakterizovány velkou metabolickou aktivitou, mající významný podíl na procesech mineralizace. Patří se například bakterie rodu *Bacillus*, *Mycobacterium*, některé druhy rodu *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Aeromonas* a sinic *Nostoc*, *Anabaena* nebo hub *Rhizopus*, *Fusarium*, *Cephalosporium*.

V půdě najdeme i **patogenní** mikroorganismy a to především pro rostliny (*Pseudomonas*, *Xantomonas*, *Erwinia*, *Clavibacter*, *Agrobacterium*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Phytophthora*), ale i pro člověka (např. *Clostridium*), pro které je půda přirozeným stanovištěm, jsou to tedy patogeny primární. K sekundárním patogenům, kteří se dostávají do půdy sekundárně a mohou v ní přežívat dlouhou dobu patří například *Neisseria* sp. nebo *Bacillus anthracis* (původce sněti slezinné až antraxu) a můžeme je nazvat též **alochtonní** organismy.

Podle funkce v potravním řetězci ekosystému, kde každý organismus má vymezené místo a funkci při zabezpečování koloběhu látek a kde jsou jednotlivé skupiny organismů na sebe

vázané jako na zdroj výživy a energie a přeměně energie, dělíme organismy na producenty, konzumenty a dekompozitory.

Producenti jsou autotrofní organismy, které jsou schopné z anorganických sloučenin vytvářet organické látky (**primární produkce biomasy**). Patří sem některé mikroorganismy (sinice, řasy, chemoautotrofní bakterie), ale rozhodující jsou hlavně zelené rostliny, které prostřednictvím fotosyntézy zajišťují pro sebe i pro heterotrofní konzumenty (včetně člověka) a dekompozitory energeticky bohaté látky (přeměna světelné energie na chemickou).

Konzumenti jsou heterotrofní organismy, především z řad živočichů, kteří žijí v určitém ekosystému buď trvale nebo migrují z ekosystému do ekosystému. Patří sem býložravci, masožravci a všežravci. Mezi konzumenty patří i člověk, který se stal z ekologického hlediska, jedním z nejsilnějších a nejrazantnějších ekologických faktorů. Maximální vliv člověku na životní prostředí spočívá v jeho přetváření, v přizpůsobování přírody a využívání jejích zdrojů. Přírodní ekosystémy se ve velké míře mění na kulturní (agroekosystémy). Dále mezi konzumenty počítáme i parazitické rostliny a půdní mikroorganismy, které spolu s živočichy vytvářejí **sekundární produkci biomasy**.

Dekompozitoři (reducenti) jsou heterotrofní organismy představované v ekosystémech především bakteriemi, houbami a prvoky. Jejich hlavní funkcí je rozklad a přeměna odumřelého organického materiálu primární i sekundární produkce až na minerální látky. Dekompozice neboli rozklad odumřelé organické hmoty a přeměna na anorganické látky přístupné pro producenty je pro život ekosystémů stejně důležitá jako tvorba organické hmoty z minerálních látek (tvorba primární produkce). Dekompozitoři, stejně jako mezistupně rozkladu organických látek, vstupují často do nových koloběhů, jsou konzumováni dalšími organismy, čímž výrazně přispívají k tvorbě sekundární produkce.

Podle systematického zařazení rozlišujeme:

- (i) **fytoedafon** – bakterie, aktinomycety, houby, řasy,
- (ii) **zooedafon** – půdní živočichové (prvoci, stonožky, žížaly a další).

Podle velikosti, bez ohledu na to z jaké říše organismy pocházejí, můžeme rozdělit edafon na mikroedafon, mezoedafon, makroedafon a megaedafon.

Mikroedafon (menší než 0,1 nebo 0,2 mm) má zásadní význam v biologickém koloběhu látek a energií a to vzhledem k jejich velkému počtu a velkému aktivnímu povrchu v poměru k objemu biomasy, vysoké rychlosti rozmnožování a velkému počtu fyziologických skupin mikroorganismů s rozličnou schopností rozkladu, přeměny a syntézy hmoty v půdním systému. Najdeme zde v podstatě všechny skupiny mikroorganismů zastupující rostlinnou i živočišnou říši. Patří sem **bakterie, aktinomycety, sinice, řasy, většina hub, prvoci**, ale

i **viry**. Nejpočetnější a nejdynamičtější složkou půdních mikrobiálních společenstev mikroedafonu jsou autotrofní a heterotrofní bakterie, tedy včetně sinic a aktinomycet. Další význačnou skupinou v této kategorii jsou houby (eukaryotické mikroorganismy), respektive mikromycety s celou řadou fyziologických, genetických a morfologických forem (kvasinky, spory hub). Obě tyto skupiny mikroedafonu jsou hlavními hegemony rozkladných a transformačních procesů v půdě. Mezi mikroorganismy v půdě najdeme také řasy, které reprezentují eukaryotické autotrofy. Dále zde najdeme prvoky, eukaryotické mikroorganismy konzumující bakterie (prvok může zkonzumovat 2 až 12 tisíc bakterií. Tito predátoři regulují početnost bakteriálních populací, ale zároveň přírodním výběrem aktivizují jejich fyziologický stav. Největší výhodou mikroorganismů je obrovský souhrnný aktivní povrch jejich buněk, neboť právě zde se odehrávají veškeré výměny a toky látek mezi nimi a vnějším prostředím. Celková plocha povrchu buněk bakterií v půdě do hloubky 30 cm může na ploše jednoho hektaru dosahovat až 600 ha, u mikromycet až 470 ha. Najdeme zde velký počet různorodých a vzájemně zastupitelných fyziologických skupin mikrobů produkujících nejširší představitelnou paletu enzymů katalyzujících rozklady, přeměny a syntézy dostupných organických látek. Tyto procesy probíhají buď uvnitř těl mikroorganismů nebo působením enzymů mimo jejich těla. Půdní mikroorganismy jsou schopny přežít dlouho i v nepříznivých podmínkách a umějí se velice rychle adaptovat v měnících se podmínkách.

Další složkou edafonu je **mezoedafon**, který tvoří drobní živočichové o velikosti od 100 µm do zhruba 0,2 až 0,5 cm. Patří sem především drobní členovci (roztoči, chvostoskoci, hlístice). Někteří požívají půdní mikroorganismy nebo to jsou saprofytové živíci se s pomocí mikrobů svého zažívacího traktu polorozloženými organickými zbytky. Vyskytují se zde i koprofytové živíci se výkaly. Důležitou složkou jsou živočichové, kteří rozměňují mrtvou organickou hmotu na jemné částice a tak zvětšují povrch dostupný pro činnost mikroedafonu. Patří sem většina chvostoskoků, roztočů a menší hmyz.

Makroedafon (2 až 20 mm) tvoří především roupice, hmyz, mnohonožky, stonožky, suchozemští stejnonožci, pavouci a měkkýši.

Do **megaedafonu** (> 20 mm) patří hlavně žížaly a obratlovci (např. hraboši, krtci). Makroedafon a megaedafon tedy různé skupiny organismů, které můžeme bez problémů pozorovat pouhým okem, se také mohou účastnit rozkladu detritu. Nejpočetnější a nejvýznamnější živočišnou složkou všech půd, včetně zemědělských, kde ovšem při konvenčním způsobu obdělávání dochází k jejich úbytku, jsou žížaly. Význam žížal pro půdu spočívá v jejich působení při rozkladu primární organické hmoty. Jde zejména o produkci exkrementů, ve kterých jsou minerální částice promíchávány s rozloženými organickými

zbytky a mikroflorou, která napomáhá transformaci organické hmoty v trávicím traktu žízal. Důležité je také to, že vytváří chodbičky v půdě, jejichž souhrnná délka na jednom hektaru může činit až 4 000 km. Tím napomáhají lepšímu vsakování srážkové vody, ale také k většímu provzdušnění, což umožňuje lepší přístup vzduchu například k fixátorům vzdušného dusíku. Žížaly pozitivně ovlivňují strukturu i mikrostrukturu půdy a podílí se tím na udržení půdní úrodnosti. Makroedafon rozmělnuje mrtvou organickou hmotu hlavně mechanicky na drobnější částičky a mísí je s minerálními částicemi. Dále se podílí na tvorbě půdní mikrostruktury. Odkládá do půdy a na její povrch strukturně stabilní exkrementy, aktivně hloubí chodby, transportuje minerální částice na povrch půdy a organickou hmotu naopak až do hloubky (do minerálního půdního horizontu). Jejich činnostmi jsou jednotlivé složky půdy promíchávány, převraceny a jejich trusem a výměšky jsou částice rozloženého detritu slepovány a dále obohacovány minerálními látkami. Tato část edafonu může tedy nepřímým významem ovlivňovat transformaci organické hmoty tím, že mění životní podmínky pro půdní mikrofloru a tedy i její aktivitu tím, že fragmentuje detrit a zvětšuje jeho povrch a rychleji tak zpřístupňuje místa, kam by se mikroorganismy dostaly až za delší dobu. Obecně se dříve uvádělo, že svou aktivitou mohou výrazně podpořit aktivitu mikrobiálních dekompozitorů a tím i urychlit rozkladné procesy. Dle novějších poznatků se nyní ukazuje, že tyto procesy mohou i zpomalovat, například tím že obalují v trávicím traktu detrit jílovitými minerály nebo tím, že při fragmentaci opadu dochází k uvolňování fenolických látek, které dekompozici zpomalují. Můžeme tedy říci, že půdní mezo- a makrofauna krátkodobě urychluje, ale dlouhodobě zpomaluje dekompozici, což však nemusí být negativní, neboť tato může přispívat k akumulaci organické hmoty v půdě.

Různé skupiny půdních mikroorganismů se liší délkou svých životních cyklů. U mikroedafonu (fytoedafon, prvoci) proběhne celý životní cyklus během několika hodin až dní. Mezoedafon (např. chvostoskoci, roztoči, roupice) prodělává svůj vývoj během několika týdnů až měsíců, u makroedafonu je to od několika měsíců až po několik let. Megaedafon (např. žížaly) má životní cykly dlouhé několik let. Po ukončení životních cyklů edafonu jsou z mrtvých těl rozkladem opět uvolňovány živiny a uváděny do dalšího oběhu.

3.3.2 Prostorové rozmístění a počty organismů v půdě

Půda je heterogenní systém a také výskyt edafonu je velmi nerovnoměrný. Nerovnoměrnost výskytu se týká jak času, kdy se mění mikroklimatické podmínky a dostupnost živin a zdrojů (nejdynamičtěji a nejrychleji se rozvíjející složkou edafonu jsou bakterie), tak samozřejmě i prostoru. Záleží také na typu porostu či míry obhospodařování.

Struktura mikrobiálního společenstva zahrnuje kvantitativní informace o počtu jedinců různých taxonomických či fyziologických skupin. Kvantifikace mikroorganismů mohou být nepřímé (např. kultivace na živných půdách) nebo přímým počítáním pod mikroskopem či stanovením pomocí moderních molekulárně až biologických metod. Určení jednotlivých druhů mikroorganismů je mnohem složitější než u rostlinných či živočišných druhů. Pojetí druhu nelze použít např. u bakterií, kde dochází k rychlé výměně genů při tzv. horizontálním genetickém přenosu, a při stanovování nepřímými metodami kultivace zjišťujeme, že většinu mikroorganismů v půdě tvoří tzv. nekultivovatelné druhy (až 99 %), což ztěžuje identifikaci.

Při stanovení biologické diverzity se používají moderní metody (PCR atd.), které umožňují přibližné určení počtu vyskytujících se druhů. Při jednom stanovení při využití kinetiky asociace DNA bylo nalezeno zhruba 4 000 mikrobních genomů v 1 g půdy, což by mohlo odpovídat přibližně 13 000 různých druhů.

Často se také rozdělují a společně vyčleňují mikroorganismy na základě podobných typů metabolismů do tzv. **fyziologických skupin mikroorganismů** (např. celulytické organismy, fixátoři vzdušného dusíku, aktinomycety atd.).

Podle jednotlivých skupin půdní mikroflory dosahují průměrné počty od několika miliónů až po stovky miliard jedinců na 1 m². Hmotnost mikroorganismů v jednom gramu půdy může dosahovat 0,6 až 3 mg. Na 1 m² půdy do hloubky 0,2 m můžeme najít 1 až 100 g a v optimálních podmínkách dokonce až 1 000 g biomasy mikroorganismů. V **1g suché půdy najdeme 10⁷ až 10¹¹ bakterií**, s aktivním povrchem jejich těla až 2 000 mm², celková délka aktinomycet v gramu půdy může dosahovat až 250 m. Počet **hub** (mikromycet) v jednom gramu půdy je podle typu půdy kolem **10⁴ až 10⁶** o celkové délce hyf 100 metrů i více (výjimečně až 2 000 m). Množství autotrofních řas je 10¹ až 10⁶ v gramu především horních vrstev půdy. Povrch těla bakterií vyskytující se na ploše jednoho hektaru do hloubky 0,2 m může při hmotnosti 800 kg činit až 600 ha. U hub může tato plocha dosahovat až 470 ha při hmotnosti 3 000 kg (i více) jejich biomasy. Dohromady může tedy **celková plocha** tohoto velmi aktivního povrchu všech mikroorganismů tvořit až **4 600 hektarů na 1 ha půdy**.

Sledujeme-li **vertikální distribuci** v prostoru dle údajů různých autorů, najdeme bez ohledu na různé půdní druhy a typy nejvíce organismů ve vrstvě půdy zhruba **do 10 cm**, maximálně do 30 cm. Organismy, vyskytující se v této vrstvě představují zhruba 75 % až 90 % veškeré biomasy organismů v půdě, do hloubky 50 cm je to až 95 %. Avšak některé bakterie lze nalézt i ve velkých hloubkách (stovky metrů), jde především o sulfát-redukující a metanogenní bakterie či archebakterie.

Podobně nerovnoměrná je i **horizontální distribuce** mikroorganismů. Jiné množství mikroorganismů najdeme na půdních agregátech, jiné v půdním roztoku, několikanásobně více půdních organismů najdeme v bezprostředním okolí kořenů v tzv. rhizosféře než v ostatních partiích půdy.

Rhizosféra je tenká vrstvička půdy přiléhající ke kořenům rostlin, kde dochází ke kontaktu kořenů rostlin a půdy zhruba do vzdálenosti 1mm a kde dochází k vzájemným interakcím kořenů i s půdními organismy. Jedná se o obrovský komplex vzájemně provázaných dílčích reakcí zprostředkovaných vzájemným působením rostliny, půdy a půdních mikroorganismů. V rhizosféře dosahuje intenzita biochemických dějů až o několik řádů vyšších hodnot než v okolní tzv. volné půdě. Je to díky tomu, že kořeny v určitých aktivních zónách uvolňují ve formě rhizodepozic v obrovském množství celou řadu různých organických látek, na něž jsou mikroorganismy lákány a které jsou jimi aktivně využívány. Uvádí se, že až **40 % sacharidů** vyprodukovaných rostlinami v průběhu fotosyntézy putuje do rhizodepozic a kořenových exsudátů, aby podpořily aktivitu těchto velice důležitých půdních organismů, jako jsou například fixátoři vzdušného dusíku, další volně žijící rhizobakterie a mykorhizické houby, ale nepřímo i jejich predátory. Vzniká zde směs polysacharidů a glykoproteinů původem z rhizodepozic rostlin a produkovaných i rhizosférními mikroorganismy, kterému říkáme souhrnně **mucigel**, který je materiálním základem tvorby mikrobiálního biofilmu na povrchu kořenů. Tato mikrobiální konsorcia, vytvářející organizovaná společenstva s kolektivní funkcí tzv. biofilmu, v němž se rozvíjí složité vzájemné vazby a vztahy. Tyto společenstva naopak **zprostředkují kořenům rostlin příjem důležitých, často nedostatkových živin**. Mikroorganismy produkují i další pro rostliny aktivizující látky a stimulanty, jako jsou např. auxiny, gibbereliny, etylen, různá antibiotika atd. Dochází k produkci tzv. informačních molekul, pomocí kterých dochází k vzájemné komunikaci mezi rostlinou a mikroorganismy. Produkci těchto informačních molekul (např. NO₃, indol-3-octovou kyselinu – IAA), které vedou ke zvýšenému růstu bočních kořínků, což vede k větší produkci exsudátů, mohou svou předací ovlivňovat i prvoci. Nedostatek živin zvyšuje produkci exsudátů, čímž rostlina podporuje aktivitu půdních mikroorganismů. **Produkcí rhizodepozic stimulují rostliny množení rhizosférních mikroorganismů a i jejich aktivitu vedoucí k větší produkci enzymů důležitých pro dekompozici a uvolňování stěžejních živin z půdy**. To znamená, že pro rostlinu není tak důležité „vyživovat“ kořeny pro jejich aktivitu a vlastní růst, ale „vykrmovat“ si rhizosférní mikroorganismy, které jsou pro ni určitě nesmírně důležité z hlediska schopnosti mikroorganismů zpřístupňovat rostlinám celou řadu základních živin ve formách přijatelných

pro rostliny. V rhizosféře **dochází** také vlivem **působení rhizosferních mikroorganismů k inhibici růstu půdních patogenů napadajících rostliny** (např. *Fusarium*) a naopak ke stimulaci klíčení spor a růstu hyf hub, které jsou antagonisty patogenních organismů. Najdeme zde celou řadu G^+ a G^- bakterií (např. *Arobacterium radiobacter*, který je antagonist a *A. tumefaciens*) i mkrromycet (např. *Pythium oligandrum*, což je antagonist a *P. ultimo* a *Botritis cinerea*). Populační hustota mikroorganismů, zvláště bakterií, je tedy mnohem vyšší v rhizosféře než ve volné půdě. Relativní vzestup počtu mikroorganismů se udává jako **poměr R/S**, kde R je počet mikroorganismů v 1 g půdy rhizosféry a S je počet mikroorganismů v 1 g volné půdy. Poměr R/S nabývá hodnot 5 až 100 a závisí mj. i na stáří rostliny, druhu rostliny a na jejím výživném stavu.

