

**Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta**

**POTRAVINÁŘSKÁ MIKROBIOLOGIE PRO ZAHRADNICKOU
FAKULTU**

Díl 1. Obecná část

**Libor Kalhotka
Marta Tesařová**

**Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta**

**POTRAVINÁŘSKÁ MIKROBIOLOGIE PRO ZAHRADNICKOU
FAKULTU**

Díl 1. Obecná část

**Ing. Libor Kalhotka, Ph.D.
prof. RNDr. Marta Tesařová, CSc.**

Brno, 2014



**evropský
sociální
fond v ČR**



EVROPSKÁ UNIE



**MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY**



**OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost**



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



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

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

Recenze: Ing. Eva Šroubková, CSc.

© Libor Kalhotka, Marta Tesařová, 2014

ISBN 978-80-7509-015-7

ISBN 978-80-7509-017-1 (soubor)

ISBN 978-80-7509-016-4 (II. díl)

OBSAH

1 ÚVOD	6
1.1 Definice oboru	6
1.2 Historie oboru	6
1.3 Začlenění mikroorganismů do systému organismů	8
1.4 Taxonomie mikroorganismů	9
2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ BUNĚK MIKROORGANISMŮ	10
2.1 prvkové složení.....	10
2.2 Látkové složení.....	11
3 MIKROORGANISMY BEZ BUNĚČNÉ STRUKTURY	11
3.1 Viry.....	11
3.1.1 Stavba virů.....	12
3.1.2 Bakteriofágy	12
3.1.3 Mykoviry (viry hub).....	14
3.1.4 Virům podobné částice u kvasinek (VLP- virus like particles).....	14
3.1.5 Rostlinné viry	14
3.1.6 Živočišné viry.....	15
3.1.7 Význam virů v potravinářství	16
3.1.8 Boj proti virům	18
3.1.9 Pozitivní význam virů.....	18
3.2 Priony	19
4 MIKROORGANISMY S PROKARYOTICKOU BUŇKOU.....	19
4.1 Doména <i>Archaea</i>	19
4.2 Doména <i>Bacteria</i>	21
4.2.1 Stavba bakteriální buňky	21
4.2.2 Tvar a velikost bakteriální buňky	32
4.2.3. Aktinomycety	34
4.2.4 Myxobakterie.....	35
4.2.5 Mykoplasmy, chlamydie a rickettsie	35
4.2.6 Rozmnožování bakterií.....	36
4.2.7 Sinice	38
5 MIKROORGANISMY S EUKARYOTICKOU BUŇKOU.....	39

5.1 Základní charakteristika eukaryotické buňky.....	39
5.2 Vláknité mikromycety – plísně	40
5.2.1. Stavba buňky	41
5.2.2 Morfologie	42
5.2.3 Růst a rozmnožování	43
5.3 Kvasinky a kvasinkovité mikroorganismy	51
5.3.1 Buňka kvasinek, morfologie a způsoby rozmnožování.....	51
6 VÝŽIVA MIKROORGANISMŮ	55
6.1 Prvkové složení mikrobiální buňky.....	55
6.2 Třídění mikroorganismů podle nároků na živiny	56
6.3 Třídění mikroorganismů podle způsobu získávání energie.....	57
6.4 Příjem živin a exkrece látek mikrobiální buňkou.....	60
7 METABOLISMUS MIKROORGANISMŮ	61
7.1 Enzymy.....	62
7.2 Metabolismus chemoheterotrofních mikroorganismů.....	65
7.2.1 Rozklad monosacharidů	66
7.2.2 Rozklad složitých organických látek.....	74
7.3 Anabolické procesy	78
7.3.1 Biosyntéza monosacharidů	78
7.3.2 Biosyntéza aminokyselin.....	79
8 RŮST MIKROORGANISMŮ.....	79
8.1 Růstová křivka.....	80
8.2 Růst v tekutých živných médiích	81
8.3 Růst na tuhých živných médiích	82
8.4 Biofilm.....	83
9. ZÁKLADY EKOLOGIE MIKROORGANISMŮ	86
9.1 Významné faktory prostředí působící na mikroorganismy	87
9.1.1 Voda	87
9.1.2 Koncentrace vodíkových iontů – pH.....	91
9.1.3 Teplota.....	95
9.1.4 Přístup vzduchu a jeho složení	97
9.1.5 Oxidoredukční potenciál	98
9.1.6 Hydrostatický tlak	99

9.1.7 Záření.....	99
9.1.8. Antimikrobiální látky	100
9.1.9 Některé další faktory působící na mikroorganismy a jejich metabolickou aktivitu ..	101
9.2 Komunikace bakterií – quorum sensing	101
9.3 Základní ekologické vztahy mezi mikroorganismy	102
9.4 Vztahy mezi mikroorganismy a rostlinou	104
9.5 Vztahy mezi mikroorganismy a živočichy	107
10 GENETIKA MIKROORGANISMŮ	108
10.1 Mutace	109
10.2 Změny genotypu způsobené výměnou genetického materiálu.....	110
10.2.1 Pohlavní rozmnožování jako zdroj změn genetického materiálu	110
10.2.2 Parasexuální cyklus mikroskopických hub	111
10.2.3 Rekombinace bakterií	111
10.2.4 Fúze protoplastů	112
10.3 Extrachromozomální (mimochromozomální) dědičnost mikroorganismů	112
POUŽITÁ LITERATURA	114

1 ÚVOD

1.1 Definice oboru

Mikrobiologie je vědní obor zabývající se mikroorganismy, jejich vlastnostmi a významem pro člověka, rostliny a zvířata. Termín mikrobiologie je odvozen ze tří řeckých slov: **mikros** = malý, **bios** = život a **logos** = slovo, nauka. Mikroorganismy zahrnují jednobuněčné i mnohobuněčné organismy a nebuněčné struktury mikroskopické velikosti, jež nejsou schopné tvořit funkčně diferencované tkáně nebo pletiva. Je možné je pozorovat pouze světelným nebo elektronovým mikroskopem. Mezi mikroorganismy se řadí viry, bakterie, sinice, mikroskopické houby, tj. kvasinky a vláknité mikromycety (plísňe), řasy a prvoci.

Základním oborem je **obecná mikrobiologie**, která se zabývá morfologií, cytologií, taxonomií, biochemií, fyziologií a genetikou mikroorganismů, zkoumá jevy a zákonitosti společné všem mikroorganismům a formuluje všeobecně platné principy a zákonitosti. Poznatků obecné mikrobiologie využívá **aplikovaná mikrobiologie**, jíž lze členit do mnoha oborů. Jsou to např. mikrobiologie lékařská, veterinární, zemědělská, environmentální a technická, kam patří i **potravinářská mikrobiologie**. Mikrobiologie úzce souvisí s jinými vědními obory, především s chemií a biochemií, genetikou, fyzikou, humáním a veterinárním lékařstvím.

1.2 Historie oboru

Předpokládá se, že první primitivní mikroorganismy se objevily na Zemi 3 - 3,5 miliardy let před n. l. Byly to jednoduché a velmi odolné **archebakterie**, které žily v oceánech v době, kdy ještě v zemské atmosféře nebyl kyslík. S archebakteriemi se v přírodě setkáváme dodnes, především v extrémních podmínkách. Primitivní buňky se postupně zdokonalovaly tím, že pohlcovaly jiné jednoduché organismy s odlišným typem metabolismu. Dokonalejší buňky (eukaryotní) se na Zemi objevily zhruba 2 miliardy let před n. l.

Činnosti mikroorganismů lidé využívali již několik tisíc let před n. l. aniž by o jejich existenci věděli. Např. za nejstarší alkoholický nápoj je považována medovina. Tu si lidé připravovali díky činnosti kvasinek. Činnosti kvasinek využívali rovněž lidé žijící v oblasti starověké Mezopotámie, kteří uměli vařit pivo již 7000 let před n. l., nebo Egypťané, kteří znali 3000 let před n. l. 6 druhů vín. Je rovněž doloženo, že římský spisovatel **Lucius Columella** (4 - 70 n. l.) radil rolníkům, aby pro zlepšení půd používali vikvovité rostliny. Proč vikvovité rostliny zlepšují půdu, bylo prokázáno až v r. 1885, kdy byly na kořenech vikvovitých rostlin objeveny bakterie, které poutají ze vzduchu dusík a tím zlepšují výživu rostlin dusíkem a následně obohacují o tuto živinu i půdu.

Prvním, kdo skutečně nahlédl do světa mikroorganismů, byl pravděpodobně **Athanasius Kircher**, který v r. 1657 objevil pomocí silné lupy v krvi nemocných morem organismy, které nazval „moroví červíčky“. Ve skutečnosti šlo o bakterii *Yersinia pestis*, původce moru. Svůj objev ale Kircher patřičně nezveřejnil. A tak se za objevitele mikroorganismů všeobecně považuje Holanďan **Antonius van Leewenhoek**, který žil v letech 1632 - 1723. Ten zkonstruoval první jednoduchý mikroskop, který zvětšoval až 200krát. Pomocí mikroskopu pozoroval v r. 1676 oplach z pepře, aby odhalil příčinu jeho měknutí. (Holanďané tehdy dováželi po moři ze svých kolonií pepř a jiné koření, které se během plavby často kazilo). V oplachu pozoroval „čtyři druhy malých zvířátek“ Většinou šlo - jak ukazují jeho dodnes zachované nákresy - o prvoky. Jeden druh „zvířátek“ byl však podle něho tak malý, že kdyby jich leželo 100 vedle sebe, nedosáhly by velikosti zrnka písku a ani milion by jich nemohl zaplnit jeho objem. A to byly, jak se později ukázalo, **bakterie**. Van Leewenhoek svá pozorování podrobně popsal, doložil kresbami a poslal tehdejší nejvyšší vědecké instituci v Evropě - Královské akademii v Londýně. Ta ho pak v roce 1683 uznala za objevitele mikroorganismů.