3.3.3 Dekompoziční procesy

Nejzásadnějšími procesy, které se v půdě odehrávají vlivem působení půdních organismů, především mikroorganismů, jsou **procesy dekompoziční**. Při těchto dějích je větší část organických látek dostávajících se do půdy v procesech dekompozice rozložena na látky minerální, čemuž říkáme **mineralizace**. Menší část může být vázána v biomase mikroorganismů (**imobilizace**) a část organické hmoty je rozložena částečně a souběžně dochází k resyntézám neúplně rozložených organických látek a přeměně na humusové látky relativně odolné rozkladu, dochází tak k procesu **humifikace**.

Rozklad (disimilace) neboli dekompozice organických látek je stejně důležitý pro život organismů v ekosystému celé planety jako tvorba organických látek z látek minerálních primárními producenty (**asimilace**). **Půdní organická hmota** je obrovskou zásobárnou energie a živin. Půdní rozkladači jsou schopni velice účinně tuto energii organických molekul získávat a přeměnit ji až na jednoduché anorganické látky, které zčásti využijí pro stavbu svých buněk a část minerálních látek zpřístupní zpět autotrofům, hlavně rostlinám. Obecně můžeme označit rozklad za enzymatickou oxidaci, kdy se z těchto látek za spotřebování kyslíku v řadě mezireakcí uvolňuje energie, CO_2 , voda a minerální formy makrobiogenních prvků: NH_3 , ionty K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$ a dalších biogenních prvků (mikroelementů) asimilovatelných rostlinami (podrobněji v kapitole o metabolismu mikroorganismů).

Mineralizace je proces, kdy dochází k postupnému, ale úplnému rozkladu organické hmoty na látky minerální. Obecně lze konstatovat, že v půdách mineralizace vždy mnohonásobně převyšuje humifikaci (bude popisována později). Nejrychleji je organická hmota mineralizována za maximálního přístupu vzduchu (za přítomnosti O_2 dochází k oxidaci). V anaerobních podmínkách (nedostatek kyslíku) probíhají rozklady odlišně

a kromě CO₂ vznikají jako koncové produkty metan, sirovodík, alkoholy a jiné látky. Je třeba také připomenout, že půdní mikroorganismy ovlivňují cyklus půdní organické hmoty nejen přes dekompozici, ale že přispívají k celkové bilanci půdní organické hmoty také produkcí vlastních metabolitů a nakonec biomasou jejich odumřelých buněk. Sledujeme-li rozklad hrubých částí odumřelých rostlinných a živočišných organismů, tedy detritu, který se dostává na půdu či do půdy, zjistíme, že je okamžitě kolonizován celou řadou mikroorganismů. Současně může být mechanicky rozměňován skupinou drobných půdních živočichů, tedy detritofágů (např. brouci, roztoči, mnohonožky, žížaly), pro něž je detrit potravou a teprve rozmělněný detrit společně s kořenovými exsudáty je dále rozkládán mikroedafonem, tedy především houbami a bakteriemi. Tato fáze rozkladu začíná za pomoci výše zmíněných mikroorganismů již v trávicím traktu detritofágů. V první fázi jsou rozkládány nejsnadněji rozložitelné organické látky a je doprovázena nárůstem počtů mikroorganismů a jejich biomasy. V menší míře dochází současně k rozkladu obtížněji rozložitelných látek z dodané biomasy a rovněž z původní půdní organické hmoty. Po vyčerpání snadněji rozložitelných organických látek začne množství i aktivita mikroorganismů klesat. Látky z odumírajících buněk mikroorganismů jsou však ihned využívány jinými mikroorganismy a tyto procesy jsou rovněž doprovázeny uvolňováním CO₂ a dalších metabolitů. **Role půdní bioty při dekompozičních procesech je tedy zásadní.**

Imobilizace je i v půdě probíhající proces, kdy je oproti mineralizaci část minerálních živin včleněna při syntetických biochemických přeměnách do organické hmoty, např. při růstu zelených rostlin, ale stejně tak i při příjmu živin mikroorganismy a tvorbě jejich biomasy. Jedná se tedy o opak mineralizace. Za určitých podmínek může imobilizace živin mikroorganismy působit negativně, kdy v některých obdobích může docházet ke konkurenci s rostlinami o některé živiny, např. při zapravení organické hmoty s širokým poměrem C : N mohou mikroorganismy dočasně vyvázat (imobilizovat) přístupný dusík z půdního roztoku, kde bude chybět rostlinám. Naopak pozitivně se projevuje v období vegetačního klidu po dobu malé aktivity rostlin či při jejich nepřítomnosti v agroekosystému, kdy může vlivem imobilizace mikroorganismy docházet k zadržení a stabilizaci dusíku i jiných živin v půdě. V biomase mikroorganismů může být v různých obdobích dočasně vázáno 5 až 15 % N, 1 až 3 % S, 2 až 5 % P z celkového množství v půdě.

Humifikace je děj, kdy dochází k neúplné mineralizaci původní organické hmoty za vzniku **humusových látek** (resyntéza a přeměna částečně rozložených organických látek). Na složité procesy vedoucí k syntéze humusových látek jsou různé názory a existuje několik teorií jejich vzniku. V širším slova smyslu je humus tvořen zbytky rostlinných a živočišných

organismů v různém stupni rozkladu, které se nacházejí v půdě nebo jsou s půdou v různém stupni smíšené. Humus prochází neustálými změnami, jak v chemickém složení, tak po stránce vlastností v půdě. Jako vlastní humus lze označit látky, které kompletně prošly humifikačním procesem. Charakteristickým znakem humifikace je obohacení dusíkem. Obohacení humusových látek o dusík zároveň znamená relativní ochuzování o uhlík, uvolněný jako CO₂.

Tyto pochody probíhají buď uvnitř těl půdních organismů nebo působením exoenzymů mimo jejich těla. Tento proces probíhá přednostně za anaerobních podmínek a je ovlivňován biochemickou aktivitou v jedinečných prostředích zaživacích ústrojích půdních bezobratlých, v nichž jsou přijímané organické látky převážně rostlinného původu dokonale míseny s minerálním podílem a biochemicky pozměňovány na látky blízké vlastnímu humusu. Vně zaživacích traktů bezobratlých probíhá humifikace působením mikroorganismů optimálně spíše při periodickém ovlhčování a vysychání, při střídání anaerobiózy s aerobiózou.

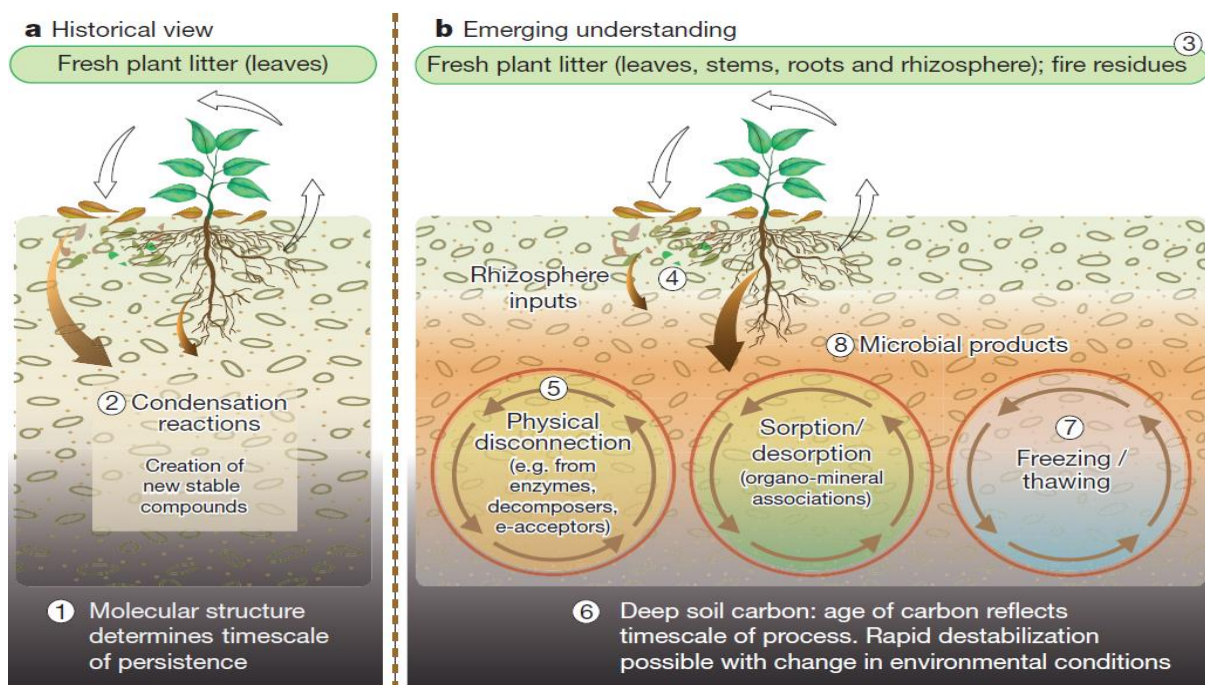
Humusové látky jsou vysokomolekulární substance světle až tmavě hnědé barvy kyselého, převážně koloidního charakteru, vysoké molekulové hmotnosti, relativně odolné vůči mikrobiálnímu rozkladu, které mají vhodné fyzikální a chemické vlastnosti pro půdu a život rostlin. Humusové látky jsou významné svou vysokou iontovou výměnou kapacitou, zlepšují retenci a akumulaci vody v půdě a také biologickou aktivitu, pórovitost a tepelný režim půdy. Humus je také dlouhodobým zásobníkem energie a živin pro půdní organismy. Kromě humusových látek je určitá část půdní organické hmoty tvořena dalšími látkami, z nichž převládají polysacharidy. Ty mají také velký význam při tvorbě půdních agregátů. Mimo polysacharidů sem patří i organické kyseliny, látky bílkovinné povahy a lipidy, všechny v různém stupni polymerizace. Doposud se mělo za to, jak je uváděno výše, že největší podíl humusových látek představují velké komplexní makromolekuly, které také měly tvořit největší a nejstabilnější frakci půdní organické hmoty. Nicméně nyní se usuzuje, že tyto sloučeniny představují pouze menší část celkové organické hmoty. Větší část je představována nejrůznějšími produkty depolymerizačních reakcí, mikrobiálními metabolity, meziprodukty mikrobiálně katalyzovaných syntetických procesů apod., které jsou poutány slabými nekovalentními vazbami (např. van der Waalsovy síly a vodíkové můstky) a které se společně s jílovitými minerály spontánně shlukují do supramolekulárních útvarů, tvořících organominerální sorpční komplex, ve kterém jsou zadržovány a selektivně vyměňovány a uvolňovány kationty biogenních prvků pro kořeny rostlin a další půdní organismy.

V půdě může být také určitá část uhlíku vázána v podobě tzv. uhlí či uhlu, vzniklého při požárech porostů, na vyvíjejících se půdách během půdotvorných procesů a tato frakce může

tvorit lokálně až 40 % půdní organické hmoty. Udává se, že má ze všech látek organického původu nejdelší dobu perzistence, delší než nejstabilnější humusové látky. Obecně se uvádí, že podíl humusu v našich orných půdách je zhruba 1,8 až 2,2 %.

Mineralizace a humifikace organické hmoty probíhá poměrně rychle, její rychlost však může být rozdílná a může záviset především na množství edafonu a jeho aktivitě, která je zase závislá na aktivitě rostlin (produkce kořenových exsudátů), na přístupu vzduchu, teplotě půdy a půdní vlhkosti (klíma), půdní kyselosti a obsahu dalších biogenních živin v matečné hornině, ale i na kvalitě, struktuře, chemickém složení a množství výchozího organického materiálu v půdě (opad, exsudáty). Rostlinná biomasa, která tvoří důležitou složku organické hmoty vstupující do půdy, obsahuje 60 až 90 % vody, sušina je tvořena především uhlíkem (do 50 %), kyslíkem, vodíkem a dalšími biogenními prvky (především N, S, P, K, Ca, Mg aj.). V rostlinné biomase je velké množství různých organických látek. Dle dosavadních šetření je největší kompetiční zájem mikroorganismů o nejsnadněji rozložitelné látky, jako jsou jednoduché cukry a škrob, o něco hůře jsou rozkládány bílkoviny a ještě obtížněji celulóza a hemicelulóza. Velmi těžce se rozkládají tuky a vosky a nejhůře lignin. Tyto stávající zjištění však jistou měrou relativizují nové poznatky získané moderními metodami, které nekladou takový důraz a význam na molekulární složení a složitosti výchozího organického materiálu (obr. 6). Ukazuje se tak například, že některé jednodušší cukry mohou v půdě perzistovat několikanásobně déle než například lignin. Rychlost rozkladu tak spíše výrazněji ovlivňuje půdní biota a její enzymatická aktivita, spojená například s mikroklimatickými podmínkami. Důležitou roli při rozkladu a jeho rychlosti má obsah dusíku a jeho poměr k obsahu uhlíku v rozkládané organické hmotě (C : N). Půdní mikroorganismy potřebují pro tvorbu biomasy vyrovnanou výživu a určitý poměr živin. Poměr C : N se u rostlinných zbytků pohybuje průměrně kolem 40 : 1, u slámy 100 : 1 a u dřeva až 600 : 1. Poměr, v jakém se váže uhlík k dusíku v biomase mikroorganismů je zhruba 4 : 1 v případě bakterií a 9 : 1 u mikromycet. V podobném poměru by měly být tyto živiny i v odumřelé biomase. Jelikož však jen 1/3 přijatého uhlíku je mikroorganismy zabudována do mikrobiální biomasy a zbývající 2/3 jsou při procesu dýchání či fermentace využity k získání energie a uvolněny ve formě CO₂, mikroorganismy musí mít k dispozici zhruba 24 krát více uhlíku než dusíku v „konzumované“ rozkládané organické hmotě. To znamená, že ideální biomasa má mít zhruba poměr **C : N = 25 : 1**, aby jeho konzumace a rozklad mikroorganismy probíhal dobře, při tomto poměru probíhá rozklad nejrychleji. Pokud má výchozí substrát úzký poměr C : N probíhá rozklad rychle. Mikroorganismy však

nevyužijí všechny dusík. Ten se potom uvolňuje do prostředí jako kationt NH_4^+ . Zde je k dispozici jiným mikroorganismům a rostlinám. Hovoříme o **čisté mineralizaci N**. Na mineralizaci, která uvolňuje dusík většinou ve formě amonných iontů, navazují další přeměny dusíku, nitrifikace a denitrifikace. Po vnesení rostlinného materiálu do půdy je poměr C : N zpočátku vysoký, avšak po čase se obvykle rychle snižuje. V průběhu rozkladu se většina uhlíku uvolňuje ve formě CO_2 , avšak většina dusíku v půdě zůstává. Proto také klesá poměr C : N v rozkládaném materiálu, nicméně současně se mění kvalita rozkládaného materiálu, klesá jeho rozložitelnost. Poměr C : N se může stát limitujícím faktorem rychlosti mineralizace organické hmoty půdním edafonem.



Obr 6 Srovnání dřívějšího (a) a nového pohledu (b) na původ a setrvání organické hmoty v půdě. Vstup organických látek ve formě kořenových exsudátů a odumřelých kořenů tvoří významnější přísun uhlíku do půdní organické hmoty, než z opadu tvořeného z nadzemních odumřelých částí rostlin. Půdní organická hmota tvoří spíše látky částečně rozložené a mikrobiální produkty včetně zbytků po požárech (podle Schmidta, 2011).

Pakliže opadu přibývá v ekosystému rychleji, než se rozkládá, organické hmoty v půdě přibývá. Ve většině pozemských ekosystémů je však přírůstek i úbytek zhruba v rovnováze. Určitý obsah organické hmoty v půdě je pro dobrou funkci nezbytný, tedy i k pěstování

rostlin. Záleží na složení organické hmoty a na vzájemné souhře všech ostatních fyzikálních, chemických a biologických vlastností půdy. Organická hmota ovlivňuje jak fyzikální, tak chemické vlastnosti půd mnohem více, než by odpovídalo jejímu relativně nízkému obsahu v půdě. Ztráta organického uhlíku obsaženého v půdě může omezit schopnost půdy poskytovat živiny důležité pro udržitelnou rostlinnou výrobu, méně organického uhlíku znamená také méně potravy pro živé organismy vyskytující se v půdě. Kvalita a obsah půdní organické hmoty také zásadně ovlivňuje zadržování živin a stabilitu půdních agregátů; snižování jejího obsahu zhoršuje vodní infiltrační kapacitu půdy. Úbytek půdní organické hmoty vede tedy k **degradaci půdy**.