Objev van Leewenhoeka zahájil v mikrobiologii období, které označujeme jako morfologické a popisné. To trvalo zhruba 200 let. Pak následuje etapa, která je typická objevy ve fyziologii a funkcích mikroorganismů. Tuto etapu reprezentuje **Louis Pasteur** (1822 - 1895). Byl to francouzský biolog, chemik a lékař, jeden z nejvýznačnějších vědců 19. století. Člen Francouzské akademie přírodních věd, Francouzské akademie lékařských věd a Francouzské akademie. Je zakladatelem nových vědeckých oborů **stereochemie, mikrobiologie a imunologie, objevitelem vakcín proti sněti slezinné a vzteklině**. Významné výzkumy provedl v oblasti mléčného, octového a alkoholového kvašení. **Prokázal, že kvašení je životním projevem mikroorganismů a že různé mikroorganismy způsobují různé typy kvašení**. Vypracoval metodu tepelného ošetření potravin, která brání jejich kažení a je po něm pojmenována **pasterizace**.

V následujícím období nastává rozvoj mikrobiologie, jsou objevovány nové druhy mikroorganismů, odhalování původci různých onemocnění, vypracovávají laboratorní techniky a postupy. Nastává období „lovců mikrobů“.

K nejvýznamnějším mikrobiologům 19. a počátku 20. století patří dánský mikrobiolog **H. Ch. J. Gram** (1853 - 1938), který je autorem techniky barvení bakterií používané dodnes. Průkopnické studie **S. N. Vinogradského** (1856 - 1955) a **M. W. Beijerincka** (1851 - 1931) jsou spjaté s půdním prostředím, výživou rostlin a koloběhem dusíku v přírodě.

Jedním z nejvýznamnějších mikrobiologů minulého století byl **sir Alexander Fleming** (1881 - 1955). Za první světové války poznal strašlivá zranění vojáků, kteří umírali na sepsi a lékaři jim neuměli pomoci. Po válce se rozhodl najít lék, jak říkal „kouzelnou kulku“, která by zabránila šíření infekcí. Po mnoha obtížích se mu to podařilo v r. 1928, kdy zjistil, že plísně rodu *Penicillium* produkují účinnou látku **penicilin**, která zabíjí škodlivé bakterie.

Dvacáté a počátek 21. století jsou v mikrobiologii obdobím výzkumu 1) vztahů mezi mikroorganismy a prostředím (ekologie mikroorganismů), 2) genetiky mikroorganismů a 3) využitím mikroorganismů v biotechnologiích.

Do historie světové mikrobiologie se zapsali i dva Češi. Byl to **František Král**, který v r. 1890 založil v Praze vůbec **první sbírku mikroorganismů na světě**. Pokračovatelem této tradice je Česká sbírka mikroorganismů patřící do světové sítě sbírek mikroorganismů. **Stanislav Prowazek** (1875 - 1915) je objevitelem pleomorfního organismu *Rickettsia prowazekii*, původce skvrnitého tyfu. Prowazek také zjistil, že přenašečem rickettsie je veš šatní.

1.3 Začlenění mikroorganismů do systému organismů

První pokusy zařadit mikroorganismy do systému organismů provedl již v polovině 18. stol. švédský botanik **Carl von Linné** (1707 - 1778). Tehdy známé rostliny a živočichy rozdělil do dvou říší: **Plantae** (rostliny) a **Animalia** (živočichové). Mikroorganismy o jejichž existenci již tehdy nebylo pochyb, ale o kterých se stále málo vědělo, umístil Linné mezi živočichy, a to do skupiny červi (*Vermes*) a kategorie, kterou označil příznačně "Chaos" (zmatek). V průběhu následujícího století pak byly mikroorganismy střídavě řazeny buď mezi rostliny, nebo mezi živočichy.

Jako samostatnou říši vyčlenil mikroorganismy až německý přírodovědec **E. Haeckel** (1834 - 1919), který v r. 1866 definoval novou říši *Protista* (latinsky protista znamená jednobuněčný organismus mikroskopických rozměrů). Do této říše zařadil Haeckel všechny tehdy známé mikroorganismy, prvoky a jednobuněčné řasy. Jeho třídění upřesnil v r. 1969 anglický zoolog **R. Whittaker**. Ten rozděluje organismy na základě odlišné morfologie do pěti říší: **Monera**, kam zařadil mikroorganismy s prokaryotickou buňkou (bakterie, aktinomycety a sinice). **Protista**, kam zařadil jednobuněčné mikroskopické eukaryotické organismy (kvasinky, prvoky, jednobuněčné řasy). **Plantae** tj. rostliny, **Fungi** tj. houby včetně mikroskopických hub a **Animalia** tj. živočichové.

V současné době je platný **evoluční systém** vycházející z poznatků genetiky. Všechny buněčné živé soustavy se klasifikují do tří domén. Jako **doména** se označuje hierarchicky nejvyšší taxon, který je založen na molekulární evoluci organismů, a to konkrétně na analýze sekvencí genu přepisovaného do 16S-rRNA prokaryotických organismů a 18S-rRNA eukaryotických organismů. Sekvence rRNA malých ribozomových podjednotek je důležitým translačním faktorem. Je spjata s evolucí translace a jako taková patří mezi nejstarší biologické makromolekuly. Je funkčně konstantní a vyskytuje se ve všech organismech.

Prokaryotické a eukaryotické organismy se vyvinuly z **hypotetického univerzálního předka**, jemuž musela logicky předcházet ještě jednodušší soustava označovaná jako **progenot**, jejíž vznik se datuje mezi $3,8 - 4,2 \times 10^9$ let. Organismy se dělí do tří domén:

- **Archaea** (Archae).
- **Bacteria** (bakterie, a sinice).
- **Eukarya** - organismy s eukaryotickou buňkou (prvoci, houby, rostliny, živočichové).

1.4 Taxonomie mikroorganismů

Názvosloví mikroorganismů (viz Tab. 1) je podobně jako v botanice a zoologii binomické. Základní taxonomickou jednotkou je **druh**. Druhy jsou seskupeny do **rodů**. Rod je obvykle dobře definovaná skupina taxonů, která je jasně odlišitelná od jiných rodů; skládá se z jednoho či více druhů, případně i poddruhů.

Další členění, se kterým se v taxonomii mikroorganismů můžeme setkat, je následující: **Kmen** (lat. *typus*, angl. strain), generace pocházející z jedné buňky, udržovaná v laboratorních podmínkách. Má specifické vlastnosti odlišující ho od jiných kmenů téhož druhu. **Biotyp** (biovar) má specifické fyziologické vlastnosti. **Serotyp** (serovar) má charakteristické antigenní vlastnosti. **Pathotyp** (pathovar) má patogenní vlastnosti pro určitého hostitele. **Morfotyp** (morfovar) má specifické morfologické vlastnosti. **Fagotyp** (fagovar) má schopnost být hostitelem určitého viru (fága).

Tabulka 1: **Příklad základní taxonomické hierarchie bakterií** (Sedláček, 2007)

Česky	Latinsky/anglicky	Příklad
Doména	<i>Dominium/Domain</i>	<i>Bacteria</i>
Kmen	<i>Phylum/Phylum</i>	<i>Proteobacteria</i>
Třída	<i>Classis/Class</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>
Řád	<i>Ordo/Order</i>	<i>Legionellales</i>
Čeľad'	<i>Familia/Family</i>	<i>Legionellaceae</i>
Rod	<i>Genus/Genus</i>	<i>Legionella</i>
Druh	<i>Species/Species</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
Poddruh	<i>Subspecies/Subspecies</i>	<i>L. pneumophila subsp. pneumophila</i>

Taxonomie má dvě základní funkce, a to identifikovat a popisovat základní taxonomické jednotky (druhy), a dále navrhnout způsob zařazování a katalogizace těchto jednotek. Obecně se taxonomie skládá ze tří oddělených, ale současně i navzájem provázaných oblastí:

- **Klasifikace** - uspořádání organismů do skupin na základě podobnosti a příbuznosti.
- **Nomenklatura** – přiřazování jmen těmto taxonomickým skupinám na základě mezinárodních pravidel.
- **Identifikace** – proces prokazující, že nový izolát patří do jednoho z již ustanovených a pojmenovaných taxonů. Je to praktické používání klasifikačních schémat při stanovení identity izolátu jako zástupce konkrétního taxonu.

2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ BUNĚK MIKROORGANISMŮ

2.1 prvkové složení

Prvkové složení mikrobiální buněk je stejné jako u buněk ostatních organismů. Nejvíce jsou zastoupeny **makrobiogenní prvky** především **C, H, O, N, P, S** a dále Na, Ca, K, Mg, a

Cl, které tvoří 99,9 % z celkové hmotnosti. Na **prvky mikrobiogenní** (stopové) připadá jen 0,1 %.

2.2 Látkové složení

Budeme-li považovat celkovou hmotnost buňky mikroorganismů za 100 %, pak v průměru 70 - 85 % tvoří voda, 15 - 30 % sušina. Ve vodném prostředí uvnitř buňky se odehrává většina metabolických reakcí.

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

3 MIKROORGANISMY BEZ BUNĚČNÉ STRUKTURY

Mezi organismy bez buněčné struktury, označované také jako nebuněčné částice, patří **viry a priony**. Nejsou schopny samostatné existence a reprodukují se pouze v buňkách hostitele.

3.1 Viry

Označení vir, pocházející z latinského slova virus = jed, poprvé použil anglický lékař E. Jenner (1749 – 1823). Viry jsou schopné se rozmnožovat pouze v hostitelských buňkách, jsou to tedy nitrobuněční parazité, závislí na metabolismu hostitelské buňky.

Podle druhu hostitelské buňky rozeznáváme: **bakteriální viry** (bakteriofágy), **viry aktinomycet** (aktinofágy), **sinic** (cyanofágy), **prvoků, hub** (mykoviry), **virům podobné částice u kvasinek** (VLP), **viry rostlin** (fytoviry), **viry živočichů** - zooviry (viry bezobratlých, viry obratlovců).

Viry resp. viriony jsou v přírodě hojně zastoupeny. Nachází se především ve vodním a půdním prostředí, v odpadních vodách, na povrchu i uvnitř rostlin a živočichů a ve vzduchu.

3.1.1 Stavba virů

Viry jsou velmi malé částice, jejichž velikost se pohybuje od cca 20 nm po 300 nm (bakteriofág *E. coli* má velikost 30 - 45 nm, vir tabákové mozaiky je velký 15,1 x 180 nm). Viry jsou složeny z nukleové kyseliny (buď RNA, nebo DNA) obalené proteinovým obalem – **kapsidou**. Podle přítomné nukleové kyseliny dělíme viry na RNAviry a DNAviry. Kapsida se skládá z podjednotek – **kapsomer**. Počet kapsomer tvořících kapsidu je pro jednotlivé druhy virů charakteristický. Např. vir tabákové mozaiky má kapsidu složenou z 2100 kapsomer, vir vyvolávající onemocnění rajčat tzv. mozaiku rajčat má 60 kapsomer. Viry napadající hmyz obsahují v průměru 800 kapsomer v kapsidě. Komplex nukleové kyseliny a kapsidy se označuje jako **nukleokapsida**. Protein a kapsida jsou kódovány geny nukleové kyseliny viru a syntetizovány na ribozómech hostitelské buňky. Tzv. **obalené viry** mají na povrchu kapsidy vnější obalovou vrstvu složenou z lipoproteinů nebo glykoproteinů pocházejících z jaderné či cytoplasmatické membrány hostitelské buňky. Tento obal bývá prostoupen glykosylovanou bílkovinou ve formě hrotů trčících navenek z lipidu, které se označují jako **peplomery**. **Neobalené viry** tuto vrstvu postrádají.

Viry mohou mít různý tvar, mohou být kulovité (např. picornaviry), polyedrální (dvacetistěn u adenovirů), vláknité, mohou mít tvar šroubovice, typickou stavbu a tvar má bakteriofág. (viz kap. 3.2.1) Viry se vyskytují ve dvou fázích. **Extracelulární fáze** se nazývá **virion** (virová částice), **intracelulární fáze** neboli fáze replikační je fáze, kdy se v hostitelské buňce replikuje virová nukleová kyselina a tvoří se nové virové částice.

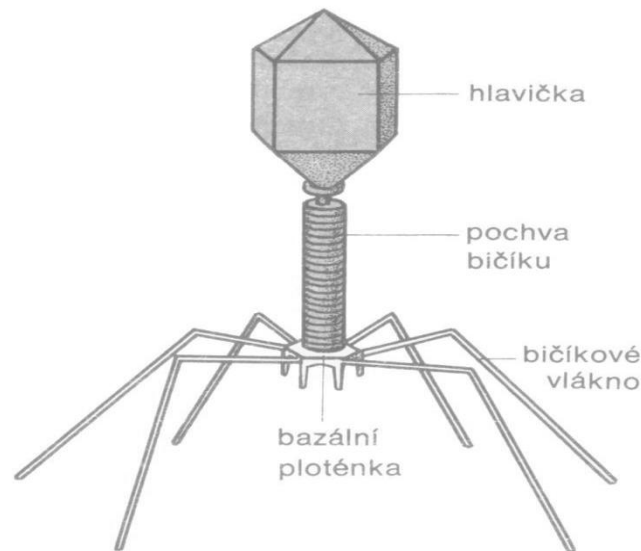
Ještě menší a jednodušší částice, než viry jsou viroid a satelit. **Viroid** je samostatná jednořetězcová kružnicová molekula RNA bez obalu (některé jsou patogenní pro rostliny). **Satelit** (virusoid) je nukleová kyselina (buď DNA, nebo RNA) s vlastní genetickou kontinuitou, uzavřená v kapsidě některých virů vedle jejich vlastní nukleové kyseliny.

3.1.2 Bakteriofágy

Bakteriofága obvykle tvoří **hlavička** (tvořená nukleovou kyselinou a kapsidou) a **bičik**, často obalený elastickou pochvou, **který má na konci ploténku s hroty a bičiková vlákna** (viz Obr.1). Někdy chybí pochva, jindy celý bičik, nebo je bičik nahrazen krátkým hrotem. Bakteriofága tak může tvořit pouze hlavička (kubická nebo kulovitá) nebo může mít vláknitý tvar.

Rozeznáváme dva typy bakteriofágů: **virulentní bakteriofágy**, které se v buňce silně množí a lyzují ji a **mírné bakteriofágy**, které mohou i nemusí po infekci lyzovat buňku.

Mohou být v buňce ve formě tzv. **profága** a lyzovat ji až po aktivaci. Bakteriofágy mohou působit problémy u kulturní mikroflóry používané v potravinářském průmyslu (např. u čisté mlékařské kultury).



Obrázek 1: Stavba bakteriofága (Rosypal, 2003)

Infekce virulentním bakteriofágem

Proniknutí viru resp. jeho nukleové kyseliny do buňky se nazývá **infekce**. Nejprve dojde k **adsorpci bakteriofága** na povrch hostitelské buňky pomocí bičíkových vláken. Je-li pochva tvořena kontraktilními bílkovinami, může se stáhnout. Následuje **průnik fágové nukleové kyseliny do buňky**, ostatní části zůstávají mimo buňku. Uvnitř buňky pak dojde k **syntéze fágových bílkovin** (virová mRNA v ribozomech hostitelské buňky). **Tvorba a kompletace nového fága** je etapa, kdy se z bílkovin bakteriofága sestaví hlavička a současně se kopie DNA, jež vznikla replikací, zasune přes bičík do hlavičky. Po vzniku určitého počtu nových částic dojde k **lyzi hostitelské buňky a uvolnění fágů**. Celý proces trvá cca 30 min. a z jedné buňky se může uvolnit až několik set nových fágů. Stavební prvky pro tvorbu bílkovin a nukleových kyselin získávají fágy z hostitelské buňky.

Infekce mírným fágem

DNA fága se v buňce nereplikuje, včlení se do chromozomu a replikuje se při množení infikované bakterie. Včleněnou fágovou DNA označujeme jako **profág**. Takto infikovanou bakteriální kulturu nazýváme **lyzigenní**.

K uvolnění profága z bakteriálního chromozomu dochází spontánně nebo po působení mutagenních prostředků (např. UV záření). Uvolněná DNA se zdvojuje a tvoří se mRNA a bílkoviny. Mluvíme o tzv. **indukci virulentního fágu z profágu**. Výsledkem je lyze hostitelské buňky.

3.1.3 Mykoviry (viry hub)

Mykoviry byly objeveny u vyšších hub v letech 1962 – 1965, u plísni v roce 1967. Většinou jsou to **dsRNA** vzácněji **ssRNA** viry (předpona ss- single streded, ds- double streded určuje počet řetězců nukleové kyseliny). Obsahují dvě až čtyři molekuly RNA obalené mnohostěnnou kapsidou. Mykoviry jsou **většinou latentní**, buňky plísni rostou bez morfologických změn a lyze buněk nebývá zřetelná. Viry se hromadí ve starších buňkách a po odumření se uvolňují. K přenosu dochází při **anastomóze**, tj. při vytvoření kanálku mezi hyfami dvou různých kmenů plísni, které vyrostly ve stejném prostředí. Tímto kanálkem kromě jader a cytoplasmy mohou procházet i virové částice.

Mykoviry **ovlivňují metabolismus plísni**: zvyšují nebo snižují produkci sekundárních metabolitů – mykotoxinů, antibiotik, zpomalují syntézu plísňových bílkovin.