Zásobu půdní organické hmoty, její mineralizaci či perzistenci neovlivňují tolik vnitřní vlastnosti organické hmoty samotné (chemické složení), ale spíše faktory biotické a abiotické panující na konkrétním stanovišti. Jde tedy o fyziologickou aktivitu edafonu a mikroklimatický stav okolního prostředí, především teplotu, srážky, zrnitost půdy a přítomnost kyslíku. Kultivace půdy, ovlivňující tyto faktory, především množství a aktivitu půdních organismů, tak může výrazně ovlivnit obsah organické hmoty, což je nejvíce patrné u půd vyvinutých na přirozených ekosystémech, které se začnou obdělávat. Počáteční obvykle vysoký obsah organické hmoty se v těchto půdách začne rychle snižovat. Například v severní Americe uvolnila přeměna původních prérií na zemědělské půdy za posledních 150 let 30 až 50 % zásob půdní organické hmoty. Za posledních padesát let se v půdách mírného pásu v důsledku kultivace snížil obsah uhlíku v organických látkách o 20 až 40 %. Správná agrotechnika by měla tedy směřovat k tomu, aby se alespoň zachoval obsah organické hmoty, lépe však k tomu aby se zvyšoval její obsah, především dodáváním organických látek do půdy (zelené hnojení, organická hnojiva, komposty, případně tzv. biouhel). Aktivitu půdních biot a tvorbu půdní organické hmoty může pozitivně ovlivnit produkce uhlíkem bohatých kořenových exsudátů jak hlavní plodiny, tak meziplodin. Produkce tohoto uhlíkatého substrátu je však výrazně omezována vlivem hnojení průmyslovými hnojivými. Rostliny nejsou nuceny v bohatě živinami zásobené půdě k tvorbě větší biomasy kořenů spojenou i s vyšší produkcí kořenových exsudátů.

Na závěr můžeme konstatovat, že kvalita a množství organické půdní hmoty, jež má nesporný význam pro půdní úrodnost a zásobení rostlin živinami, pro kvalitní půdní strukturu spojenou s lepší retenční schopností srážkové vody a ochranu před erozí, je neoddelitelně spjatá s množstvím a fyziologickou aktivitou půdní bioty. Uchovat, chránit a podporovat tuto obrovskou genetickou informační diverzitu půdních organismů, která je zárukou transformací organických látek a toků energií, by tak měla být prioritou lidské populace. Je-li totiž půda

prostředkem k uspokojování základní lidské potřeby – konzumace potravy, tak především proto, aby tuto potřebu mohli čerpat i generace následující.

3.3.4 Bioremediace

Vysoká variabilita půdních organismů (především mikroorganismů) a jejich rozličných metabolismů, především dekompozičních, poskytuje možnost využití autochtonních mikroorganismů při odstraňování toxických či jinak škodlivých látek (které jsou často antropogenního původu) z životního prostředí. Těmto procesům využitelným a probíhajícím i v půdě, kdy dochází k transformaci, rozkladu nebo imobilizaci polutantu pomocí mikroorganismů, říkáme **bioremediace**. Tohoto procesu je využíváno k transformaci těžkých kovů v půdě, rozkladu či k inaktivaci různých cizorodých látek v půdě (například pesticidů, kterých se celosvětově spotřebuje okolo 1 000 000 t . rok⁻¹, polutantů z průmyslové činnosti či automobilového provozu, aromatických uhlovodíků, ropných látek atd.).

Aby tyto procesy v půdě probíhaly, musí být látka v půdě pro mikroorganismy v přijatelné formě a fyzicky dostupná (rozpuštěná ve vodě, nesorbovaná na půdní částice atd.) a v určité koncentraci. Příslušné mikroorganismy musí být přítomny v místě kontaminace a vybaveny určitými enzymy, dále zde musí být příhodné klimatické podmínky (teplota atd.). Schopnost metabolizovat xenobiotika má velké množství bakterií, aktinomycet, mikromycet, případně i řas. Mikroorganismy mohou využívat xenobiotika jako zdroj uhlíku, dusíku či jiných živin a energie pro růst své biomasy. Z řad bakterií s biodegradačním potenciálem jsou to především rody *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Acaligenes*, *Deinococcus*, *Desulfomonile*, ale i zástupci mikromycet rodů *Candida*, *Trichoderma*, *Penicilium*, *Aspergillus*, *Pleurotus*.

4 KOLOBĚHY ŽIVIN A ÚLOHA MIKROORGANISMŮ V NICH

Koloběh hmoty (prvků) a energie je nezbytným předpokladem pro vývoj a existenci všech živých organismů včetně člověka. Zajímáme-li se o přeměny látek a prvků v půdě a litosféře, v atmosféře a vodě, zahrnující chemické, fyzikální a biologické procesy vzájemných výměn a přeměn mezi živým (biosférou) a neživým prostředím, můžeme hovořit o tzv. **biogeochemických cyklech** prvků (živin) či molekul v ekosystému. Tento představuje soubor reakcí, kterými je prvek nebo sloučenina transformován a transportován v určitém ekosystému včetně jeho přechodů mezi pevnou, kapalnou a plynnou fází.

Autotrofní organismy (primární producenti – fotoautotrofové a chemoautotrofové) syntetizují z jednoduchých anorganických složek ekosystému látky organické, které jsou nezbytnými živinami pro heterotrofní organismy včetně člověka (sekundární producenti). Po odumření podléhají těla všech organismů rozkladným, tedy dekompozičním procesům uskutečňovaným mikroorganismy, kdy dochází k opětovným přeměnám organických látek v minerální, jde tedy o mineralizaci, kdy jsou z těl organismů uvolňovány tyto jednoduché minerální látky k využití autotrofním organismům k tvorbě látek organických a koloběh hmoty tak pokračuje. Dochází zde k naplňování biblického „prach jsi a v prach se obrátíš“.

Obecně můžeme označit rozklad za enzymatickou oxidaci, kdy se z těchto látek za spotřebování kyslíku v řadě mezireakcí uvolňuje energie, CO₂, voda a minerální formy biogenních prvků: NH₃, ionty K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, SO₄²⁻, H₂PO₄⁻ a dalších biogenních prvků asimilovatelných rostlinami a jinými autotrofy.

V dalším textu se seznámíme podrobněji jen s koloběhy několika nejdůležitějších biogenních prvků. Dobrá znalost těchto cyklů, jednotlivých komponent (prvků) v globálním měřítku by měla vést k lepšímu, ale opatrnému rozhodování o záměrném ovlivňování procesů přeměn látek na úrovni jednotlivých suchozemských i vodních ekosystémů včetně agroekosystémů, tedy i na zemědělské půdě.

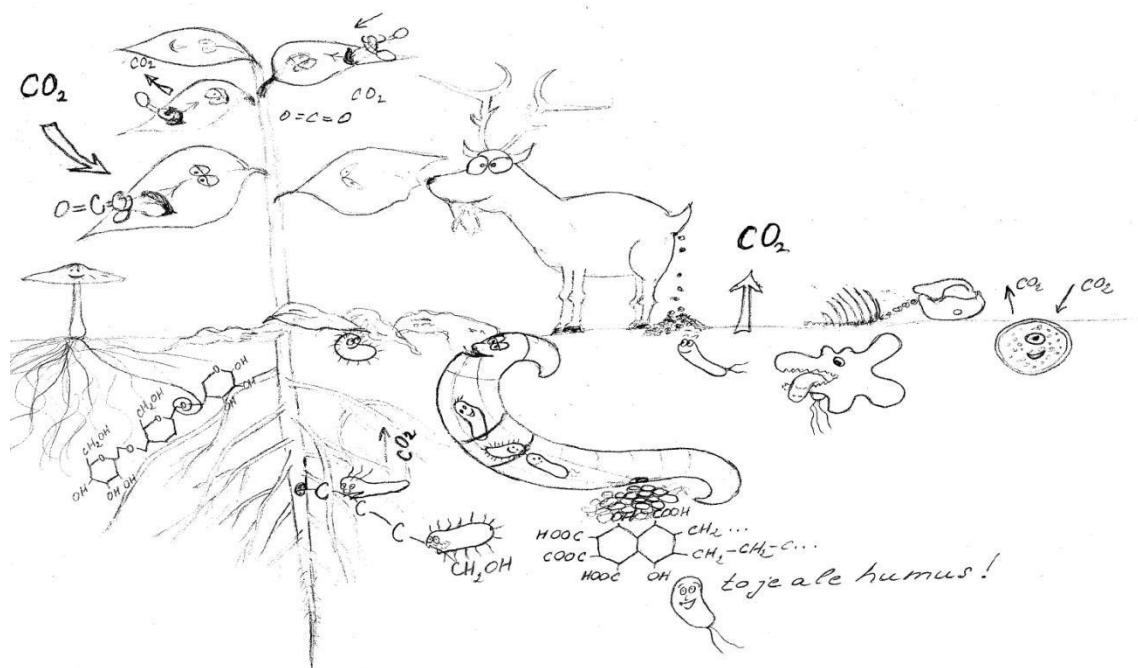
4.1 Koloběh uhlíku

Uhlík, jehož můžeme označit jako „démant“ mezi prvky (i diamant je jednou z forem čistého uhlíku) a to ne z důvodu toho, že je tak vzácný, ale tak cenný, je základním stavebním kamenem všech organických látek (uhlovodíků) a tudíž také všech doposud ve vesmíru známých organismů, je tedy nejvýznamnějším biogenním prvkem. Ve známém vesmíru je pátým nejhojnějším prvkem, na naší Zemi jedenáctým v pořadí. Nejdůležitější pro celou biosféru je koloběh uhlíku, který je neoddelitelně spojen s koloběhem vody a ostatních živin, s produkcí biomasy v suchozemských i oceánských ekosystémech, ale i s podnebím.

Nejdůležitějšími zásobníky uhlíku (4 základní) jsou na naší planetě **atmosféra**, kde je především v plynné formě jako CO₂, CH₄ a CO, dále je to **oceán**, kde je rozpuštěn ve formě CO₂ (zde ho může být až třikrát více jako celkového množství CO₂ v atmosféře) a ve formě uhličitanů. Dalším zásobníkem je **litosféra** zahrnující hlavně uhličitanu, zde se vyskytuje též jako prvek a můžeme ho najít také v ložiscích fosilních paliv. Největším rezervoárem organicky vázaného uhlíku (**biosféra**) je detrit, tedy odumřelé organismy a jejich části jak v oceánech, tak na povrchu a v půdě, kde najdeme také tzv. humusové látky. Neopominutelná

část organického uhlíku je samozřejmě v tělech živých organismů, tedy mikroorganismů, živočichů a rostlin.

Jednou z nejvýznamnějších složek cyklu uhlíku je **oxid uhličitý**. Uhlík v něm obsažený v procesu fotosyntézy přeměňují autotrofní zelené rostliny, ale také další autotrofní mikroorganismy v celou řadu více či méně složitých organických látek, především cukrů, bílkovin a tuků. Část těchto látek využívají samotní autotrofové, převážně rostliny, pro získávání energie v nich uložené a uvolňují přitom oxid uhličitý do vzduchu při procesu dýchání. Čistý příjem CO_2 autotrofy je okamžitou bilancí asimilačních a disimilačních procesů. Kdyby nedocházelo k opětovné mineralizaci autotrofové by spotřebovaly zásobu atmosférického CO_2 zhruba za 30 let. Rostlinnou biomasu a organické látky v ní spotřebovávají a využívají v pastevně kořistnickém potravním řetězci živočichové včetně člověka. Tyto látky využívají ke stavbě svých buněk a těl a k získávání energie v nich obsažené při dýchání, kdy se opět uvolňuje oxid uhličitý do vzduchu. Nevyužitá část organických látek odchází ve formě exkrementů a nakonec také všechna odumřelá těla všech organismů do detritového dekompozičního řetězce, kde mikroorganismy mineralizují uhlíkaté organické látky na vodu a CO_2 , který se uvolňuje do atmosféry, čímž se zjednodušeně koloběh uzavírá. Na globální produkci CO_2 uvolňující se do atmosféry se podílí nejvíce mikroorganismy (téměř 80 %), zhruba 15 % vyprodukuje rostliny a živočichové asi 5 %. Zjednodušené schéma koloběhu uhlíku v terestrickém ekosystému je znázorněno na obrázku 7. Podobně s určitými modifikacemi probíhá koloběh i ve vodních ekosystémech.



Obr. 7 Zjednodušené, dětskou rukou zachycené znázornění terestrického koloběhu uhlíku

V dekompozičních procesech odehrávajících se v **půdě** vzniká transformací organických látek obsažených v odumřelých zbytcích při procesu neúplné mineralizace **humus**. V něm i v jiných formách půdní organické hmoty může být uhlík v půdě dočasně zadržován, ovšem i tento je později rozložen a uvolněn ve formě oxidu uhličitého do ovzduší. Na druhé straně také člověk přispívá **spalováním fosilních paliv** k přísunu CO₂ do atmosféry.

Globální koloběh uhlíku pohánějí dva protikladné procesy, **fotosyntéza** a **respirace**. Rychlost obratu uhlíku v terestrických ekosystémech je tedy určována především rychlostí fotosyntetického příjmu oxidu uhličitého primárními producenty ze vzduchu, dále dobou setrvání uhlíku ve vytvořených organických látkách, dobou setrvání opadu odumřelých částí rostlin, popř. v detritu a tím také rychlostí jejich rozkladu, popř. dobou setrvání ve formě humusu. Cyklus uhlíku je tak spojen bezprostředně s průběhem detritového a pastevně-kořistnického potravního řetězce. Primární produkce a rovněž její rozklad jsou závislé na stanovištních podmínkách. Proto je rychlost obratu uhlíku určována v podstatě klimatickými podmínkami. Z hlediska globálního můžeme stanovit rozdíly v průběhu cyklu uhlíku v jednotlivých typech makroklimatu, tj. v jednotlivých biomech na Zemi. Samozřejmě důležitou roli v koloběhu uhlíku mají také ekosystémy oceánů, kde se uhlík vyskytuje především ve čtyřech formách – rozpuštěný anorganický uhlík (CO₂, uhličitany), rozpuštěný organický uhlík, organický uhlík v detritu a organický C vázaný v tělech živých organismů. Množství CO₂ v atmosféře může být výrazně ovlivňováno vázáním CO₂ na rozpuštěné hydrogenkarbonáty a zpětným uvolňováním CO₂ opětovnou přeměnou hydrogenkarbonátů v karbonáty vlivem změn parciálního tlaku nad hladinou oceánů.

4.1.1 Uhlík v půdě

Podle současného stavu poznání je ve velké většině suchozemských ekosystémů průběh biogeochemických cyklů prvků zásadně ovlivňován půdně-biologickými procesy. Živiny v suchozemském ekosystému přechází mezi třemi hlavními zásobníky, kterými jsou: anorganický rezervoár zahrnující půdu, půdní minerály, půdní roztok a půdní vzduch, dále organický rezervoár, tvořený jednak všemi živými organismy zahrnující rostliny, živočichy a mikroorganismy a jednak organickými zbytky odumřelých organismů a humusovými látkami. V půdě je akumulováno obrovské množství organického, ale i anorganického uhlíku (především v uhličitanech), jehož množství je zhruba třikrát větší než množství uhlíku obsažené v biomase rostlin a živočichů a asi dvakrát více než uhlíku nacházejícího se v atmosféře. Uvádí se, že v Evropě je v půdě deponováno kolem 75 miliard tun organického uhlíku. **Půdní organická hmota** je tvořena směsí odumřelých či shořených zbytků rostlin

a živočichů v různém stádiu rozkladu, humusem vzniklým mikrobiálními a biosyntetickými procesy z meziproductů rozkladu organických zbytků a dále živými i odumřelými buňkami půdních mikroorganismů a živočichů. Množství organické hmoty je v různých typech půd různé a obecně se snižuje její množství s hloubkou. Můžeme říci, že tvoří zhruba 6 % z celkové hmotnosti půdy, zbytek tvoří minerální podíl. Z tohoto množství celkové organické hmoty připadá na živou složku zhruba 10 až 15 %. Z toho připadá něco přes polovinu na biomasu kořenů a zbytek tvoří půdní mikroorganismy a živočichové tvořící společně tzv. edafon. Pro většinu půdních mikroorganismů je organická hmota hlavním zdrojem energie a živin. Mezi primární zdroje půdní organické hmoty patří různé části rostlin včetně kořenů a jejich výměšků (exsudátů). Toto platí především v přirozených ekosystémech. V agroekosystémech je část rostlinné produkce odnímána člověkem při sběru úrody, avšak i zde zůstává po sklizni desetina až třetina nadzemních částí a téměř celá biomasa kořenů, takzvaných posklizňových zbytků. Do agroekosystémů je také vnášena upravená biomasa rostlin ze vzdálených zdrojů, jakou je např. chlévský hnůj, kompost a jiné organické materiály. Dalším primárním zdrojem organických látek jsou autotrofní mikroorganismy, jejichž význam je klíčový na počátku vzniku půdy a v začátcích biologické sukcese. Sekundárními zdroji organické hmoty jsou živočichové, živící se převážně rostlinnou biomasou a produkující exkrementy. Po odumření se dostanou do půdy i jejich těla. Množství organických látek vstupujících do půdy je různé a závisí zvláště na klimatických podmínkách a vegetaci. Například v travinných ekosystémech přechází do půdy k dekompozici až 90 % nadzemní produkce.

Celkem dobře je znám přísun nadzemní odumřelé hmoty do půdy, méně je známo o tocích organických látek do půdy s produkcí kořenových exsudátů a odumřelých kořenů. Dřívější poznatky a představy byly založeny na tom, že původ organické hmoty, respektive její trvalejší část, má původ především v opadu rostlinných zbytků pocházející z nadzemních částí rostlin obsahující celou řadu látek se složitou molekulární strukturou. Podle novějších poznatků sehrává větší roli uhlík uvolňující se z odumírajících částí i aktivních částí kořenů, kdy původ uhlíku v organické půdní hmotě včetně houbových hyf v půdě pochází z větší části právě z kořenů a jejich exsudátů. Nejdůležitějšími složkami vysokomolekulárních exsudátů jsou ektoenzymy a vrstva slizu na kořenové špičce (mucilag), z nízkomolekulární frakce jsou to organické kyseliny, cukry, fenoly a aminokyseliny. Uvolňování uhlíku z kořenů, nazývané také rhizodepozice, je velice proměnlivé a závisí na celé řadě okolností. Je to především fyziologický stav kořenů (druh rostliny, stáří kořenů), stav půdy, jako je zasolení, pH, teplota půdy, půdní druh a přítomnost živin. Nedostatek živin zvyšuje produkci exsudátů, čímž

rostlina podporuje aktivitu půdních mikroorganismů vedoucí ve svém důsledku k vyššímu zpřístupnění chybějících živin mikroorganismy rostlině. Obecně se uvádí, že se takto do půdy dostává asi 20 až 40 %, někdy až 60 % uhlíku fixovaného fotosyntézou.

Celkový roční přísun uhlíku v organické hmotě vstupující do půdy ze všech zdrojů tak může činit podle různých ekosystémů od 0,1 do 15 t . ha⁻¹. Tato půdní organická hmota se stává předmětem zájmů půdních mikroorganismů, které ji začínají rozkládat. Rozklad (disimilace) neboli dekompozice organických látek je stejně důležitý pro život organismů v ekosystému celé planety jako tvorba organických látek z látek minerálních primárními producenty (asimilace). Půdní organická hmota je obrovskou zásobárnou energie a živin. Půdní rozkladači jsou schopni velice účinně tuto energii organických molekul získávat a přeměnit ji až na jednoduché anorganické látky, které zčásti využijí pro stavbu svých buněk a část minerálních látek zpřístupní zpět autotrofům, hlavně rostlinám. Proces, kdy dochází k úplnému rozkladu (enzymatická oxidace) organické hmoty na látky minerální, se nazývá **mineralizace** (podrobněji v předcházející kapitole). Nejrychleji je organická hmota mineralizována za maximálního přístupu vzduchu (za přítomnosti O₂ dochází k oxidaci) a uhlík se v tomto případě uvolňuje zpět ve formě CO₂. V anaerobních podmínkách (nedostatek kyslíku) probíhají rozklady odlišně a kromě CO₂ se uvolňuje uhlík do atmosféry ve formě metanu. Obecně se dá říci, že v půdách mineralizace vždy mnohonásobně převyšuje **humifikaci**, což je proces, kdy část organické hmoty je rozložena částečně a kdy dochází k resyntézám neúplně rozložených organických látek a přeměně na humusové látky relativně odolné rozkladu. Je třeba také připomenout, že půdní mikroorganismy ovlivňují cyklus půdní organické hmoty a tudíž i uhlíku nejen přes dekompozici, ale že přispívají k celkové bilanci půdní organické hmoty také produkcí vlastních metabolitů a nakonec biomasou jejich odumřelých buněk. Dostane-li se do půdy větší množství biomasy, dojde k jejímu rychlému osídlení mikroorganismy. Při první fázi jsou rozkládány nejsnadněji rozložitelné organické látky a je doprovázena nárůstem počtů mikroorganismů a jejich biomasy. V menší míře dochází současně k rozkladu obtížněji rozložitelných látek z dodané biomasy a rovněž z původní půdní organické hmoty. Jak bylo řečeno, větší část uhlíku původní rostlinné biomasy je v procesech rozkladu uvolněna ve formě CO₂, menší část může být vázána v biomase mikroorganismů (tzv. imobilizace) a část je rozložena částečně, kdy dochází k přeměně na humusové látky relativně odolné rozkladu. Jako vlastní humus lze označit látky, které kompletně prošly humifikačním procesem. Charakteristickým znakem humifikace je obohacení dusíkem. Obohacení humusových látek o dusík zároveň znamená relativní ochuzování o uhlík, uvolněný jako CO₂. Humusové látky jsou vysokomolekulární substance

světle až tmavě hnědé barvy kyselého charakteru, které mají vhodné fyzikální a chemické vlastnosti pro půdu a život rostlin. Kromě humusových látek je určitá část půdní organické hmoty tvořena dalšími látkami, z nichž převládají polysacharidy. Ty mají také velký význam při tvorbě půdních agregátů. Souhrnně jsou tyto látky významné svou vysokou výměnou kapacitou, zvyšují retenci a akumulaci vody v půdě a také biologickou aktivitu, pórovitost a tepelný režim půdy. V půdě může být také určitá část uhlíku vázána v podobě tzv. uhlí či uhlu, vzniklého při požárech porostů na vyvíjejících se půdách během půdotvorných procesů a tato frakce může tvořit lokálně až 40 % půdní organické hmoty.

Mineralizace a humifikace organické hmoty probíhá poměrně rychle, její rychlost však může být rozdílná a může záviset především na množství edafonu a jeho aktivitě, která je zase závislá na aktivitě rostlin (produkce kořenových exsudátů), na přístupu vzduchu, teplotě půdy a půdní vlhkosti (klíma), půdní kyselosti a obsahu dalších biogenních živin v matečné hornině, ale i na kvalitě, struktuře, chemickém složení a množství výchozího organického materiálu v půdě (opad, exsudáty). Rostlinná biomasa obsahuje 60 až 90 % vody, sušina je tvořena především uhlíkem (do 50 %), kyslíkem, vodíkem a dalšími biogenními prvky (především N, S, P, K, Ca, Mg aj.). V rostlinné biomase je velké množství různých organických látek. Dle dosavadních šetření je největší kompetiční zájem mikroorganismů o nejnepříjemnější rozložitelné látky, jako jsou jednoduché cukry a škrob. O něco hůře jsou rozkládány bílkoviny a ještě obtížněji celulóza a hemicelulóza. Velmi těžce se rozkládají tuky a vosky a nejhůř lignin. Tyto stávající zjištění však jistou měrou relativizují nové poznatky získané moderními metodami, které nekladou takový důraz a význam na molekulární složení a složitosti výchozího organického materiálu. Ukazuje se tak například, že některé jednodušší cukry mohou v půdě perzistovat několikanásobně déle než například lignin. Rychlost rozkladu tak spíše výrazněji ovlivňuje půdní biota a její enzymatická aktivita, spojená například s mikroklimatickými podmínkami.

Rozkladné procesy organických uhlíkatých látek jsou součástí katabolických procesů probíhajících ve všech živých systémech z důvodů získání energie a stavebních látek pro svá těla. Konkrétně se jedná o procesy rozkladu i syntézy organických uhlíkatých látek, kam patří především jednodušší i složitější cukry (polysacharidy), aminokyseliny, lipidy, uhlovodíky, lignin a další látky. Tyto pochody, které jsou součástí různých metabolických procesů (dýchání, fermentace, syntézy, asimilace), jsou nedílnou součástí koloběhu uhlíku i jiných prvků a jsou popsány v kapitole pojednávající o metabolismu mikroorganismů.

Koloběh uhlíku samozřejmě navazuje na koloběhy dalších prvků, především kyslíku, při určitých fázích například i dusíku. Důležitou roli má obsah dusíku a jeho poměr k obsahu

uhlíku v organické hmotě (C : N) při jejím rozkladu. V rostlinné biomase je tento poměr důležitý z hlediska průběhu a rychlosti rozkladu. Půdní mikroorganismy potřebují pro tvorbu biomasy vyrovnanou výživu a určitý poměr živin. Ideální biomasa má mít zhruba poměr **C : N = 25 : 1**, aby jeho konzumace a rozklad mikroorganismy probíhal dobře. Pokud má výchozí substrát úzký poměr C : N probíhá rozklad rychle. V rozkládaném materiálu klesá poměr C : N a současně se mění kvalita rozkládaného materiálu, klesá jeho rozložitelnost. Poměr C : N se může stát limitujícím faktorem rychlosti mineralizace organické hmoty a uvolňování CO₂ do atmosféry edafonem.

Pakliže opadu přibývá v ekosystému rychleji, než se rozkládá, organické hmoty v půdě přibývá, dochází k sekvestraci (zadržení) uhlíku. Naopak urychlením rozkladu organické hmoty samozřejmě ubývá. Ve většině přirozených pozemských ekosystémů je však přírůstek i úbytek zhruba v rovnováze. V agroekosystému (v našich podmínkách) je však organickou hmotu třeba dodávat k udržení obsahu organické hmoty zhruba ve výši 5 až 6 t . ha⁻¹. Vyšší teploty mohou přispívat k intenzivnějšímu rozkladu organických látek a tedy i k nižšímu obsahu půdní organické hmoty. A zde se můžeme setkávat s vlivem lidské činnosti na obsah půdní organické hmoty a potenciálně na globální koloběh uhlíku.

4.1.2 Vliv antropogenní činnosti na obsah půdní organické hmoty a globální koloběh uhlíku

Jak bylo uvedeno výše, primární produkce, určovaná mírou fotosyntézy a zpětné uvolňování uhlíku ve formě CO₂ do vzduchu, určované mírou respirace, má tendenci dostávat se po vychýlení určitým podnětem zpět do rovnováhy. Rovnováha mezi oběma procesy je dána obsahem CO₂ v atmosféře. Tato je však člověkem výrazně ovlivněna a množství CO₂, který patří ke skleníkovým plynům, vzrůstá. Mezi šesti nejdůležitějšími **skleníkovými plyny**, které se zúčastňují koloběhů a které mohou ovlivňovat klima, najdeme tedy také plyny obsahující uhlík, především se jedná o CO₂ a metan. Skleníkové plyny způsobují, zjednodušeně řečeno, že veškeré záření dopadající na zemský povrch ze Slunce není zpět beze zbytku vyzařeno ze Země do vesmíru, ale že je část tzv. skleníkovými plyny zadržena a vyzařována zpět k povrchu Země, čímž se udržuje na povrchu země a ve spodní vrstvě atmosféry vyšší teplota než ve volném vesmíru. I zde by však měla panovat určitá rovnováha. A tato je narušena vzrůstajícím množstvím skleníkových plynů, což vede ke zvyšování teploty na Zemi vedoucí k výrazným změnám klimatu (tzv. **globální klimatická změna**). Tato se projevuje vzrůstem počtu výskytu extrémních příhod klimatu, kam patří např. extrémní srážky spojené se záplavami nebo naopak delšími obdobími beze srážek, vedoucími k extrémnímu

suchu. Mezinárodní panel IPCC dospěl k názoru, že klimatická změna je s velkou pravděpodobností důsledkem zesíleného skleníkového efektu atmosféry se souvisejícími dopady na ekosystémy a biodiverzitu. Na zvyšujícím se množství některých plynů obsahujícím uhlík se tak podílí i činnost člověka. Například v období 1750 až 1984, tedy od dob průmyslové revoluce spojené se spalováním fosilních paliv vzrostla koncentrace CO₂ v atmosféře z přibližně 280 ppm na 345 ppm. Jeho koncentrace roste dodnes zhruba o 0,4 % ročně. K uvolňování CO₂ dochází také při odlesňování tropických pralesů a pálením dřeva, jež je s tím spojeno. Při následné zemědělské výrobě na těchto půdách klesá obsah uhlíku v půdě rozkladem organické hmoty a erozí. Člověk uvolní do atmosféry zhruba 6 miliard t . rok⁻¹ spalováním fosilních paliv a kolem 2 miliard t . rok⁻¹ odlesňováním.

V důsledku těchto změn nás nepřekvapí změna v růstu rostlin, ale většinou už nedomýšlíme také změny ve spotřebě vody rostlinami až po zvýšení či pokles relativní vzdušné vlhkosti, oblačnosti a srážek. A jen málokoho napadne uvažovat o změně aktivity půdních mikrobů, což se může projevit změnou dostupnosti minerálních živin. V řadě případů tak již bylo prokázáno, že na změny klimatu nepřímo reagují půdní organismy změnou svého druhového i početního zastoupení. Půdní organismy představují důležitý spojovací článek také mezi rostlinným opadem a dostupností živin pro rostliny. Lze tedy předpokládat, že faktory, které ovlivňují množství a kvalitu tohoto opadu, budou mít v návaznosti vliv nejen na koloběh minerálních živin, ale i na jejich dostupnost rostlinám. Je tedy důležité studovat mnohem podrobněji než dosud význam druhové diverzity půdních organismů na procesy v příslušném ekosystému. Při hodnocení podílu půdy na změnách jednotlivých ekosystémů tak náleží prvořadá role biodiverzité půdních organismů. Ty se, jak známo, podílejí především na zajištění koloběhu jednotlivých živin. Půdní organismy mohou na změny koncentrace atmosférického CO₂ reagovat nepřímo přes změny v růstu kořenů a tudíž přes změny v uvolňování exsudátů do půdy. Takto iniciovaná změna počtu, složení a aktivity půdních organismů se následně projeví změnami samotné struktury půdy a rychlosti dekompozice. V současné době obsahuje organická hmota v půdě přibližně dvojnásobek uhlíku, který je ve formě CO₂ obsažen v atmosféře. Jsou určité předpoklady, že rychlost rozkladu bude se zvyšováním teploty stoupat více než rychlost primární produkce. Tak by docházelo k úbytku obsahu C v půdách a jeho uvolněním by bylo zrychleno i zvyšování obsahu CO₂ v atmosféře a s tím spojené další změny. Ovšem objevuje se možnost, že zvýšená depozice rostlinných asimilátů v podzemních orgánech může být předpokladem k tomu, aby příslušný porost působil jako úložiště, neboli sink pro uhlík, tedy proces, který může pomoci naopak uhlík z atmosféry odčerpávat. A k tomu by mohl přispět šetrný a promyšlený způsob

obhospodařování zemědělských půd. Rychlejší rozklad a tedy úbytek organické hmoty lze zpomalit využitím bezorebných systémů zpracování půdy a mulčováním, což také může vést opětovnému zvyšování obsahu organické hmoty. Zlepšené zemědělské postupy by mohly obnovit ukládání organické hmoty v půdě a tím odčerpat miliardy tun atmosférického oxidu uhličitého.

Lze tedy říci, že množství organické hmoty v půdě a uhlík v něm jsou velmi důležité jak pro půdní úrodnost, tak mohou ovlivňovat prostřednictvím půdních organismů i globální koloběh uhlíku na planetě. Ztráta organického uhlíku obsaženého v půdě může omezit schopnost půdy poskytovat živiny důležité pro udržitelnou rostlinnou výrobu, méně organického uhlíku znamená také méně potravy pro živé organismy vyskytující se v půdě.

4.2 Koloběh dusíku

Dusík je s dalšími biogenními prvky (C, O, H) základním stavebním kamenem všech organismů. Jako součást důležitých biomolekul jako jsou aminokyseliny a tedy i bílkoviny, nukleové kyseliny, chlorofyl, peptidoglykan atd., je stejně důležitý jako uhlík pro syntézu uhlovodíků a pro život tudíž nepostradatelný. Jeho dostupnost (spolu s fosforem) limituje produkci ekosystémů ze všech bioelementů nejčastěji, nyní především v přirozených ekosystémech.

Přes 98 % veškerého dusíku na Zemi je v litosféře, tento se však biogeochemického koloběhu téměř nezúčastňuje. Největším rezervoárem a zdrojem přístupného dusíku pro organismy je tak atmosféra, ve které je ho obsaženo 78 %, ovšem v rostlinám nepřístupné formě N_2 . Tuto formu dusíku jsou ovšem schopni přijímat a také předávat k využití dalším organismům v koloběhu na této planetě, jen některé prokaryotické mikroorganismy. Vyšší rostliny jej přijímají ve formě nitritů, nitrátů (oxidovaná forma) a amonných iontů. Živočichové jej přijímají zprostředkovaně přes autotrofní rostliny především jako bílkoviny v potravě. Veškerý dusík asimilovaný v tělech všech organismů je opět mineralizován a znovu zpřístupňován autotrofním organismům nebo se vrací zpět do atmosféry. Tím je zjednodušeně koloběh uzavřen.