3.1.4 Virům podobné částice u kvasinek (VLP- virus like particles)

Jedná se o cytoplazmaticky děděné částice zodpovědné za syntézu specifické bílkoviny – **killerového toxinu** (nazývaného také zymocin či mykocin), který usmrcuje buňky citlivých kmenů kvasinek téhož druhu nebo rodu. Dnes je killerový toxin znám u mnoha rodů kvasinek.

V roce 1973 byl zjištěn **killer faktor** u *Saccharomyces cerevisiae* – **killerový toxin** se váže na specifické receptory buněčné stěny a poškozuje cytoplasmatickou membránu kvasinky. Produkuje se při intenzivním množení kvasinek, což může mimo jiné zpomalovat kvašení a vyvolat pachuti piva.

3.1.5 Rostlinné viry

Jde nejčastěji o ssRNA viry (virus tabákové mozaiky), ale i viry dsRNA, ssDNA, dsDNA. Způsobují onemocnění rostlin – virózy, žloutenky, mozaiky aj. Přenos může nastat při mechanickém poškození lisů, hmyzem, pylem atd. Známe asi 36 čeledí a skupin. **Zdrojem virů** jsou plevele, kulturní rostliny (technické porosty, semena, pyl), vodní nádrže, půda, hmyz, roztoči.

Nejúčinnější **ochranou proti virózám je prevence**: legislativní (karanténa, certifikace sadbového materiálu), prognóza výskytu (připravuje pěstitele na možnou invazi viru), agrotechnika (výběr lokality, osevní postupy, hnojení aj.), boj proti přenašečům, ozdravování množitelského materiálu množeného vegetativně (termoterapie, meristémové kultury), šlechtění na rezistenci, transgenní rostliny.

Příkladem rostlinného viru může být **vir svinutky (PLRV)**, který způsobuje u brambor kornoutovité stáčení listů, nejdříve ve spodním patru, později i ve vyšších patrech rostlin. Listy jsou kožovitě tuhé, při dotyku šustí, při zmáčknutí praskají. Rostliny jsou světlejší, chlorózní, obvykle nižšího vzrůstu se zkrácenými internodiemi. Hlízy jsou většinou drobnější. Rostliny napadené tímto virem poskytují ve srovnání se zdravými rostlinami výrazně nižší výnos (o 40 až 80 %). Vir svinutky je přenášen pouze savým hmyzem.

3.1.6 Živočišné viry

Živočišné viry jsou v současné době prozkoumány mnohem lépe, než viry rostlinné či mikrobiální. Průběh infekce je podobný jako u bakterií: **adsorpce virionu** na povrch buňky, **penetrace**, a to buď endocytózou, přímým průnikem přes cytoplazmatickou membránu nebo fúzí, **odstranění obalu** – spontánně nebo za pomoci enzymů hostitelské buňky, **zpřístupnění virové nukleové kyseliny, aktivace genomu, syntéza viru a uvolnění nových částic**.

Virové onemocnění se rozvíjí v několika fázích a v kterékoliv fázi se může zastavit:

Brána vstupu - místo vstupu do organismu. Existují tři způsoby vniknutí do organismu a lokalizace v orgánech. Sliznicí dýchacího nebo trávicího traktu s následnou infekcí v místě vstupu (např. koronaviry, rotaviry), sliznicí s následným šířením krevním oběhem (viremií) nebo neurony k cílovému orgánu (např. hepatitida A a B). Krví po vpichu infikované jehly nebo kousnutím hmyzu a následným rozšířením do cílových orgánů (hepatitida B, flaviviry). **Místo primárního pomnožení v místě vstupu** – rinoviry v horních cestách dýchacích (nosní sliznice), rotaviry v trávicím traktu. **Šíření k cílové tkáni či orgánu** - např. enteroviry se šíří ze střevního epitelu a lymfatické tkáně krevním oběhem. **Sekundární pomnožení** – citlivá tkáň nebo tkáň, kam je viru zanesen. Nastává zde obvykle nejzávažnější poškození hostitele s charakteristickými klinickými příznaky. Poškození je různé od mírných zánětů přes funkční poškození až k závažným anatomickým destrukcím. **Vyloučení** – organismus se takto zbaví viru, nebo se jako s perzistorem ustaví dočasná rovnováha při latentní infekci.

Živočišné viry řadíme do 1 řádu Mononegavirales, 25 čeledí a skupin virů obratlovců a 16 čeledí a skupin virů bezobratlých.

Rozeznáváme 6 skupin živočišných virů:

I. skupina

Virion obsahuje ssRNA. Např. viry čeledi *Picornaviridae* (částice o průměru 27 nm) jsou původci vážných onemocnění: dětské obrny, střevních onemocnění (*Coxsackievirus*, *Echovirus*). Do této čeledi patří i nepasterovaným mlékem přenášený vir slintavky.

II. skupina

Virion obsahuje ssRNA a nukleoproteinový komplex, viriony jsou obaleny proteinovou blanou obsahující lipidy a glykoproteiny. Patří sem viry vztekliny, chřipky, spalniček, příušnic.

III. skupina

Genom tvoří 10 - 13 molekul dsRNA. Obsahují i subvirovou částici, jež má aktivitu RNA polymerasy. Patří sem často se vyskytující viry s nízkou patogenitou.

IV. skupina

Viriony obsahují vedle běžného virového genomu gen pro represní transkriptasu, která katalyzuje syntézu DNA podle molekuly RNA (opačný proces než běžná transkripce). Patří sem čeleď *Retroviridae* zahrnující onkogenní RNA viry (rakovina, leukemie), HIV-1, HIV-2, hepatitida B.

V. skupina

ssDNA. Patří sem např. čeleď *Parvoviridae* - mnohostěnné malé viriony (18 - 26 nm). Některé parvoviry se mohou rozmnožovat jen tehdy, když je hostitelská buňka současně infikována jiným virem. Kvůli této závislosti jsou označovány za superparazity (parazitují na jiném parazitu).

VI. skupina

Viriony obsahují dsDNA. Patří sem např. čeleď *Herpesviridae* (viry způsobující opary, pohlavní choroby), *Poxviridae* (neštovice, myxomatóza králíků).

3.1.7 Význam virů v potravinářství

Virové částice se v potravině vyskytují obvykle **v malých množstvích a nemnoží se v ní**. Potravinu a voda ale mohou být **významným vektorem virů**, které způsobují onemocnění člověka. Vznik onemocnění je dán vlastnostmi virů:

- **vysoká infekčnost** (u vnímavého jedince stačí několik virových částic),
- **uchování infekční aktivity dlouhou dobu** - chlazené potraviny (4 °C) několik týdnů, mražené potraviny (-18 °C) několik měsíců,
- **různě dlouhá inkubační doba** - dny až několik týdnů.

Ke kontaminaci potravin může docházet dvojím způsobem:

Primární kontaminace - biologická - vir se pomnožil v jatečném zvířeti před poražením,
- mechanická - kontaminace vodou, vir se ve svalovině nemnoží.

Sekundární kontaminace - mechanická kontaminace, vir se nemnoží, potravina je pouze vektor.

Přenos virů se u virů významných v potravinářství uskutečňuje nejčastěji **fekálně-orální cestou**, ale v některých případech může k přenosu docházet i vzduchem.

Z potravinářského hlediska jsou nejvýznamnější **vir hepatitidy A, norwalkviry, coxackieviry, rotaviry, coronaviry, adenoviry**.

Nejvýznamnějším alimentárně přenášeným virovým onemocněním je **virová hepatitida A**. Původcem je virus rodu *Hepatitisvirus* (RNA, 27 – 29 nm) z čeledi *Picornaviridae*. Je značně rezistentní vůči vlivům prostředí. Snáší 3,0 pH, běžnými pasteračními teplotami se neničí. Snáší i nižší koncentrace dekontaminačních látek. Přežívá běžné chlorování vody. Při -20 °C zůstává plně virulentní nejméně 1,5 roku. Devitalizuje se varem delším jak 5 min.

Zdroj nákazy: člověk - vir v krvi, stolici (prům. $10^7/g$), moči – vylučující vir 1 - 3 týdny před začátkem onemocnění a nejméně 1 týden (ale i měsíce) po propuknutí příznaků.

Rizikové skupiny: nejčastěji děti 5 - 10 let a osoby s nízkou úrovní hygieny.

Patogeneze a patogenita: vir se primárně množí pravděpodobně nejen v buňkách střevních krypt, ale i v epitelích žaludku a tlustého střeva. Do jater se dostává asi portálním oběhem a množí se v hepatocytech. Z nich se uvolňuje jak do žluče, tak do krve. Následuje poškození jater provázené klinickými příznaky nebo alespoň zjištěnou poruchou funkce jaterních buněk.

Inkubační doba: asi 4 týdny (15 - 45 dní).

Příznaky: preikterické stádium - vzrůst teploty, gastrointestinální potíže (nechutenství, zvracení, bolesti pod pravým žeberním obloukem), chřipkové příznaky (rýma a bronchitida), bolesti kloubů, kožní vyrážky. **Ikterické stádium** - pokles teploty, ikterus (žluté zbarvení - zvýšený obsah žlučového barviva bilirubinu) sliznic, kůže, bělma, tmavé zbarvení moče, světlá stolice. U dětí se infekce manifestuje horečkou, průjmem a zvracením. U dospělých bývá častější ikterus.