Hlavní přesuny v globálním cyklu dusíku se uskutečňují mezi litosférou, pedosférou, atmosférou a hydrosférou. Tyto procesy vnitřních přeměn v jednotlivých ekosystémech se v zásadě neliší a můžeme je najít jak v terestrických ekosystémech (půda), tak i v hydrosféře (oceány). A všude v tomto složitém a jedinečném koloběhu sehrávají klíčovou roli mikroorganismy. Dále se budeme zaměřovat především na terestrický ekosystém.

Hlavním zdrojem dusíku v půdě je především **biologická asimilace (fixace) vzdušného N₂**. Pro přirozené ekosystémy je největším zdrojem dusíku, při globální bilanci je to třicetkrát více oproti vymývání z atmosféry a spadu. Další cestu můžeme považovat tzv. **nebiologickou fixaci dusíku**, tedy vznik oxidů dusíku při elektrických výbojích v bouřkách nebo fotochemických reakcích (sluneční záření) s následnou atmosférickou oxidací na kyselinu dusičnou, která se společně s amonnou formou dusíku dostává do půdy spolu s deštěm. K tomuto výrazně přispívá svou činností i člověk prostřednictvím automobilové dopravy a spalování fosilních paliv, čímž produkuje velké množství oxidu dusíku. Těmto zdrojům říkáme **mokrý a suchý spad**. Tento spad může činit 5 až 50 kg N na hektar, v průmyslových oblastech i více. Třetím zdrojem dusíku je **dusík obsažený v půdě**. Zde dochází k mineralizaci organické hmoty v půdě obsažené a je jejím vnitřním zdrojem. Dusík poutaný organickou půdní složkou je v některých případech velice stabilní, je vázán stovky nebo i tisíce let. V půdě tvoří dusík 0,1 až 0,15 % hmotnosti půdy, což může činit v orných půdách 3,5 t N · ha⁻¹. Z tohoto množství asi 0,5 až 5 % připadá na anorganický dusík a 95 až 99,5 % na dusík organický. Posledním a pro agroekosystémy často hlavním zdrojem je **hnojení**, jak organickými tak anorganickými hnojivy. V Evropě se dodává zhruba 80 až 150 kg N · ha⁻¹ za rok. Člověk získává umělá hnojiva **průmyslovou fixací**, což je syntéza amoniaku ze vzdušného dusíku N₂ a H₂ za vysoké teploty (450 °C) a tlaku 20 MPa. Z takto vyrobeného amoniaku se vyrábí celá řada dusíkatých hnojiv. V globální bilanci může tato cesta (hnojení strojenými hnojivy) přinášet do ekosystému až polovinu toho, kolik se dostane dusíku do systému biologickou fixací.

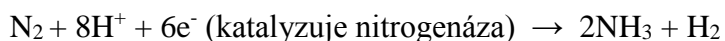
Procesy probíhající v cyklu dusíku můžeme rozdělit na **procesy asimilační**, kdy dochází k vázání atmosférického dusíku (biologická sorpce) a vzniku organických dusíkatých látek včetně imobilizace, dále **procesy mineralizační**, kdy dochází k mineralizaci organických látek, se kterými jsou svázány i **přeměny minerálních sloučenin** (nitrifikace a denitrifikace) (obr. 8).

4.2.1 Biologická fixace molekulárního dusíku

Obecně se předpokládá, že naprostá většina dusíku dnes vázaného v celkové biomase organismů, v odumřelé organické hmotě, v humusových látkách v půdě, ale i v nerostech organického původu (uhlí, rašelina, živce), byla v minulosti fixována z atmosféry procesem biologické fixace molekulárního dusíku. I v současné době je **biologická fixace molekulárního dusíku** hlavním zdrojem dusíku jako živiny rostlin a mikroorganismů v mnoha přirozených i polopřirozených ekosystémech a vedle syntetických hnojiv je stále

významným zdrojem dusíku i v agrosystémech. Dá se proto říci, že **biologické vázání N₂** je **druhým nejvýznamnějším biologickým procesem po fotosyntéze**. Atmosferický molekulový dusík N₂ je chemicky mimořádně nereaktivní a je nevhodný jako živina pro většinu organismů. Je tak jediným významnějším přirozeným procesem, kterým je pro organismy nedostupná forma N₂ převáděna na minerální formu dusíku, metabolizovatelnou všemi rostlinami a mikroorganismy.

Atomy molekuly dusíku jsou vázány třemi kovalentními vazbami, které jsou velmi silné a proto jsou molekuly N₂ inertní. Díky této silné trojně vazbě je redukce N₂ energeticky velmi náročná. Biologickou fixaci molekulárního dusíku mohou provádět pouze organismy vybavené příslušnými enzymy. Fixátoři N₂ jsou výlučně prokaryotické mikroorganismy, symbiotické nebo volně žijící a podle své schopnosti metabolizovat dvojjadrovou molekulu dusíku se nazývají **diazotrofové**. Právě u těchto mikroorganismů začíná spletitá cesta dusíku ekosystémem. Všichni diazotrofové pro fixaci N₂ využívají stejný nebo velice podobný enzymatický aparát, jehož centrální složkou je enzym **nitrogenáza**. Zjednodušenou reakci můžeme znázornit následovně:



Z velké energetické náročnosti redukce molekul N₂ vyplývá nutnost zajištění dostatečných zdrojů pro probíhající fixaci N₂ – na fixaci 1g N₂ potřebují fixátoři průměrně 67 g C ve vhodné formě. V půdě je to organická hmota ve formě odumřelých těl organismů, kořenových exsudátů a jiných organických sloučenin. Kromě dostupnosti uhlíku (energie) ovlivňuje fixaci N₂ např. koncentrace minerálních forem dusíku. Jestliže je v prostředí vyšší koncentrace amoniakálního N nebo nitrátů, syntéza nitrogenázy je zastavena a aktivita již syntetizovaného enzymu potlačena, organismus dá přednost energeticky mnohem méně náročnému příjmu a asimilaci NH₄⁺ a NO₃⁻ před syntézou a energeticky náročnou fixací.

Nitrogenáza je extrémně citlivá na molekulární kyslík a všichni diazotrofové mají vyvinut systém ochrany nitrogenázy před O₂ (u některých bakterií koncentrace kyslíku v prostředí reguluje syntézu nitrogenázy). Např. *Azotobacter* spotřebuje kyslík při aerobní respiraci, která probíhá na cytoplazmatické membráně a uvnitř buňky se vytváří anaerobióza. V hlízkách na kořenech rostlin čeledi *Fabaceae* infikovanými fixátory rodu *Rhizobium* plní tuto roli pyrolový pigment **leghemoglobin**, který kyslík váže. Sinice rodu *Anabaena* má pro kyslík nepropustnou buněčnou stěnu.

Aktivita nitrogenázy, a tím intenzita fixace N₂ je ovlivňována i teplotou (aktivita nitrogenázy má optimum mezi 20 až 30 °C a kolem nuly ustává), pH a redoxpotenciálem

prostředí, dostupností fosforu a jiných živin (včetně mikroprvku Mo) a nepřímo dalšími faktory prostředí, podobně jako jiné mikrobiální aktivity.

K fixátorům dusíku patří zhruba 85 rodů z domény *Archaea*, 38 rodů bakterií a aktinomycet a 20 rodů sinic. Fixátory můžeme rozdělit na symbiotické a nesymbiotické.

4.2.1.1 Nesymbiotičtí fixátoři vzdušného dusíku

Mezi **nesymbiotické fixátory vzdušného dusíku** patří volně žijící heterotrofní bakterie a autotrofní sinice, ale také metanogenní *Archea*. Nejdůležitějšími rody jsou *Azotobacter*, *Clostridium*, *Anabaena* a *Nostoc*.

Striktně aerobní je bakterie *Azotobacter chroococcum* a proto se vyskytuje jen v dobře provzdušněných, přiměřeně vlhkých půdách neutrálních až slabě zásaditých. V půdách pod pH 5 se prakticky nevyskytuje. Optimální teplota pro jeho aktivitu je 25 až 30 °C, nicméně snáší dobře i pokles teploty. Je také náročný na obsah dalších živin. Jako heterotrof potřebuje velké množství organické hmoty v půdě jako zdroje energie a uhlíku, v laboratorních podmínkách na fixaci 1 g N₂ spotřebuje 50 až 100 g glukózy. Pro vlastní fixaci N₂ je důležitá koncentrace minerálních forem dusíku v půdě. Jestliže je koncentrace dostatečná, neprobíhá syntéza nitrogenázy a fixace neprobíhá, neboť bakterie dává přednost energeticky mnohem méně náročnějšímu příjmu dusíku ve formě amonného či nitrátového iontu než fixaci dusíku ze vzduchu. *Azotobacter* může ovlivňovat růst rostlin také tím, že produkuje celou řadu tzv. růstových faktorů (vitamíny skupiny B, biotin atd.) a hormonů (heteroauxin, gibberelin), které mohou výrazně pozitivně simulovat klíčení semen. Je také znám antagonistický vztah zástupců rodu *Azotobacter* k celé řadě rostlinných patogenů (*Fuzarium*, *Alternaria*), což pozitivně ovlivňuje růst rostlin.

Druh *Clostridium pasteurianum* je přísně anaerobní bakterie. energii na fixaci vzdušného dusíku získává v procesu fermentace (kvašení) sacharidů, v laboratorních podmínkách spotřebuje 100 až 200 g glukózy na fixaci 1 g N₂. Obecně lze tedy říci, že v přirozených podmínkách volně žijící fixátory v jejich aktivitě omezuje hlavně nedostatek vhodného organického substrátu. Tento rod může využívat dusík z jiných minerálních i organických zdrojů než ze vzduchu. Je mnohem tolerantnější ke kyselému prostředí a snesitelný rozsah pH je pro něho v rozpětí od 4,5 až 8,5. Stávají se hlavním fixátorem N₂ v kyselých půdách z důvodu absence celé řady fixátorů v těchto podmínkách. Optimum teplot pro jeho aktivitu je 25 až 30 °C. Díky své anaerobitě dobře snáší zvýšené množství vody v půdě a najdeme ho i v utuženějších půdách.

V přirozených podmínkách jsou *Azotobacter* i *Clostridium* schopni fixovat v půdě **5 až 15 kg N . ha⁻¹ . rok⁻¹**.

Ze skupiny anaerobních fixátorů je třeba zmínit ještě *Desulfovibrio desulfuricans*, *Rhodospirillum rubrum* a z metanogenních zástupců domény *Archaea*, např. *Methanobacterium ivanovii*. Známá je schopnost fixace vzdušného N₂ u některých sinic, které se vyskytují v půdě i na jejím povrchu, v různých vodách. Je to například *Nostoc caliciola* a *Anabaena cylindrica*.

4.2.1.2 Symbiotičtí fixátoři vzdušného dusíku

Mikroorganismy zahrnuté do této skupiny můžeme ještě rozdělit podle typu soužití, které vytváří: nodulující, nenodulující a asociativní symbióza.

Nodulující symbióza je nejúčinnějším typem vázání dusíku a v symbióze žije společně s různými druhy mikroorganismů velké množství druhů rostlin např. z čeledi *Fabaceae*, *Mimosaceae* atd. V podmínkách mírného pásma mají největší význam pro tento symbiotický vztah druhy z čeledi *Fabaceae*. Na kořenech těchto rostlin se v místě přítomnosti symbiotických bakterií fixujících vzdušný dusík tvoří zvláštní **hlízky (nodule)**. Těchto **nodulujících** nebo také **hlízkotvorných bakterií**, jak se jim také říká, je známo kolem 90 druhů z 12 rodů. Patří sem např. rody *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Azorhizobium* atd. V půdě žijící rhizobní bakterie jsou aerobní, vyžadující propustné, ale dobře zvlhčené půdy, neutrální až zásadité reakce. Optimální teplota je 24 až 25 °C. Druhy těchto důležitých bakterií se od sebe mohou lišit **virulencí** (schopnost těchto bakterií proniknout z půdy do kořene), **účinností** (intenzita schopnosti vázat vzdušný N₂) a **specifitou** (stupeň přizpůsobení určitému druhu či dokonce odrůdě rostlinného hostitele).

Proces kolonizace kořenů symbiotických bakterií začíná **infekcí** kořenových vlásků a později dojde k tvorbě **hlízkovitých útvarů (nodulí)**. V půdě přítomné bakterie jsou atrahovány (přitahovány) určitými specifickými chemickými látkami uvolňovanými v aktivní zóně kořenového vlášení (flavonoidní látky, lektiny). Polární kontakt bakterie a kořene umožňují lektiny, proteiny obsažené v kořenových exsudátech a charakteristické pro konkrétní druh hostitelské rostliny. Recipročně uvolňuje i bakterie určité specifické signální látky. Po kontaktu rhizobních bakterií s kořenem se tyto začnou množit a vytvoří tzv. **infekční vlákno** (skupina bakterií ve slizovité hmotě), kterým proniknou do buněk kůry kořene, za aktivního přispění buněk kořene. To spočívá v aktivním uvolnění a po průniku bakterií uzavřením buněčných stěn patřičných buněk kořene. Rhizobní bakterie vyvolávají zvýšenou produkci fytohormonu **auxinu** (indolyloctová kyselina) vedoucí k intenzivnímu dělení

patřičného meristému a vedoucímu ke vzniku kořenových hlízek (nodulí). Tyto jsou plně nových buněk, do kterých pronikají symbiotické bakterie. Zde se množí a vznikají speciálně uzpůsobené „pracovní“ typy bakterií až bakteroidy, které se dále nemnoží, jsou větší a intenzivně „fixují“. Partnerské rostliny poskytují symbiotickým bakteriím asimilační produkty fotosyntézy, tj. organické energeticky bohaté látky, které bakterie využívají jako zdroj uhlíku a energie. Rostlina jim může také poskytovat některé růstové látky, ale především zabezpečuje v buňkách anaerobní prostředí nutné k činnosti nitrogenázy tvorbou **leghemoglobinu**. Na oplátku rhizobní fixátoři poskytují rostlinám dusík v pro ně přijatelné formě v množství tvořící 80 až 98 % její dusíkaté spotřeby. Při této mutualistické symbióze hostitel a symbiont tvoří ekologickou jednotku.

Množství dusíku fixovaného hlízkovitými bakteriemi kolísá mezi **80 až 300 kgN . ha⁻¹ za rok**, průměrně v přirozených podmínkách tedy asi **200 kg N. ha⁻¹ za rok**.

Další mutualistickou symbiózou je soužití některých aktinomycet, především rodu *Frankia*, které se podílí na vzniku kořenových hlízek s asi 30 rody aktinorhynchů rostlin, např. s rody *Alnus*, *Myrica*, *Hippophae*, *Eleagnus* atd.

Zde je třeba připomenout, že ve světě existuje celá řada biologických preparátů obsahujících různé druhy uměle kultivovaných symbiotických fixátorů (např. Rizobin), využitelné při inokulaci osiva či kořenů rostlin těmito bakteriemi při setí či výsadbě zahradních, ale i jinak využívaných rostlin.

Nenodulující symbióza může vznikat mezi volně žijícími **sinicemi** fixujícími vzdušný dusík a některými eukaryotními organismy jako jsou kapradiny, mechy a houby.

Jedním z nejefektivnějších fixačních systémů je symbióza mezi sinicí *Anabaena azolae* a vodní kapradinou rodu *Azolla*. Tento komplex vytvářející jakousi zelenou pěnu na povrchu rýžových polí, kde se často vyskytují. Mohou uspokojit dusíkatou potřebu rýže až ze 75 %. Díky využívání této fixační jednotky jako zeleného hnojení obyvateli Číny, Indie, Vietnamu atd. mohou na stejných místech pěstovat rýži po staletí i tisíciletí.

Při soužití sinic fixujících N rodu *Nostoc* v symbióze s některými houbami hovoříme o společném organismu – **lišejnících**.

Málo známé jsou asociace a symbiózy některých fixátorů se živočichy. V půdě žijí diazotrofové na povrchu těl půdních živočichů nebo v jejich trávicím traktu či v exkrementech. Fixátoři zde nacházejí prostředí bohatší na energetické zdroje. Část jimi vázaného dusíku mohou využívat přímo i nepřímo půdní živočichové, ale o těchto vztazích je poměrně málo známo.

Asociativní symbióza probíhá mezi heterotrofními bakteriemi v těsné vazbě na kořenovou rhizosféru, na povrchu kořenů, případně i uvnitř kořenů. Většinou se jedná o symbiózu kořenů rostlin s tzv. C4 fotosyntézou, která umožňuje využití intenzivnějšího světla a teploty v tropech a subtropích se zástupci fixátorů vzdušného dusíku z rodů *Azotobacter*, *Bijerinkia*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* atd. Tyto jsou schopné fixovat i ve volné půdě, ale raději využívají intenzivní nabídku energeticky bohatých látek v rhizosféře, translokovaných výše zmíněnými C4 rostlinami do kořenové sféry. *Azotobacter paspali* žijící v symbióze s trávou *Paspalum notatum* poutá až 90 kg N . ha⁻¹ . rok⁻¹, to je dvakrát více než volně žijící formy ve srovnatelných podmínkách.

4.2.2 Mineralizace organických dusíkatých látek

V půdě se nachází celá řada organické látek, které obsahují dusík (především bílkoviny, dále nukleové kyseliny, kyselina močová, močovina atd.), jež jsou zásobárnou dusíku pro půdní mikroorganismy i rostliny. V půdě probíhají zároveň nepřetržitě procesy přeměny dusíku z organických látek do minerálních (**mineralizace N**) a procesy syntézy a resyntézy organických látek (**imobilizace N**). Dusík přítomný v půdní organické hmotě je pro rostliny nepřijatelný a teprve po jejich mineralizaci uskutečňované heterotrofními mikroorganismy a extracelulárními enzymy je přeměněn ve formu přijatelnou pro rostliny a mobilizuje se.

Mineralizace organických dusíkatých látek zahrnuje velké množství procesů. Rychlost mineralizace a případné uvolňování dusíku závisí kromě jiného (teplota, vlhkost atd.) na už dříve výše zmiňovaném poměru C : N v rozkládané organické hmotě. Jestli je poměr širší jak 20 : 1, dusík (amoniak) se neuvolňuje do prostředí, neboť ho rozkládající mikroorganismy využívají samy na syntézu látek pro stavbu svých těl. Tyto mikroorganismy mohou spotřebovat i dostupný dusík z půdního roztoku, neboť potřeby mikroorganismů v tomto případě překračují množství dusíku uvolňovaného z rozkládaných organických látek. Dochází tak k **čisté imobilizaci dusíku** mikroorganismy v půdním prostředí. Toto má i praktické dopady. Jestliže se například zapraví po sklizni do půdy sláma, která je chudá na dusík a má poměr C : N asi 50 : 1, mikroorganismy rozkládající tuto dodanou organickou hmotu s malým podílem N spotřebovávají dostupný dusík v půdním roztoku či ze sorpčního komplexu a dusík se stává nedostupným pro následně pěstované rostliny. Při zaorávání slámy je tak dobré dodat určité množství dusíkatého hnojiva. Je-li poměr C : N zhruba 25 : 1, množství uvolněného dusíku odpovídá zhruba potřebám dekompozitorů, mineralizace se tedy rovná imobilizaci. Jestliže v rozkládané hmotě se z důvodů spotřeby uhlíkatých látek pro získání energie za uvolňování uhlíku ve formě CO₂ sníží obsah uhlíku až například na poměr 10 : 1 je další

rozklad doprovázen uvolňováním dusíku a dochází k **čisté mineralizaci dusíku**. Čistá mineralizace, tj. množství uvolněného dusíku zpřístupněné rostlinám dosahuje zhruba **50 až 300 kg N . ha⁻¹ za rok**, jak ve formě amonné, tak i ve formě nitrátů.

V organických látkách podléhajících rozkladu najdeme dusík obsažen v různých polymerech. Tyto vysokomolekulární látky, případně její štěpné produkty, nemohou projít buněčnou stěnou do protoplazmy dekompozitorů, a proto musejí být **depolymerizovány**. V první fázi využití dusíku a mineralizace dochází ke štěpení, tedy k depolymerizaci pomocí extracelulárních enzymů uvolňovaných do prostředí půdní mikrobiotou. Jednotlivé monomery jsou potom biologicky dostupné k dalšímu využití a zpracování. Proces vzniku první minerální formy dusíku (amoniak) z organické formy je nazývaný podle konečného produktu **amonifikace**.

4.2.2.1 Amonifikace

Amonifikace či amonizace je univerzální proces, při kterém dochází k rozkladu organických dusíkatých látek na jednoduché minerální formy dusíku a který probíhá díky velké adaptační schopnosti amonizátorů v různých prostředí a podmínkách. K mikroorganismům zúčastněným na tomto procesu patří celá řada bakterií, aktinomycet a hub. Amonizace je po depolymerizaci navazujícím procesem koloběhu dusíku v ekosystému. Při amonifikaci tedy mikroorganismy rozkládají dusík vázaný v organických látkách na, pro rostliny již přístupný, amoniak (NH₄⁺). Případný volný amonný dusík se může vázat na sorpční půdní komplex (půdní částice) a nevyuluje se proto do podzemních vod.

Nejdůležitějšími procesy zpřístupňování dusíku je amonifikace bílkovin, nukleových kyselin a močoviny.

4.2.2.1.1 Amonifikace bílkovin

Bílkoviny se nejdříve štěpí za účasti proteolytických enzymů – **proteínáz**; výsledkem je vznik **polypeptidů**. Tyto představují ještě relativně velké molekuly složené nejméně ze dvou dipeptidů. Jejich rozklad se uskutečňuje pomocí dalších enzymů **peptidáz**. Konečným produktem této extrabuněčné depolymerizace jsou **aminokyseliny**. Tyto teprve mohou projít přes buněčnou stěnu a cytoplazmatickou membránu pomocí specifických enzymů.

V buňce dochází k rozkladu aminokyselin (**deaminaci**) pomocí **deamináz** a **dekarboxyláz** na konečné produkty.

Schopnost rozkládat proteiny a jejich štěpné produkty (aminokyseliny) nalezneme u celé řady bakterií např. *Bacillus subtilis*, *B. mycoides*, *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens* atd. Ze skupiny mikromycet to jsou především zástupci rodů *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* a *Trichoderma* aj.

Vliv na rychlost dekompozice bílkovin má především množství proteinového materiálu vstupujícího do půdy a aktivita dekompozitorů závislá na okolních podmínkách (teplota, pH, vlhkost). Nízká je při teplotě kolem 0 °C. Se vzrůstající teplotou stoupá až k optimu (30 až 40 °C). Zvýšení teploty o 10 °C zrychlí průběh mineralizace 2 až 3krát. Amonizaci bílkovin může zpomalovat vytváření komplexů s jílovitými minerály v půdě či vázání molekul proteinů v půdních mikropórech, kam se za nimi mikroorganismy nedostanou.

4.2.2.1.2 Amonifikace nukleových kyselin

Amonifikace nukleových kyselin má v ekosystému velký význam. **Nukleoproteiny** jsou součástí rostlinných, živočišných a mikrobiálních buněk. Jsou všeobecně dobrým zdrojem dusíku a vhodným zdrojem uhlíku pro mnoho druhů mikroorganismů schopných produkovat enzymy ribonukleázy a deoxyribonukleázy. Z ekologického hlediska je důležitá mineralizace nukleoproteinů také proto, že se při tomto procesu uvolňuje biologicky vázatelná **kyselina fosforečná** a tato, v půdě často vzácná materie, se tak vrací do koloběhu fosforu, kde je přijatelná i pro rostliny.

Enzymy **ribonukleáza** a **deoxyribonukleáza** specificky štěpí vazby mezi nukleotidy a dochází k hromadění **mono-** a **dinukleotidů**, které se pak dále rozkládají. Stejně jako u půdních proteinů může docházet k inhibici rozkladu nukleoproteinů jejich adsorpce na jílové minerály

Schopnost enzymaticky rozkládat nukleové kyseliny mají bakterie rodů *Achromobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* a mikroskopické houby, jako jsou rody *Penicillium* a *Aspergillus*.

4.2.2.1.3 Amonifikace močoviny

Mezi nejdůležitější dusíkaté organické sloučeniny nebílkovinného charakteru patří **močovina**, **kyselina močová** a **kyselina hipurová**.

Přírozenými zdroji **močoviny** v půdě jsou konečné produkty dusíkatého metabolismu živočichů a konečné produkty rozkladu purinových a pyrimidinových bází. V amidické formě je tento dusík pro rostliny nepřístupný, proto se musí v půdě činností mikroorganismů nejprve mineralizovat.

Nejdůležitějšími mikroorganismy mineralizujícími močovinu jsou zástupci rodu *Urobacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, *Sarcina* označované jako **urobaktérie** využívající enzym **ureázu**.

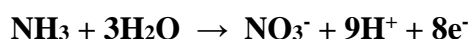
Z půdních vlastností ovlivňuje intenzitu rozkladu močoviny půdní reakce a teplota. Kyselá půdní reakce je pro urobaktérie nevhodná, uvolňováním amoniaku ale pH stoupá. Když je prostředí zásadité, amoniak uniká do ovzduší, čímž vznikají ztráty dusíku. Se stoupající teplotou se přímo úměrně zvyšuje intenzita mikrobiálního rozkladu močoviny až po optimální hranici 37 °C.

Močovina zapracovaná do půdy se rozkládá velmi rychle, podle podmínek prostředí se močovinový amidický dusík za 5 až 10 dní nachází již v amoniakální formě. Příčinou rychlého rozkladu močoviny v půdě může být skutečnost, že i po odumření a autolýze urobaktérií zůstává enzym ureáza, adsorbovaná na půdních částicích, ještě dlouho v aktivním stavu.

Při intenzivnější mineralizaci se tedy může v půdě hromadit amoniakální dusík. Část, jak bylo řečeno, je **asimilována** mikroorganismy a rostlinami, část je **zadržována** v jílovitých minerálech a půdním sorpčním komplexem a část může unikat do atmosféry (**volatilizace amoniaku**). Avšak značný podíl mineralizací uvolněného NH_4^+ je oxidován v dobře provzdušněných půdách v procesu **nitrifikace**. V některých ekosystémech, např. ve výrazných podzolech pod lesními porosty s kyselou reakcí půdy nebo v zamokřených, příp. dočasně zaplavených půdách, kde je difúze kyslíku nedostatečná, nenastává nitrifikace a amoniakální dusík nebo jeho soli jsou jediné přístupné formy dusíku pro rostliny.

4.2.2.2 Nitrifikace

Pokračováním mineralizace jsou další přeměny dusíkatých látek vzniklých amonifikací. Amoniak, který se uvolňuje mineralizací organických dusíkatých látek do prostředí podléhá tedy biologické oxidaci – **nitrifikaci**, kde se redukované formy dusíku mění na oxidované postupně při tzv. **nitritaci** a **nitrataci** až na **dusičnany**. Je to biologická přeměna organických a anorganických sloučenin dusíku z redukovaných forem na oxidovanější. Uvedené procesy jsou výsledkem nitrifikačních mikroorganismů, které procesy oxidace dusíku využívají k získání energie pro své životní pochody. Základní schéma nitrifikace je následující:



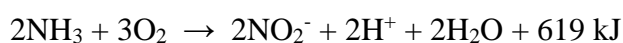
Nitrifikační procesy rozdělujeme na nitrifikaci **autotrofní**, která je vykonávána chemoautotrofními mikroorganismy a **heterotrofní**, kterou uskutečňují mikroorganismy chemoheterotrofní.

4.2.2.2.1 Autotrofní nitrifikace

Proces **autotrofní nitrifikace** můžeme také označit jako chemolitoautotrofní nitrifikaci, kdy mikroorganismy využívají jako zdroj energie chemické látky (chemo-), zdrojem protonů a elektronů je anorganická hmota (-lito-) a zdrojem uhlíku je CO₂ (-autotrofní). Fixace CO₂ probíhá podobně jako u rostlin v Calvinově cyklu. Hlavním zdrojem energie, protonů, elektronů pro nitrifikační bakterie je NH₄⁺, který je oxidován.

Autotrofní nitrifikace probíhá ve dvou krocích uskutečňovaných jinými skupinami bakterií. Prvním krokem je nitritace – oxidace amonia na nitrit a druhým nitratace – oxidace nitritu na nitrát.

Nitritaci, kde dochází k oxidaci NH₄⁺ na NO₂⁻ je možné znázornit následujícími rovnicí:



Proces nitritace zabezpečují bakterie rodu *Nitrosomonas*, vyskytující se především v úrodných půdách, *Nitrospira*, které se vyskytují hlavně na nekultivovaných půdách, *Nitrosocystis*, *Nitrosoglea*, *Nitrosolobus*. Dusitany se v půdě nehromadí a jsou většinou převáděny nitratačními bakteriemi na dusičnany.

Ve druhé fázi, **nitrataci**, dochází oxidaci v první fázi vzniklého NO₂⁻ na NO₃⁻:



Procesu nitratace se zúčastňují zástupci bakteriálních rodů *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* a *Nitrospina*.

Je třeba říci, že v obou krocích nitrifikace se může tvořit N₂O jako vedlejší produkt a docházet tak úniku části dusíku do atmosféry. Při prvním kroku nitrifikace se spotřebovává relativně velké množství kyslíku a při poklesu parciálního tlaku O₂ pod určitou mez je pro normální průběh oxidačních reakcí kyslíku nedostatek a nitrifikační bakterie začnou jako akceptor elektronů využívat vlastní produkt – nitrit nebo dokonce nitrát či nitrit z okolního prostředí. A právě v těchto procesech, které jsou podobné procesům denitrifikace vznikají plynné formy dusíku (NO, N₂O). Tato tzv. **denitrifikace nitrifikátorů** může určitou měrou přispívat ke ztrátám dusíku z půdy.

4.2.2.2.2 Heterotrofní nitrifikace

Od autotrofní nitrifikace se liší tím, že je prováděna heterotrofními mikroorganismy, přičemž je třeba připomenout, že heterotrofie nesouvisí s nitrifikovaným substrátem, ten může být anorganický (NH₄⁺) i organický (amidy, aminy), ale s tím, že mikroorganismy využívají jako zdroj uhlíku pro tvorbu své biomasy organické látky. Tyto organismy se zúčastňují na oxidaci redukovaných nebo neúplně oxidovaných sloučenin dusíku a nejnámější najdeme

mezi bakteriemi (rody *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Proteus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Streptomyces* atd.), ale i mikromycetami rodu *Penicillium*, *Aspergillus*, *Candida*, *Fusarium* atd. Na rozdíl od chemoautotrofních nitrifikátorů jsou schopni aktivovat heterotrofní nitrifikátory i v anaerobních podmínkách a při nízkém pH. Zde sehraávají velkou roli acidotolerantní houby.

4.2.2.2.3 Význam nitrifikace

Efektivita využívání energie nitrifikace není velká a v prvním kroku je to 5 až 14 %, ve druhé fázi procesu jen 5 až 10 % z celkového uvolněného množství energie.

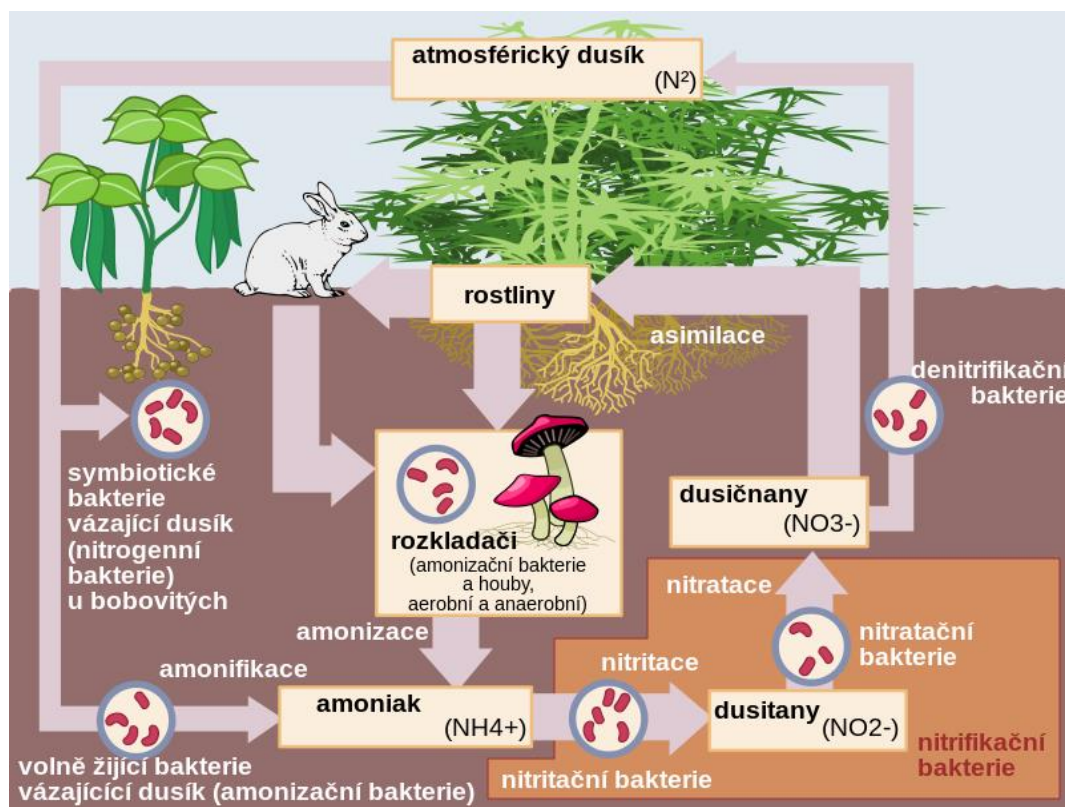
Nitrifikace je obecně proces striktně aerobní, ale díky velké adaptační schopnosti jsou schopny nitrifikační bakterie existovat i v méně kyslíkatém prostředí, tam se však nitrifikace snižuje. Optimální půdní vlhkost pro nitrifikátory je zhruba 50 až 70 % plné vodní kapacity půdy. S přibývajícím obsahem vody klesá aerace a s ní i nitrifikace. V kyselém prostředí pH pod 5 je nitrifikace silně potlačena. Rychlost nitrifikace klesá také s poklesem teplot. Úplně přestává kolem nuly a optimum je při 25 až 30 °C.