Prevence: zamezení sekundární kontaminace potravin, přísné dodržování osobní hygieny a zabezpečení hygienických podmínek výroby, zpracování a distribuce potravin.

Očkování: dvě dávky vakciny se aplikují v intervalu 6 až 18 měsíců. Imunita vzniká ve 3. týdnu po první dávce a přetrvává asi 1 rok. Přeočkováním druhou dávkou zanechává ochranu asi 20 let a pravděpodobně celoživotně.

Mnohem častější jsou ale **virové enteritidy**, které jsou zhruba ve 30 % původci **infekčních průjemových onemocnění**, a to především v zimních měsících. Často postihují děti. K nejčastějším původcům počítáme: rotaviry, koronaviry, enteroviry (ECHO, coxsackie), adenoviry (sérotypy 40, 41), norwalk a norwalk-like viry. Onemocnění se projevuje nauzeou, zvracením, horečkou, průjmy. Terapie spočívá především v rehydrataci a mírnění příznaků.

Mezi další onemocnění, která mohou být přenášena potravinami, patří **klíšťová encefalitida**. Přenos se uskutečňuje alimentární cestou přes tepelně neupravené kozí či ovčí sýr a mléčné výrobky. Známy je případ epidemie ze slovenské Rožňavy, kde v roce 1951 onemocnělo na 600 lidí touto nemocí v důsledku konzumace infikovaného mléka. V roce 1999 bylo na Vsetínsku diagnostikováno 22 případů, u nichž k nakažení došlo patrně v důsledku konzumace ovčího sýra vyrobeného z infikovaného mléka, v roce 2014 byly zaznamenány v ČR případy onemocnění po konzumaci nepasterovaného mléka.

3.1.8 Boj proti virům

Viry jsou většinou citlivé vůči nízkému pH, vysokým teplotám a UV záření. Odolné vůči nízkému pH v trávicím traktu jsou zejména bezobalové viry jako picornaviry, reoviry, adenoviry a parvoviry. Velice důležité je především **zabránit sekundární kontaminaci**. **Důkladná tepelná úprava** při kulinární úpravě je spolehlivým prostředkem k likvidaci potravinami přenášených virů (bílkoviny a tuky v potravinách zvyšují odolnost virů proti vyšším teplotám). K likvidaci virů v potravinářských provozech lze použít **UV záření** a oxidačních prostředků jako je **chlor** a chlorové preparáty.

Obecně nejúčinnější v boji proti virovým onemocněním je ochranné **očkování oslabenými viry** (obrna, spalničky) nebo podání **antiséra** (vzteklina).

3.1.9 Pozitivní význam virů

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

3.2 Priony

Starší název byl proiny. Jsou to **proteinové molekuly** kódované strukturním genem hostitelského organismu. Jsou původci řady chorob savců (přenosné spongiformní encefalopatie), které mají obvykle podobný průběh a příznaky. Způsobují v mozkové tkáni plaky, které se jeví jako ostrůvky a mozek nabývá houbovitého vzhledu. Společným patogenním agens je protein PrP^{Sc}. U skotu je to **bovinní spongiformní encefalopatie (BSE)** u koz a ovcí **scrapie - klusavka**, u koček spongiformní encefalopatie (FSE). U lidí jde např. o **Creutzfeld-Jakobovu chorobu**, onemocnění **kuru** (spojené s kanibalismem) či fatální familiární nespavost. Tato onemocnění jsou přenosná jak mezi jedinci, tak i na potomstvo, mohou být infekční (u člověka zatím neprokázán přenos), dědičná nebo sporadická. Přítomnost prionů bez patogenity byla zjištěna také u prakticky významných mikroorganismů - u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* (priony URE3 a PSI).

4 MIKROORGANISMY S PROKARYOTICKOU BUŇKOU

Prokaryotní typ buněk sdílejí dvě skupiny živých organismů. První je doména *Archaea* (dříve archebakterie), druhou je doména *Bacteria*, do které patří bakterie a sinice. Zvláštní skupinu organismů tvořících přechod mezi viry a bakteriemi reprezentují chlamydie, mykoplazmy a rickettsie.

4.1 Doména *Archaea*

Název pochází z řeckého arché = předek, počátek, původ. Jde v podstatě o pozůstatky nejstarších vývojových stupňů živých organismů. Představují zvláštní vývojovou větev, což se projevuje jejich **výraznými biochemickými odchylkami od ostatních organismů**. Jsou to půdní a vodní mikroorganismy vyskytující se především v anaerobních, hyperslaných nebo hydro- či geotermálně vyhřívaných prostředích (proto jsou označovány jako "extremofilové"). *Archaea* jsou **anaerobní, fakultativně anaerobní i aerobní, chemoautotrofní, chemoheterotrofní nebo mixotrofní**. Mohou být **mezofilní nebo termofilní** (někteří zástupci rostou i při teplotách 110 °C).

Morfologicky jde o velmi rozmanitou skupinu mikroorganismů od koků a tyčinek přes spirálovité, laločnaté nebo ploché útvary až k mnohobuněčným vláknům a agregátům. Průměr jednotlivých buněk se pohybuje od 0,1 μm k >15 μm. Některé *Archaea* **nemají buněčnou stěnu** a jejich povrch tvoří jen cytoplazmatická membrána. Pokud je buněčná stěna přítomna, je tvořena buď jen vrstvou bílkovin nebo tzv. **pseudomureinem**

(N-acetylglukosamin). Kyselina muramová, obsažená v buněčných stěnách bakterií, chybí. Další rozdíly mezi *Archaea* a bakteriemi uvádí Tab. 2.

Reprodukce probíhá **nepohlavně** především příčným dělením, pučením, zaškracením nebo fragmentací.

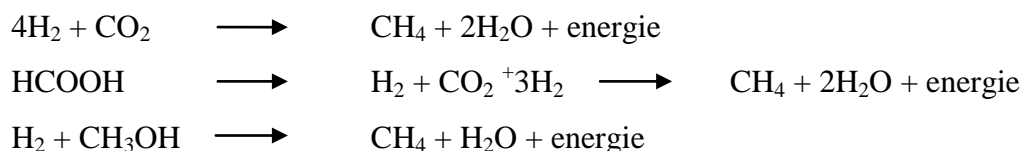
Tabulka 2: **Znaky odlišující doménu Archaea od Bacteria** (Sedláček, 2007)

Znak	<i>Archaea</i>	<i>Bacteria</i>
Buněčná stěna obsahuje kyselinu muramovou	-	+
Eterová vazba mezi glycerolem a karboxykyselinami	+	-
Mastné kyseliny navázány na glycerol esterovou vazbou	-	+
První aminokyselina při proteosyntéze je:		
Methionin	+	-
N-formylmethionin	-	+
Proteosyntéza inhybována anisomycinem	+	-
Proteosyntéza inhibována kanamycinem, chloramfenikolem	-	+
Některé tRNA geny obsahují introny	+	-
RNA polymerázy jsou:		
vícesložkové enzymy	+	-
inhibovány rifampicinem	-	+

Z fyziologického hlediska můžeme *Archaea* rozdělit do 3 skupin:

Extrémně halofilní – většinou gramnegativní, chemoheterotrofní, aerobní až fakultativně anaerobní. Vyžadují vysoký obsah NaCl v prostředí. Optimum je okolo 20 - 26 % NaCl rostou i v 30 % (nasycený roztok), jen málo jich roste v 8,8 % NaCl. Produkují barviva – **bakterioruberiny** (červená barviva), která je chrání před vlivem UV záření. Mají silné proteolytické schopnosti, proto se podílí na kažení silně soleného masa a ryb. Z významných zástupců lze jmenovat např. *Halococcus* a *Halobacterium*.

Methanogenní – striktně anaerobní archae (tyčinky, koky, pohyblivé i nepohyblivé, grampozitivní i gramnegativní). Přeměňují jedno- i víceuhlíkaté sloučeniny na methan (CH₄). Přeměnu určitého uhlíkatého substrátu zajišťuje zpravidla jen určitý druh archae. Příčinou je odlišná rychlost růstu a množení methanogenních archae na různých substrátech. Např. jejich generační doba (tj. doba, za kterou zdvojnásobí svůj počet) činí při využívání CO₂ a H₂ jen 9 - 24 h, zatímco při využívání kyseliny octové 2 - 10 dnů.



Klíčovým enzymem v procesu metanogeneze je methylkoenzym-M-reduktasa. Methanogenní *Archaea* se vyskytují v bahně, stojatých vodách, vyhnívacích nádržích ale také v bachoru přežvýkavců (mj. druhy rodů *Methanobacterium* a *Methanosarcina*).

Jsou to technologicky velmi důležité mikroorganismy, produkující bioplyn (směs methanu a dalších plynů - CO₂, H₂, N₂, H₂S), např. *Methanobacterium barkerii*, *Methanothrix* sp.

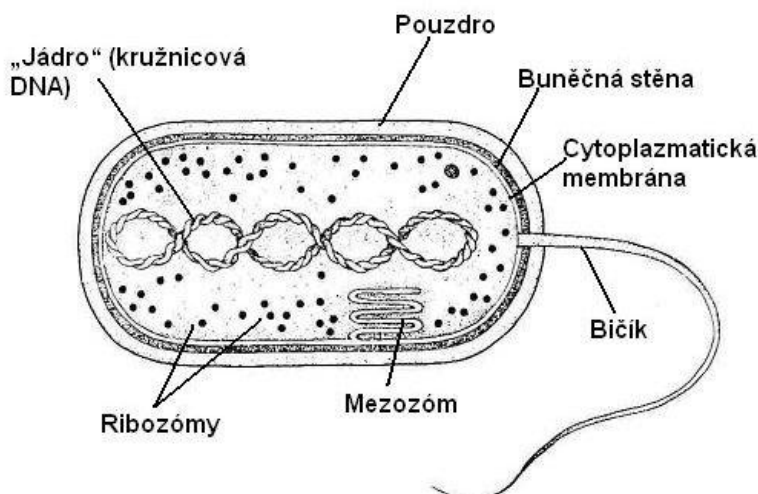
Extrémně termofilní (hypertermofilní) – gramnegativní, obligátně termofilní, aerobní, fakultativně anaerobní i striktně anaerobní. Většina druhů má optimální teplotu růstu mezi 70 až 105 °C. Za aerobních podmínek oxidují H₂S nebo S na H₂SO₄ a za anaerobních redukují elementární síru na H₂S. Vyskytují se v místech s vulkanickou a postvulkanickou činností, jako jsou jícny a okolí činných sopek a horké sirné prameny. Patří sem příslušníci rodů *Sulfolobus*, *Acidianus*, *Thermococcus*, *Thermoproteus* či druhy rodu *Pyrodictium*, které mají optimální teplotu růstu 97 - 105 °C.

4.2 Doména *Bacteria*

Do této domény patří mikroorganismy s prokaryotickou buňkou – bakterie a sinice.

4.2.1 Stavba bakteriální buňky

Prokaryotní mikroorganismy mají jednodušší stavbu buňky než eukaryotní mikroorganismy. U prokaryotní buňky (viz Obr. 2) rozeznáváme **základní struktury**, které jsou až na výjimky vlastní všem buňkám. Jsou to **buněčná stěna**, **cytoplazmatická membrána**, **cytoplazma**, **jaderná hmota (nukleoid)** a **ribozomy**. Vedle těchto základních struktur mohou mít bakterie rovněž **doplňkové útvary**, jako například pouzdro, bičíky, fimbrie, spory.



Obrázek 2: **Prokaryotická (bakteriální) buňka** (Říhová Ambrožová, 2007)

4.2.1.1 Buněčná stěna

Odděluje buňky od vnějšího prostředí, chrání je před nepříznivými vlivy a dává bakteriím tvar. Její složení je odlišné u grampozitivních a gramnegativních bakterií. Pevnost a malá ohebnost buněčné stěny je dána přítomností peptidoglykanu (zvaného též mukopeptid nebo murein z lat. murus = stěna).

Peptidoglykan se skládá z polysacharidových vláken tvořených molekulami N-acetylglukosaminu a kyseliny N-acetylmuramové. Paralelně položené řetězce těchto polysacharidů jsou vzájemně spojeny prostřednictvím tetra- nebo pentapeptidů, a to peptidovou vazbou přes karboxylovou skupinu muramové kyseliny (β -1-4 vazba). V těchto peptidech je přítomno několik typů aminokyselin, z toho vždy alespoň jedna se dvěma aminoskupinami v molekule. Tloušťka peptidoglykanové vrstvy se liší podle druhu bakterie. Glykanová složka je relativně stálá, kdežto peptidová je velmi proměnlivá. V buněčné stěně eukaryot se peptidoglykan nevyskytuje.

Bakterie s oslabenou nebo odstraněnou buněčnou stěnou má kulovitý tvar a po úplném odstranění vzniká v izotonickém prostředí **protoplast** (např. působením lysozymu). Pokud zůstane část buněčné stěny na povrchu buňky, potom tyto buňky označujeme jako **sféroplasty** (např. působením β -laktamových antibiotik na gramnegativní bakterie). Jak protoplasty tak sféroplasty jsou citlivé na osmotický tlak prostředí.

Podle výsledku **Gramova barvení** (podle Ch. Grama 1884), které zahrnuje dvojitý barvení, (moření jodovým roztokem a působení organického rozpouštědla), můžeme bakterie rozdělit na dvě základní skupiny: 1) **grampozitivní (G+)**, které v buněčné stěně zadržují

první použité barvivo (krystalová violet) i po moření jodovým roztokem a působení organických rozpouštědel (ethanol, aceton) a 2) **gramnegativní (G-)**, které se po působení rozpouštědla odbarví a barví se druhým použitým barvivem (např. safranin). Odlišnost barvení spočívá v odlišné stavbě buněčné stěny.

Buněčná stěna grampozitivních bakterií

Hlavní složkou asi 20 nm silné buněčné stěny je **silná peptidoglykanová vrstva**, která je prostoupena lineárními řetězci **teichoové kyseliny** (ve vodě rozpustný polymer glycerolfosfátu nebo ribitolfosfátu s glykosidicky vázanými cukry), vázanými kovalentní vazbou na muramovou kyselinu. Kromě teichoové kyseliny jsou na peptidoglykan vázány ještě polysacharidy tvořené glukosou, galaktosou, manosou a dalšími monosacharidy. Jejich složení je specifické pro jednotlivé skupiny bakterií a je zodpovědné za imunochemické reakce (specifické antigenní vlastnosti jednotlivých skupin bakterií). Až na výjimky (např. mykobakterie, korynebakterie aj.) neobsahuje lipidy.

Buněčná stěna gramnegativních bakterií

Je tenčí asi 10 - 15 nm, ale má složitější stavbu. Peptidoglykan tvoří jen tenkou vrstvu bez kyseliny teichoové. Další významnou součástí je tzv. **vnější membrána**, která obsahuje fosfolipidy, strukturní i enzymové proteiny, lipoproteiny a lipopolysacharidy. Mezi vnější membránou a peptidoglykanovou vrstvou je tzv. **periplazmový prostor** obsahující různé enzymy (především hydrolytické), živiny a metabolity. Ve vnější membráně jsou zanořeny **kanálky - póry**, které umožňují průchod malých molekul rozpuštěných látek přes vnější membránu, tvořené trimery bílkoviny zvané **porin**. Tyto póry zasahují až k peptidoglykanu, k němuž jsou vázány. Na povrchu vnější membrány se nachází **lipopolysacharid (LPS)** je to komplexní sloučenina, jejíž složení není jednotné a závisí na druhu i kmenu bakterie. Většinou jde o oligomer složený z několika monomerních jednotek. Tyto jednotky tvoří tři části: lipid A, základní a specifický polysacharid. **Lipid A** je vnitřní částí LPS a je společný pro všechny LPS. Je toxický pro živočišné buňky a zodpovědný za **endotoxickou vlastnost LPS**. **Specifický polysacharid** vyčnívá kolmo do prostředí nad povrch buňky. Jeho složení je vysoce charakteristické pro jednotlivé kmeny a druhy bakterií. Z imunologického hlediska odpovídá za **somatickou antigenitu** G- bakterií a je označován jako **O-antigen**. **Základní polysacharid** představuje střední část molekuly LPS, je složený z více než 10 lineárně i bočně vázaných cukrů a jeho struktura je přibližně stejná pro většinu G- bakterií.

V krvi savců vyvolává LPS určitého chemického složení syntézu specifické protilátky a výsledkem je imunita, tj. odolnost vůči tomuto LPS. Rozdíly ve složení LPS podmiňují velké množství **sérovarů** u některých druhů bakterií (např. *Salmonella enterica* má přes 2500 sérovarů). Bílkoviny vnější membrány jsou odlišné od bílkovin cytoplazmatické membrány.

Syntézu peptidoglykanů inhibuje penicilin, který je antagonistou kyseliny muramové. V přítomnosti určitých koncentrací penicilinu v růstovém prostředí, které má stejný osmotický tlak jako vnitřní prostředí bakteriální buňky, exkretují bakterie do prostředí deriváty muramové kyseliny a tvoří buňky neobvyklých tvarů s defektní buněčnou stěnou. Označujeme je jako tzv. **L-formy** bakterií. Ty jsou velmi citlivé na snížení osmotického tlaku. Za vhodných podmínek však mohou regenerovat v normální buňky.

Základní rozdíly ve složení buněčné stěny G+ a G- bakterií uvádí Tab. 3

Tab. 3 Charakteristika buněčné stěny G+ a G- bakterií

	G+	G-
Barvení	zadržuje barvivo	barvivo lze odstranit
Peptidoglykan	vícevrstevný	jednovrstevný
Kyselina teichoová	přítomna	chybí
Periplazmový prostor	chybí	přítomen
Vnější membrána	chybí	přítomna
Lipidy a liposacharidy	ojediněle	vysoký obsah
Produkce toxinů	exotoxiny	endotoxiny
Odolnost k suchu	vysoká	nízká
Odolnost k mechanickému poškození	vysoká	nízká
Citlivost k antibiotikům		
penicilin, sulfonamid	vysoká	nízká
streptomycin, tetracyklin	nízká	vysoká
chloramfenikol	nízká	vysoká
Citlivost k detergentům aniontovým	vysoká	nízká

4.2.1.2 Cytoplazmatická membrána

Je to v podstatě **jediná membrána** prokaryotické buňky. Je elastická a citlivě reaguje na změny objemu cytoplazmy. Cytoplazmatická membrána se skládá ze tří vrstev: ze dvou okrajových proteinových (síla asi 2 nm) a jedné střední vrstvy (3,5 nm) lipidů (celková tloušťka 7,5 nm). Trojvrstvé membrány najdeme v buňkách všech živých organismů.