Nitrifikace je v půdě proces důležitý neboť přeměňuje relativně nepohyblivou formu (NH_4^+) na velmi pohyblivou formu dusíku (NO_3^-). Tak se dusík objevuje v půdě jako dobře využitelná živina pro rostliny i mikroorganismy, ale také se vytváří předpoklady pro jeho ztráty vyplavováním, jelikož není vázán půdními částicemi a denitrifikací. Jestliže je v půdě větší množství dusičnanů než jsou rostliny schopny přijmout, vede to k celé řadě negativních důsledků. Vyšší obsah nitrátů v půdním roztoku vede ke ztrátám dusíku z ekosystému denitrifikací a také může dojít k okyselování (acidifikaci) půdního prostředí. Nitráty nejsou zachycovány půdními částicemi (sorpčním komplexem) a snadno se vyplavují do spodních vod, kde mohou kontaminovat zdroje pitné vody. Při nadměrném množství dusičnanů v půdním roztoku je mohou rostliny ukládat ve své biomase. V pitné vodě i v konzumovaných rostlinných tkáních přítomné dusičnany mohou ve velkém množství být akutně toxické (otravy) a v menších množstvích může docházet k chronické toxicitě, kdy se dusičnany v těle živočichů mohou přeměňovat na dusitany vedoucí až k iniciaci nádorových onemocnění.

V zemědělsky využívaných půdách se uvažuje o použití tzv. **inhibitorů nitrifikace** s cílem zabránit ztrátám dusíku vyplavováním z agroekosystému a snížení obsahu dusičnanů v plodinách. Mezi nejznámější inhibitory nitrifikace patří různé chemické látky jako nitrapyryn, dikyndiamid, thiomocovina a mnoho dalších sirných i jiných sloučenin.

Všechny typy nitrifikačních bakterií lze nalézt i v dusíkem bohatých odpadních vodách, kde jsou přítomny jak oxygenní, tak anoxygenní podmínky.

Mineralizací organických dusíkatých látek (amoniifikace a nitrifikace) dochází tedy v půdě k tvorbě pro rostliny a ostatní mikroorganismy přístupných forem dusíku (amoniak a dusičnany) a čistá mineralizace (množství uvolněného dusíku) dosahuje zhruba 50 až 300 kgN . ha⁻¹ za rok jak ve formě amonné, tak i ve formě nitrátů. Minerální dusík se dostává do půdy také například hnojením.



Obr. 8 Zjednodušené znázornění terestrického koloběhu dusíku

(http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nitrogen_cycle_cs.svg)

4.2.3 Imobilizace minerálního dusíku

Transformace dusíku (mineralizace) do forem pro rostliny a půdní mikroorganismy přijatelných (amoniak a dusičnany) se nazývá **mobilizace dusíku**. Procesu asimilace minerálních forem dusíku živými organismy a jejich zabudování do látek organických říkáme **imobilizace**. Tyto biosyntézy (syntéza a resyntéza) probíhají jak v buňkách mikroorganismů, tak i v rostlinných tělech. Procesy imobilizace a procesy mineralizace jsou vzájemně propojeny a probíhají současně.

Biosyntéza nových dusíkatých organických látek je proces endergonický, to znamená, že se spotřebovávají energetické zdroje. Na imobilizaci 1 molu NH_3 je potřebná energie 272 kJ,

kdežto na imobilizaci NO_3^- 5 až 8krát více. Pro imobilizaci potřebují mikroorganismy dostatek energie získávanou především rozkladem organické hmoty. Důležitý je zde také poměr C : N v rozkládané organické hmotě. Na něm závisí dostupnost uhlíkatých zdrojů pro mikroorganismy a intenzita jeho rozkladu. Imobilizaci ovlivňují také faktory vnějšího prostředí, které mohou mít vliv na aktivitu půdní mikrocenózy. Například v aerobním prostředí probíhá imobilizace anorganického dusíku 3 až 6krát rychleji, než v prostředí s nedostatkem kyslíku. Intenzita imobilizace amonného dusíku probíhá 2 až 3krát intenzivněji než imobilizace dusičnanové formy dusíku. V prostředí s dostatečným zdrojem uhlíkatých energetických látek a minerálního dusíku, kdy probíhají imobilizace a resyntézy velmi intenzivně, dochází k obrovskému nárůstu biomasy rychle se množících mikroorganismů, ve kterých je dusík zadržován – imobilizován. Avšak po vyčerpání zdrojů velká část mikroorganismů odumírá a stává se součástí půdní organické hmoty. Imobilizovaný dusík se transformuje opět v procesu mineralizace, dochází vlastně k remineralizaci dříve imobilizovaného dusíku. Část organického dusíku mikrobiální biomasy se úplně remineralizuje na amoniak, ale může vznikat také celá řada složitějších látek odolných dalšímu rozkladu a které se později váží na produkty rozkladu organických látek (lignin, fenoly) a polymerizací a kondenzací se mění na nový druh půdní organické látky – **humus**.

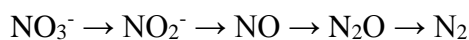
Imobilizace dusíku má velký význam i pro agroekosystémy, neboť imobilizovaný dusík je zadržován pro další transformace v živých systémech a chráněn před vyplavením a vyprcháním (např. volatilizací). Podporuje také uchovávání vyššího podílu uhlíku a dusíku v hůře rozložitelných organických látkách, tedy humusu, který má pozitivní dopad na vlastnosti půdy. V určitých okamžicích však může imobilizace dusíku v mikrobiálních buňkách snižovat množství dusíku přístupného pro rostliny.

4.2.4 Denitrifikace

Už při některých procesech nitrifikace dochází k úniku plynných sloučenin dusíku, ale hlavní proces, při kterém dochází k uvolňování dusíku ve formě oxidů dusíku či ve formě atomárního dusíku z půdy zpět do atmosféry a kterým se koloběh dusíku uzavírá, se nazývá **denitrifikace**.

Denitrifikace je přirozený proces, kterým se do atmosféry vrací plynné formy dusíku dříve z atmosféry odebraného při biologické fixaci N_2 . Denitrifikace je proces, při kterém jsou NO_3^- redukovány na N_2O nebo až na N_2 . Může probíhat jako čistě chemická reakce zvaná **chemodenitrifikace** nebo se jedná o proces biologický (biochemický), **biologickou denitrifikaci**, kdy v anaerobních podmínkách slouží NO_3^- bakteriím jako akceptory elektronů

místo kyslíku (O₂). Biologická denitrifikace je považována za rozhodující, chemodenitrifikace má zřejmě jen malý podíl na produkci N₂O a N₂. Denitrifikace probíhá jako sled dílčích enzymatických reakcí:



Jak je patrné, konečným produktem denitrifikace je N₂, ale často probíhá redukce **nedokonale** a tvoří se i značný podíl N₂O. Celkové množství i vzájemný poměr těchto plyných produktů přeměn dusíku jsou velmi variabilní a závislé na mnoha faktorech. Jednotlivé kroky jsou různým způsobem regulovány v závislosti na vnějších podmínkách. Pro vznik N₂O je limitující zejména rychlost poslední reakce – redukce N₂O na N₂. Jestliže jsou NO₃⁻ a nitrity (NO₂⁻) redukovány rychleji než N₂O, dochází k hromadění N₂O. O rychlosti redukce N₂O na N₂ rozhoduje především obsah přijatelného C, poměr C : NO₃⁻ a koncentrace O₂ v půdní atmosféře. Při užším poměru C : NO₃⁻ je relativně málo redukčního činidla, redukce NO₃⁻ je nedokonalá a sled reakcí končí uvolňováním N₂O. Naopak při širším poměru je třeba oxidovat větší množství C a jako oxidační činidlo je využít i vznikající N₂O. Proto širší poměr umožňuje dokonalou redukci na N₂.

Redukci dusičnanů uskutečňují především fakultativně anaerobní mikroorganismy, které při dýchání v anaerobních podmínkách využívají dusičnanový kyslík jako konečný akceptor vodíku. Schopnost denitrifikovat mají například bakterie rodu *Pseudomonas* (*P. denitrificans*, *P. aeruginosa*), *Micrococcus* (*M. denitrificans*), *Achromobacter*, *Alcaligenes*, ale také některé termofilní a halofilní zástupci domény *Archaea*. Denitrifikace schopné jsou však pravděpodobně i některé mikromycety, jako například *Fusarium oxysporum*, *F. solani*.

Biologická denitrifikace vyžaduje specifické podmínky. Jelikož je půdní organická hmota zdrojem energie pro většinu denitrifikačních mikroorganismů, je klíčovým faktorem denitrifikace zdroj lehce přijatelného C – např. uhlík uvolněný rozkladem mikrobiální biomasy, organické hnojení atd. Tato nutná potřeba snadno rozložitelných látek, ke kterým mohou patřit kromě glukózy a jiných cukrů i organické kyseliny, alkohol, aceton a toluen, ale také další xenobiotické látky (člověkem synteticky vyrobené látky – polutanty), se dá využít při biologickém odbourávání těchto v ekosystému cizorodých látek, k tzv. **bioremediacím**. Levné a snadno dostupné nitráty dodávané do kontaminovaných míst v půdě vedou k rychlému množení a zvýšené aktivitě denitrifikátorů a souběžně s tím k rozkladu výše zmíněných organických xenobiotických látek využívaných denitrifikátory jako zdroje energie a uhlíku. Významným faktorem v tomto procesu je samozřejmě přítomnost NO₃⁻, který se tvoří mineralizací organických sloučenin a nitrifikací, ale do zemědělských půd je také dodáván ve formě minerálních i organických hnojiv. Přítomnost molekulárního kyslíku

potlačuje syntézu denitrifikačních reductáz a proto jeho přítomnost v půdě výrazně inhibuje denitrifikaci a největší tvorba N_2O a N_2 nastává při zaplnění půdních pórů vodou, při nízké pórovitosti (těžké nebo ulehlé půdy) nebo když je O_2 v půdních pórech vyčerpán intenzivní respirací. Optimální teplota pro denitrifikaci je zhruba 25 až 30 °C, ale probíhá při širokém teplotním rozmezí (5 až 65 °C).

Dalším důležitým faktorem denitrifikace je reakce půdy, kdy optimum hodnot pH leží v rozsahu 7 až 8,5. Okyselení tedy denitrifikaci snižuje, ale v těchto podmínkách se však může uplatnit abiotická denitrifikace – chemodenitrifikace.

Ve svém důsledku tedy denitrifikace přispívá ke ztrátám dusíku z ekosystému, ovšem za hlavní příčinu ztrát dusíku z půdy je považováno především vyplavování NO_3^- a volatilizace NH_3 , zatímco ztráty ve formě dusíkatých plynů (N_2O , NO , N_2) jsou pokládány za relativně nízké. Celková hodnota emisí N_2O obvykle dosahuje několika kg na hektar za rok, což je často zanedbatelné ve srovnání s jinými výstupy dusíku z ekosystému a s jeho vstupy, které se v případě intenzivních pastevních systémů pohybují až ve stovkách $kg\ N \cdot ha^{-1} \cdot rok^{-1}$. Přesto i emise N_2O a N_2 se zejména na extrémních stanovištích mohou významně podílet na ztrátách dusíku z půdy. Je tomu tak v některých organických půdách a v mokřadních ekosystémech, např. rýžovištích či půdě po velkých srážkách, kde je denitrifikace typická.

Jednotlivé pochody transformace N na sebe plynule navazují, takže dochází k minimálním ztrátám. Tento stav je však zpravidla spojován s přirozenými klimaxovými ekosystémy. Naopak otevřený cyklus dusíku se objevuje především po narušení této dynamické rovnováhy půdního prostředí vnějšími vlivy (antropogenní), např. v agroekosystému.

4.3 Koloběh fosforu

Fosfor patří společně s dusíkem k nejdůležitějším živinám ovlivňující růst všech rostlin a jejich produktivitu. Fosfor je naprosto nezbytnou součástí energetického systému každé buňky (obsahují ho molekuly přenašečů energie ATP a ADP), systému transformace genů (součást nukleových kyselin) a součást biomembrán. Ve srovnání s dusíkem a například s draslíkem je fosforu v půdě mnohem méně a to ještě často ve formách nepřístupných pro organismy.

Obsah fosforu v půdě závisí na matečné hornině a obsahu organických látek a činí jen asi 0,02 až 0,2 %. Fosfor je většinou limitujícím faktorem růstu rostlin. Většina fosforu v prostředí je ve formě fosfátu (PO_4^{3-}). V půdách je anorganicky vázaný ve fosforečných minerálech, kdy tvoří fosfát soli s vápníkem, železem a hliníkem, ty jsou jen omezeně

rozpuštěné. Fosfáty vápníku jsou rozpustné nejvíce, hlavně dihydrogenfosforečnan vápenatý, který je rozpustný ve vodě. Významné jsou však pouze při pH blízkému neutrální reakci. Soli hliníku jsou nejméně rozpustné a dominují nízkým hodnotám pH. Rozpustnost fosfátů železa závisí na oxidačně redukčních poměrech. Rostliny nejlépe přijímají aniont H_2PO_4^- , méně HPO_4^{2-} a nakonec PO_4^{3-} .

Část fosforu je v půdě vázána také v organických látkách a z celkového množství půdního fosforu může toto množství činit asi 25 až 70 %. Zdrojem těchto látek v půdě jsou odumřelé buňky a zbytky mikroorganismů, rostlin a půdních živočichů, ale také třeba kořenové exsudáty. Aktivním zásobníkem fosforu v půdě je ovšem i živá mikrobiální biomasa, kde je obsaženo 2 až 5 % (výjimečně i 20 %) z celkového organického fosforu v půdě. Kultivací půdy se snižuje množství mikroorganismů i celkové množství organické hmoty v půdě a tím samozřejmě i množství organicky vázaného fosforu.

Přeměny fosforu v půdě jsou složité a na mnohých se účastní různorodé mikroorganismy. Koncentrace fosforu v půdním roztoku není veliká, ale nesmírně důležitá pro příjem fosforu rostlinami i mikroorganismy. Uvádí se, že díky odběru fosforu z tohoto zdroje intenzivně rostoucími rostlinami se může obsah fosforu v půdním roztoku obnovovat za den 50 až 250krát. Rostlinami a mikroorganismy odebraný fosfor je kontinuálně doplňován z jiných zdrojů, jak abioticky, tak z velké části za pomoci organismů. Jedná se o dva základní procesy: **mobilizace fosforu z anorganických sloučenin (solubilizace)** a **mobilizace fosforu z organických sloučenin**.

Je známo několik způsobů, kterými mikroorganismy přispívají ke zvýšené vodorozpuštěnosti fosforečných minerálů. Například dýcháním rostlin i mikroorganismů se v půdním roztoku vytváří H_2CO_3 , která disociuje a kationt H^+ působí pozitivně na rozpouštění fosfátů. Mikroorganismy tvoří a uvolňují i celou řadu **anorganických** (kyselina dusičná, sírová) i **organických** (kyselina octová, máselná, jantarová atd.) **kyselin** se stejným výsledkem. Odhaduje se, že na rozpouštění anorganických forem fosforu se podílí asi 10 % druhů půdního mikrobiálního společenstva. Jedná se především o bakterie rodů *Bacillus*, *Micrococcus*, *Mycobacterium* a *Pseudomonas*, ale i některé houby, převážně ty mykorhizické.

Vedle solubilizace anorganických sloučenin je významným zdrojem fosforu v půdním roztoku mineralizace organických látek. Na úrovni půdní organické hmoty je fosfor uvolňován převážně přímou aktivitou enzymů zvaných **fosfatázy**, které jsou různých typů. Část z nich, **extracelulární fosfatázy**, jsou uvolňovány do prostředí jak mikroby, tak i vyššími rostlinami, kde potom probíhá jimi zprostředkovaná mineralizace organických fosforečných látek.

Proces, kdy přístupné formy fosforu, které jsou přijímány mikroorganismy a zabudovávány při biosyntézách do jejich těl, se nazývá **imobilizace fosforu**. Rozsah imobilizace závisí především na zdrojích uhlíku i na obsahu přijatelného fosforu v půdě, tedy poměru C : P. Jestliže je tento poměr 100 : 1, převládá mobilizace fosforu nad imobilizací, naopak při širším poměru dochází k imobilizaci fosforu v tělech mikroorganismů a v důsledku toho mohou rostliny trpět dočasně nedostatkem fosforu. Rostlinám může být uvolněn až mineralizací odumřelých těl mikroorganismů, což však díky rychlým životním cyklům mikrobů nemusí trvat dlouho. Protože je tedy fosforu v půdě často nedostatek, je pro rostliny velmi důležitý a tak s ním velmi dobře hospodaří, např. podstatná část listového fosforu je před opadem listů retranslokována do jiných živých částí rostliny.

Ztrátám fosforu tak brání jak biologické, tak i geochemické procesy. Ve svrchních půdních horizontech převažuje příjem fosforu kořeny a mikroby, ve spodních minerálních horizontech potom adsorpce sloučeninami železa a hliníku. Ovšem ne všechny ekosystémy poutají fosfor stoprocentně účinně.