Cytoplazmatická membrána je semipermeabilní - středová vrstva lipidů je hydrofobní, okrajové vrstvy proteinů hydrofilní, složená především z lipidů (dvojvrstva fosfolipidů a další lipidy - asi 30 % hmotnosti) a proteinů (asi 70 % hmotnosti). Cytoplazmatická membrána tvoří osmotické rozhraní mezi buňkou a vnějším prostředím.

Cytoplazmatická membrána je **sídlem dýchacích enzymů, systému oxidační fosforylace, enzymů účastnících se syntézy a hydrolýzy fosfolipidů a konečné fáze syntézy buněčné stěny a pouzdrových obalů**. Jejimi póry mohou volnou difuzí procházet pouze nízkomolekulární sloučeniny bez elektrického náboje, lipidovou složkou látky rozpustné v tucích. Ostatní látky včetně iontů kovů se dostávají do cytoplazmy specifickými transportními bílkovinami (transferasy), které umožňují molekulám průnik membránou. Další důležitou funkcí je **recepce (vnímání) signálů** z okolního prostředí, které regulují chování buňky.

Z cytoplazmatické membrány vybíhají do cytoplazmy různé vychlípeniny. Jejich počet a velikost závisí na druhu bakterií. Jedním druhem jsou **mesozomy**, které mají význam při tvorbě příčného septa při dělení buňky, podílejí se na sporulaci a přítomnost funkčních bílkovin pravděpodobně zabezpečuje i jejich účast na dýchání některých bakterií (např. nitrifikačních). V cytoplazmatické membráně fototrofních bakterií jsou struktury, do nichž se soustřeďuje **bakteriochlorofyl** a ostatní pigmenty účastnící se fotosyntézy a v nichž absorbují světlo o určitém rozsahu vlnové délky (např. tylakoidní membránový systém, chlorozomy, intracytoplazmatické membrány – ICM). Při růstu na světle je veškerá cytoplazma těchto bakterií prostoupena nádobkovými nebo lamelárními vychlípeninami této membrány.

4.2.1.3 Cytoplazma

Cytoplazma vyplňuje vnitřní prostředí buňky a vytváří příznivé prostředí pro jadernou hmotu (nukleoid) a ribozomy. Vlastní matrix cytoplazmy je **koloidní roztok proteinů a lipidů**. Cytoplazma obsahuje rezervní látky (např. lipidy) ve formě kapének, enzymy, meziprodukty metabolismu, některé anorganické ionty. Obsahuje více jak 50 % všech proteinů buňky a téměř všechny mají funkci enzymů. Základní cytoplazma je acidofilní, barví se kyselými barvivy, zatímco další struktury se barví zásaditými barvivy. Význačnou vlastností cytoplazmy prokaryot je vysoký obsah RNA.

Barviva

Cytoplazma některých bakterií obsahuje různá barviva. Nejčastěji jsou to **barviva karotenoidní**, zbarvující buňky a kolonie žlutě, oranžově, růžově až červeně. Některé bakterie obsahují černá **barviva melaninoidního typu**. Jak karotenoidní tak melanoidní i

některá další barviva nejsou buňkami exkretována do okolního prostředí. Naopak **fenazinová barviva** (modrá, žlutozelená, červená), která produkují někteří příslušníci rodu *Pseudomonas*, a řada dalších barviv jsou do prostředí exkretována.

Rezervní látky

V cytoplazmě je obsažena řada rezervních látek, ve formě zrníček, granulí nebo kapének, jako zdroj energie a některých prvků. Jde především o **volutin** (polyfosfát, je zásobárnou fosfátu pro energetický metabolismus) a **kyselinu poly- β -hydroxymáselnou**. Neutrální tuky (glyceridy vyšších mastných kyselin) se u bakterií jako rezervní látky nevyskytují. Některé bakterie obsahují jako zásobní látku polysacharid **granulosu**. U některých sírných autotrofních bakterií, získávajících energii oxidací anorganických sloučenin síry (např. rod *Thiobacillus*), jsou v buňkách ukládána **zrníčka síry** jako rezervní zdroj energie.

4.2.1.4 Ribozomy

Jsou to elipsoidní tělíska s průměrem 20 nm. V prokaryotní buňce jsou uloženy volně v cytoplazmě, příp. mohou být vázány na cytoplazmatickou membránu. Jsou tvořeny RNA (tři formy RNA) a bílkoviny. Počet ribozomů v cytoplazmě je vysoký a proměnlivý. Při nízké metabolické aktivitě jich má prokaryotní buňka kolem 1 tisíce, metabolicky aktivní buňky jich mají kolem 15 tisíc. Vysoký počet ribozomů umožňuje rychlou syntézu buněčné hmoty.

4.2.1.5 Jaderný materiál bakteriální buňky

Jaderný materiál bakterií neboli **nukleoid** je jediná molekula DNA, doprovázená malým množstvím polyaminů, s uzavřenou (kružnicovou) strukturou. Tvoří s ní současně jediný **bakteriální chromozom**, který je napojen na vnitřní stranu cytoplazmatické membrány resp. mesozom. Od cytoplazmy **není oddělen membránou**. V rozvinutém stavu má délku okolo 1 mm. Kokovité buňky jsou zpravidla mononukleoidní, tyčinkovité mohou mít 1 až 2 nukleoidy a ve fázi rozmnožování až čtyři.

Úseky DNA představují informaci o složení bílkoviny nebo RNA, nebo mají regulační funkci a jsou označovány jako **geny**. DNA *E. coli* obsahuje asi 5×10^6 párů bazí, což představuje materiál pro zhruba 3000 genů.

Prokaryotický chromozom se replikuje z jednoho bodu tzv. **počátku replikace (iniciační bod)**, který má specifickou sekvenci DNA. Replikace postupuje na obě strany

kružnicové molekuly a končí v bodě, který je protilehlý počátku replikace. Na tento proces navazuje buněčné dělení.

4.2.1.6 Plazmidy

Bakterie mohou, ale nemusí obsahovat kromě nukleoid tvořící DNA i **extrachromozomální DNA** ve formě malých (asi stokrát menších než chromozomální DNA) kružnicových molekul nazývaných **plazmidy**. Jde o dodatkovou nebo přídavnou DNA, která může zvýhodňovat svého nositele. Plazmidy kódují např. rezistenci k antibiotikům, k těžkým kovům, produkci antibiotik, toxinů a bílkovin toxických pro jiné bakterie, tvorbu restričních a modifikačních enzymů, degradaci a oxidaci biologicky inertních nebo toxických organických látek (ropa, toluen, benzaldehyd apod.), schopnost symbiózy hlízkových bakterií s bobovitými rostlinami. Replikace probíhá většinou souběžně s replikací nukleoidové DNA. **Konjugativní plazmidy** mohou přecházet z jedné buňky do druhé a to i jiného bakteriálního druhu. **Nekonjugativní plazmidy** se mohou přenášet transdukci pomocí bakteriofágů (v hlavičce je uzavřena DNA plazmidu místo fágové DNA).

Kromě výše uvedených základních součástí prokaryotické buňky disponují některé bakterie ještě dalšími doplňkovými strukturami, které jim napomáhají přežít v prostředí a mnohdy je zvýhodňují oproti jiným mikroorganismům.

4.2.1.7 Bičíky (flagela)

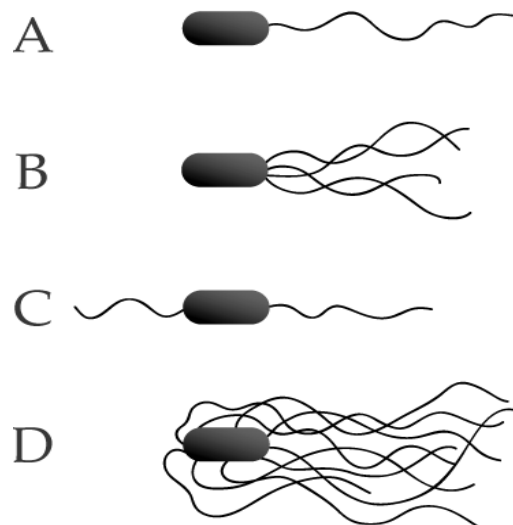
Bičíky slouží k pohybu bakterií. Jejich umístění a počet je charakteristickým taxonomickým znakem. Jsou to dlouhá tenká vlákna o průměru 10 - 20 nm, většinou výrazně delší než bakteriální buňka. Obsahují bílkovinu **flagelin**, který z fyziologického hlediska představuje H-antigen. Jsou křehké a snadno se odlamují.