Ze suchozemských ekosystémů se fosfor uvolněný do globálního koloběhu postupně dostává přes tekoucí vody do oceánů a ukládá se v sedimentech. Při koloběhách fosforu se prakticky neuplatňuje atmosféra (pouze prachové částice), neboť fosfor netvoří plynné sloučeniny. V globálním měřítku se nejedná o typický koloběh, ale spíše o jednosměrný přesun fosforu z hornin do sedimentů. Tyto ovšem mohou být v geologickém časovém údobí vlivem horotvorných procesů z oceánů vyzdviženy, kde se na souši mohou stát tyto usazené horniny součástí půdního podloží a při zvětrávání ovlivňovat tvořící se půdy.

Tento globální koloběh svou činností zásadním způsobem zrychluje člověk těžbou fosforečných minerálů (apatit, fosfát) a jejich aplikací do půdy; především přehnojování agroekosystémů může vést ke značnému vyplavování fosforu a spolu s únikem dusičnanů do vod způsobovat eutrofizaci vodních zdrojů. Eutrofizace může přinášet řadu problémů tím, že tato vede k vzniku souvislých kobereců řas, ale především sinic v povrchových vodách. Toto může ve svém důsledku vést k odumírání celé řady vodních živočichů, zabraňuje rekreačnímu využití vodních ploch, znehodnocovat zdroje pitné vody, neboť sinice mohou vylučovat celou řadu toxinů.

4.4 Koloběh síry

Síra je další nezbytnou živinou potřebnou pro syntézy důležitých organických látek. Tvoří součást aminokyselin cysteinu a metioninu, mnoha vitamínů, hormonů a enzymů. Globální

cyklus síry je v mnohém podobný koloběhu dusíku. Oba prvky se vyskytují v celé řadě sloučenin v různých oxidačních stavech a procházejí podobnými typy chemických a biologických transformací.

Vyskytuje se především v horninách zemské kůry, rozpuštěná ve formě sulfátů ve vodách a v menším množství v atmosféře v plynné formě nebo jako aerosol. Do vzduchu se dostává vulkanickou činností, ale množství síry v atmosféře výrazně ovlivňuje svou činností člověk. Do atmosféry se dostává spalováním fosilních paliv a průmyslovými exhalacemi. Z atmosféry se dostává s deštěm (kyselé deště) zpět na zemi. V neznečištěných oblastech je tento spad kolem $1 \text{ kg S} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$, kdežto v oblastech antropogenně výrazně ovlivněných a bohatých na průmyslové emise to může být **10 až 100 kg S . ha⁻¹ . rok⁻¹**. Toto může **spolu s vymývanými oxidy dusíku** vést k výraznému **okyselování (acidifikaci)** různých ekosystémů způsobující narušení biologické rovnováhy v přirozených i člověkem využívaných ekosystémech s různými negativními důsledky (mrtvá jezera, odumřelé lesy, koroze stavebních materiálů atd.)

Síra se v ekosystémech vyskytuje buď jako elementární forma S^0 , v redukované formě, např. jako sirovodík (H_2S) a sirouhlík (CS_2) a v redukované formě je i v aminokyselinách cysteinu a metioninu. V oxidované formě se objevuje například jako plyn SO_2 , sírany, siřičitany. Síra v půdě tvoří zhruba 0,01 až 0,05 % její hmotnosti. Z tohoto množství je až 95 % ve formě organických sloučenin, v anorganické podobě se v půdě síra vyskytuje hlavně ve formě sulfátů (sírany) a sulfidů (sirníky).

Do půdy se síra dostává zvětráváním minerálů, z hnojiv a z atmosférických depozic. Vnitřním zdrojem je samozřejmě síra obsažená v živých organismech a v mrtvé organické hmotě (části odumřelé biomasy všech organismů). Síra tvoří v půdní organické hmotě 0,02 až 5% podíl. Z půdy se může uvolňovat vymýváním, povrchovým odtokem, vypařováním a odnosem biomasy plodin. Síra může v půdě vlivem činností mikroorganismů prodělavat celou řadu přeměn. Jedná se především o mineralizaci, reakce oxidační (**sulfurikace**), redukční (**desulfurikace**), **imobilizaci** a případně vypařování (**volatilizaci**) (obr. 9).

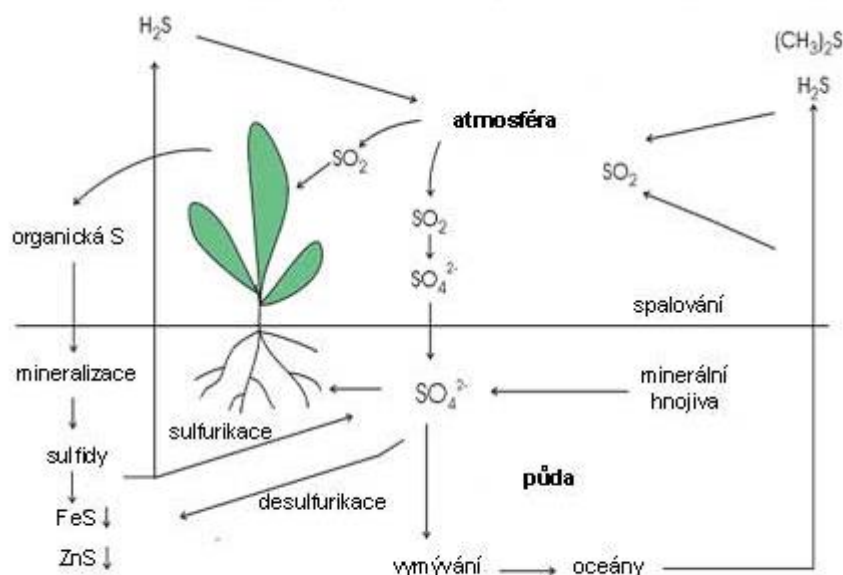
4.4.1 Asimilace a imobilizace síry

Rostliny jsou schopny přijímat síru pouze ve formě aniontu SO_4^{2-} (v aerobním prostředí jsou sulfáty nejčastěji se vyskytující formou), anebo ze vzduchu ve formě SO_2 , jak ukazují nové poznatky. Mikroorganismy jsou schopné přijímat aminokyseliny a zabudovat je do bílkovin, z anorganických forem především sírany, persírany, hydrogensířičitany, elementární

síru a sulfidy. Po přijetí do buněk organismů je síra metabolicky zabudována do aminokyselin a dalších látek, kdy asimilace je redukční proces.

4.4.2 Mineralizace síry

Na rozkladu proteinů obsažených v odumřelých buňkách všech organismů se podílí celá řada aerobních i aerobních heterotrofních bakterií, aktinomycet a hub, ať už uvnitř buněk nebo pomocí extracelulárně uvolňovaných enzymů za účelem získání energie. Při rozkladech organických sirtatých látek spolupůsobí enzymy **sulfatázy**. Při mikrobiálním rozkladu organických látek s poměrem živin C : S vyšším jak 400 : 1 je uvolňovaná síra ihned využívána mikroby ke stavbě vlastního těla a dochází tak k imobilizaci mikroorganismy. Je-li však poměr nižší než 200 : 1, dochází k čisté mineralizaci, síra je tak uvolňována k využití ostatním organismům, především rostlinám, neboť v aerobních podmínkách vznikají oxidované formy síry, především sírany, které jsou přijatelné i pro rostliny. Při rozkladu v anaerobních podmínkách se při mineralizaci uvolňují plynné sirté metabolity, především sirovodík (ve větší míře pro organismy toxický), sirouhlík atd. K tomu dochází především v zaplavených půdách nebo ve vodě. Některé jsou adsorbovány na půdních koloidech nebo unikají do atmosféry (volatilizace).

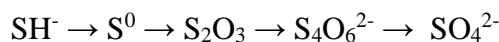


Obr. 9 Zjednodušené znázornění koloběhu síry

(http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/images/agrochemie_pudy/s_kolobeh.jpg)

K mikrobiálním přeměnám anorganických sloučenin síry patří: oxidace anorganických sloučenin síry (sulfurikace) a redukce anorganických sloučenin síry (desulfurikace).

Při tomto procesu **oxidace anorganických sloučenin síry (sulfurikace)** dochází k oxidaci anorganických redukovaných sloučenin, uvolněných zvětráváním nebo mineralizací v konečném kroku až na sírany za zisku energie dle schématu:



Při tomto ději, který je analogický oxidaci amoniaku nitrifikací, dochází k uvolňování vodíkových kationtů a tím i k okyselování okolního prostředí. Na sulfurikaci mají podíl tři skupiny mikroorganismů:

Chemolitoautotrofní archae a bakterie především z rodů *Thiobacillus*, *Achromatium*, *Beggiatoa* atd. podílející se na sulfurikaci, se vyskytují v půdě v širokém rozpětí pH (2 až 9). Druhy *Thiobacillus thiooxidans* a *T. thioparus* jsou aerobní. *T. denitrificans* je fakultativně anaerobní a využívá jako konečný akceptor vodíku kyslík dusičnanů, čímž je současně redukuje.

Fotoautotrofní mikroorganismy, mezi které patří purpurové sírné bakterie (*Thiospirillum*, *Chromatium*) a zelené sírné bakterie (*Chlorobium limicola*), obsahují fotosyntetické pigmenty a jako zdroj uhlíku využívají CO₂ a donorem vodíku na jeho redukci je sirovodík, který se zároveň oxiduje. Sírné bakterie žijí ve vodě a tímto mohou snižovat obsah přítomného toxického sirovodíku.

Elementární síru a její redukované sloučeniny mohou oxidovat i **chemoorganoheterotrofní mikroorganismy**, jako jsou bakterie z rodů *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, některé aktinomycety a plísňe (některé volně žijící rody *Alternaria*, *Fusarium*, *Trichoderma*) i mykorhizní houby, ale i kvasinky.

V půdě i ve vodě mohou probíhat i disimilační **redukční procesy** zvané **desulfurikace**. Jedná se o postupnou redukci síranů a siřičitanů na H₂S působením desulfurifikačních bakterií. Jsou to fakultativně autotrofní druhy, které získávají energii k chemosyntéze CO₂ oxidací vodíku kyslíkem uvolněným redukcí síranů. Opět zde nalezneme analogii s koloběhy dusíku, kdy tento proces připomíná denitrifikaci, oxidované sloučeniny síry jsou akceptory vodíku podobně jako dusičnany při denitrifikaci. Podobně také desulfurikace probíhá za anaerobních podmínek jako denitrifikace. Mezi typické zástupce desulfurifikačních bakterií patří zástupci rodů *Desulfovibrio* (především *D. desulfuricans*), *Desulfuromonas*, *Desulfobacter* aj. Tyto bakterie můžeme najít v řadě extrémních stanovišť, jako jsou hlubokomořské sedimenty, solná jezera nebo ropou nasycené horniny. Při redukci sulfátů v moři vzniká v silně redukčním prostředí kromě sirovodíku také dimethylsulfid, který se

společně s dalšími plyny dostává do atmosféry, kde spolu hrají významnou roli v globálním koloběhu síry přenosem z vody do atmosféry. Dimethylsulfid je v globálním měřítku významnějším plynem emitovaným do atmosféry než oxid siřičitý. Vůni tohoto plynu můžete cítit při vaření, neboť se uvolňuje při tepelné úpravě červené řepy, zelí atd.

Sirovodík, který vzniká při těchto procesech (zároveň vzniká i při jiném procesu – mineralizaci siřných aminokyselin při amonifikaci) v půdách a vodě, může být ve vyšších koncentracích toxický pro různé organismy, vede ke ztrátám pro rostliny přijatelných forem síry a je hlavní příčinou koroze kovových předmětů (podzemních kovových potrubí, kovových armatur v betonu atd.).

POUŽITÁ A DOPORUČENÁ LITERATURA

- AMBROŽ, Z. (1986): Mikrobiologie (obecná část). VŠZ v Brně, 100 s.
- CEMPÍRKOVÁ, R., LUKÁŠOVÁ, J., HEJLOVÁ, Š. (1997): Mikrobiologie potravin, JU ZF České Budějovice, 165 s. ISBN: 80-7040-254-7
- GÖRNER, F., VALÍK, L. (2004): Aplikovaná mikrobiológia požívatin. Malé centrum Bratislava, 528 s. ISBN: 80-967064-9-7
- GRYNDLER, M., BALÁŽ M., HRŠELOVÁ, H., JANSA, J., VOSÁTKA, M. (2004): Mykorhizní symbióza: o soužití hub s kořeny rostlin. Praha, Academia, 366 s. ISBN 80-200-1240-0
- JAVOREKOVÁ, S., KRÁLIKOVÁ, A., LABUDA, R., LABUDOVÁ, S., MAKOVÁ, J. (2008): Biológia pôdy v agrosystémoch. SPU, Nitra, 349 s. ISBN: 978-80-552-0007-1
- JAVOREKOVÁ, S., MAKOVÁ, J. (2012): Mikrobiológia. SPU, Nitra, 146 s. ISBN: 978-80-552-0760-5
- KALHOTKA, L. (2014): Mikromycety - vláknité mikromycety (plísňe) a kvasinky - v prostředí člověka. Mendelova univerzita v Brně, 78 s. ISBN: 978-80-7375-943-8
- KLABAN, V. (2011): Ekologie mikroorganismů – Ilustrovaný lexikon biologie, ekologie a patogenity mikroorganismů. Galén, Praha, 549 s. ISBN: 978-80-7262-770-7
- KOMPRDA, T. (2007): Obecná hygiena potravin, MZLU Brno, 148 s. ISBN: 978-80-7157-757-7
- LOCHMANNOVÁ, J., LOCHMANN, O. (2001): Antiinfekční terapie v gastroenterologii. Triton, Praha, 170 s. ISBN: 80-7254-161-7
- MALÍŘ, F., OSTRÝ, V., BÁRTA, I., BUCHTA, V., DVOŘÁČKOVÁ, I., PAŘÍKOVÁ, J., SEVERA, J., ŠKARKOVÁ, J. (2003): Vlákenné mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. NCO NZO, Brno, 349 s. ISBN: 80-7013-395-3
- Projekt OP RLZ Opatření 3.3-0212 (2007): Distanční text. Potravinářská mikrobiologie II – Vnější faktory a jejich vliv na jakost potravin. Praha: CEPAC MORAVA, 2007. 77 s.
- MARENDIAK, D., KOPČANOVÁ, L., LEITGEB, S. (1987): Poľnohospodárska mikrobiológia. Príroda, Bratislava, 444 s.
- ROSYPAL S. a kol. (2003): Nový přehled biologie. Scientia, Praha, 797 s. ISBN: 80-7183-268-5
- RULÍK, M., HOLÁ, V., RŮŽIČKA, F., VOTAVA, M. a kol. (2011): Mikrobiální biofilmy. Univerzita Palackého v Olomouci, 447 s. ISBN: 978-80-244-2747-8

- ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. Prokaryotické organismy. From Encyklopedie hydrobiologie : výkladový slovník [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2014-07-26]. Available from www: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=P035>
- SCHINDLER, J. (2010): Mikrobiologie pro studenty zdravotnických oborů. Grada Publishing, Praha. 224 s. ISBN 978-80-247-3170-4
- SCHINDLER, J. (2008): Ze života bakterií. Academia, Praha, 144 s. ISBN: 978-80-200-1666-9
- SCHMIDT, M. W. I. (2011): Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. Nature. Vol. 478. Macmillan Publishers Limited: 49-56.
- ŠILHÁNKOVÁ, L. (2002): Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. Academia, Praha, 363 s. ISBN: 8-85605-71-6
- ŠIMEK, M. (2003): Základy nauky o půdě 3. Biologické procesy a cykly prvků. Skriptum. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. 151 s. ISBN 80-7040-630-5
- ŠROUBKOVÁ, E. (1996): Technická mikrobiologie, MZLU Brno, 150 s. ISBN: 80-7157-226-8
- TANČINOVÁ, D., MAKOVÁ, J., FELŠŤCIOVÁ, S., KAČÁNIOVÁ, M., KMEŤ, V. (2012): Mikrobiológia potravín. SPU, Nitra, 150 s. ISBN: 978-80-552-0904-3
- VELÍŠEK, J. (1999) : Chemie potravin 1 – 3, OSSIS Tábor, ISBN 80-902391-2-9.
- VODRÁŽKA, Z. (1996): Biochemie. Academia, Praha, ISBN: 80-200-0438-6.
- VOTAVA, M. a kol. (2005): Lékařská mikrobiologie obecná. NEPTUN Brno, 351 s. ISBN: 80-86850-00-5
- WILLEY, J. M., SHERWOOD, L. M., WOOLVERTON, CH. J. (2008): Prescott, Harley, and Klein's microbiology. — 7th ed. McGraw-Hill, New York, NY, USA, SBN 978-0-07-299291-5, 1088 s.
- ZÁHORA, J. a kol. (2015): Půda, místo pro život. V tisku.

Autor	Ing. Ivan Tůma, Ph.D.
Název titulu	MIKROBIOLOGIE (pro zahradnické obory) Díl 2. Ekologie mikroorganismů
Vydavatel	Mendelova univerzita v Brně Zemědělská 1, 613 00 Brno
Vydání	První, 2015
Náklad	200 ks
Počet stran	102
Tisk	ASTRON studio CZ, a.s.; Veselská 699, 199 00 Praha 9 Neprošlo jazykovou úpravou.
ISBN	978-80-7509-227-4
ISBN	978-80-7509-228-1 (soubor)
ISBN	978-80-7509-226-7 (I. díl)

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

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



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