Bičík se skládá ze tří částí. **Bazální část (bazální tělísko)** je připojeno k cytoplazmatické membráně. U G- bakterií je tvořeno čtyřmi kroužky (označení kroužků L, P, S, M). Kroužek M funguje jako rotor a kroužek S jako stator, kroužky L a P tvoří jakési ložisko, kterým otáčivá osa bičíku prostupuje vnější membránou. G+ bakterie mají pouze kroužky M a S. Další dvě části bičíku jsou **háček** (angl. hook), dutý rukávec zpevňující spodní část vlákna a přenášející rotační pohyb z bazálního tělíska a vlastní **vlákno** (filamentum).

Podle počtu a uložení bičíků na buňce můžeme bakterie rozdělit do několika skupin (viz Obr. 3). Bakterie, které netvoří bičíky, označujeme jako **atricha**. **Monotricha** mají jeden

bičík na jednom pólu buňky, umožňuje jim přímočarý pohyb dopředu s malými odchýleními do stran (např. u *Vibrio cholerae*). **Lofotricha** mají po svazku bičíků na jednom nebo na obou pólech buňky, který jim umožňuje vlnitý pohyb jedním nebo dvěma směry - dopředu a dozadu (např. u *Pseudomonas synciena*). **Amfitricha** mají po jednom bičíku na obou pólech, umožňují jim přímočarý pohyb dopředu a dozadu (např. u *Spirillum volutans*). **Peritricha** mají bičíky po celém povrchu buňky a mohou se pohybovat libovolným směrem (např. *Escherichia coli*).

Vlákno bičíku se pohybuje **rotačním pohybem** po celé své délce a je poháněno mechanismem bazálního tělíska. Rotace probíhá ve směru doleva, směr rotace se ale může změnit doprava. Bičíky *E. coli* společně rotují rychlostí asi 18 000 otáček za minutu a posunují bakterii o 30 μm za sekundu. U některých bakterií je rotace bičíku až pětkrát rychlejší než u *E. coli* a posun je až o desetinu mm za sekundu.



Obrázek 3: **Variety rozmístění bičíků na bakteriální buňce:** A – monotricha, B – lofotricha, C – amfitricha, D – peritricha (wikipedia, Bacteria diagrams, CC-BY-SA-2.5,2.0,1.0, Flagella)

Aktivní pohyb buňky je charakteristický pro počáteční růstové fáze. Starší buňky lehce bičíky ztrácí, přestávají se pohybovat. Pohyblivost je ovlivněna různými faktory např. teplotou, konzistencí a složením prostředí. Pohyb chemotaxí směřuje ke zdroji živin nebo od toxických látek. Podobná reakce aerobů a anaerobů na kyslík se nazývá aerotaxe.

Flagelární pohyb bakterií se může uskutečňovat jen v tekutém prostředí. Bakterie se často pohybují jen v tenké kapilární vrstvě na živém nebo neživém pevném povrchu. Tam také často tvoří kolonie nebo biofilm. Po pevném podkladu se pohybují bakterie jiným způsobem klouzáním po hladkém povrchu, který si sami upravují, nebo trhavým pohybem pomocí univerzální fimbrie a konečně i bičíky. Např. *Proteus mirabilis* tyčinka o rozměrech 1 x 1 - 2 μm začne v kolonii tvořit dlouhé **plazivé buňky** až s několika tisíci velmi dlouhých bičíků. Buňky se uspořádávají do svazků s několika ohnutými buňkami na hrotu. V tomto společenství se mohou pohybovat, jednotlivé buňky se nepohybují. Plazení je koordinovaný pohyb mnoha buněk. Putující svazky se postupně oddělují a po usazení se vrací do původní podoby. Buňky cestují z okraje kolonie také klouzáním, což je méně obvyklý způsob pohybu pro bičíkaté bakterie. Vysouvají se v paralelně uspořádaných provazcích a posunují se po sobě vpřed i vzad, kloužou jedna po druhé.

Zvláštní **způsob pohybu rotační** (vývrtkovitý) mají **spirochety**, které tvoří dlouhé ohebné buňky tvaru nepravidelné šroubovice. Pohybují se pomocí jednoho či více axiálních vláken ukotvených na pólech buňky. Vlákna se zkracují nebo prodlužují a tak uvádí buňku do pohybu. **Myxobakterie**, které nemají zvláštní pohybové útvary, **vylučují sliz**, po němž pomalu kloužou po pevném substrátu nebo po hladině kapaliny. Vlákňité bakterie rodu *Beggiatoa* a příbuzných rodů se pohybují **ohybem svých vláken**. *Mycoplasma mobile*, jejímiž útvary pohybu jsou **dva bílkovinné výrůstky** na povrchu, se jedním z nich opře o povrch a druhým se odstrčí s takovou energií, že se za sekundu posune až o 4 μm .

4.2.1.8 Fimbrie (pili)

Na povrchu gramnegativních bakterií lze pozorovat vedle bičíků kratší, křehká a početnější (několik set) vlákna označovaná jako **fimbrie** (fimbriae = třáseň, třepení) neboli **pili** (pilus = vlas). Jsou tvořena podjednotkami bílkovin, označovanými jako **piliny**, uspořádanými do šroubovice. Nejsou primárně pohybovým útvarem buňky. Mají několikerou funkci, **adherují na povrch sliznice** (mají funkci adhezínů, adherencí začíná první stupeň infekčního procesu), **zakládají biofilm i na pevné neživé podložce**. Je jich několik typů, fimbrie typu I u enterobakterií se vážou na glykoproteinové receptory buněk sliznice, fimbrie typu IV adherují i na bakterie, jsou relativně dlouhé, smrštitelné a mohou tak přitáhnout adherovanou bakterii. Tato fimbrie může sloužit k trhavému pohybu (např. u *Pseudomonas aeruginosa*). Fimbrie F čili sex fimbrie jsou nezbytné k vzájemné konjugaci mezi bakteriemi. Jsou to duté kanálky, kterými při konjugaci přechází fragment DNA z buňky do buňky. Fimbrii s genetickou funkcí si buňka vytváří pouze jednu či dvě.

4.2.1.9 Slizový obal

Některé bakterie tvoří kolem svých buněk slizový obal z polysacharidů nebo polypeptidů. Pokud slizový obal tvoří souvislou a od vnějšího prostředí zřetelně oddělenou vrstvu, silnou asi 1 μ m, nazývá se **pouzdro** (kapsule). Je většinou polysacharidové povahy (*Streptococcus pneumoniae*, *Leuconostoc*), někdy polypeptidové (*Bacillus anthracis*), či jde o velmi tenkou vrstvu kyseliny hyaluronové (*Streptococcus pyogenes*). Pouzdro chrání buňku před nepříznivými vlivy prostředí (sucho) a proti fagocytóze. Opouzdrěné kmeny bakterií jsou mnohem virulentnější než neopouzdrěné kmeny téhož druhu. Pouzdra, jejichž tloušťka nepřesahuje 0,2 nm, se nazývají **mikrokapsule**.

Některé bakterie produkují **volný sliz**, který se difuzně zředí do růstového prostředí. V prostředí s dostatkem sacharidů tvoří velké množství slizu a mohou tak působit problémy v potravinářském průmyslu. *Leuconostoc mesenteroides* může způsobovat rosolovatění slazených minerálních vod, ucpávat potrubí v cukrovarech, působit aglutinaci droždí a tím snižovat jeho kvasné schopnosti. *Bacillus subtilis* a některé další bacily mohou způsobovat nitkovitost pečiva. Produkce slizu lze i využít *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* produkuje dextrans, jež se využívá jako náhrada krevní plazmy. Hyaluronová kyselina produkovaná druhy rodu *Streptococcus* a *Pasteurella* se používá v kosmetice a lékařství.

Glykokalix, tj. síť polysacharidových nebo glykoproteinových vláken kolem vlastní buňky, se tvoří pouze při rozmnožování v přírodním prostředí. Vláknky se buňky uchycují na různé povrchy, aby si zajistily více živin, včetně citlivých buněk nebo tkání hostitele.

4.2.1.10 Spory bakterií

Některé rody bakterií mohou v nepříznivých podmínkách přeměnit svou fyziologicky aktivní vegetativní buňku v klidové dormantní stádium s téměř nulovým metabolismem označované jako **spora (endospora)**. Mezi sporotvorné bakterie patří především rody *Bacillus*, *Clostridium* a *Desulfotomaculum* a dále např. bakterie rodů *Sporolactobacillus*, *Sporosarcina* a *Oscillospira*. Bakterie většinou začínají tvořit spory na konci exponenciální růstové fáze. Tvorba spory (sporulace) trvá asi 5 – 10 hodin. Proces sporulace lze rozdělit do sedmi fází 0 až VII. **Fáze 0** – vlastní vegetativní buňka před sporulací. **Fáze I** – změna jaderného materiálu - z kulovitěho útvaru nukleoidu vzniká vláknitý útvar podélně umístěný v buňce. **Fáze II** - vytvoření septa – v cytoplazmě se vytvoří septum vychlípěním cytoplazmatické membrány, které oddělí cytoplazmu vegetativní buňky od prostředí budoucí spory – protoplastu, které obsahuje chromozom, ribozomy, cytoplazmu, enzymy, zásobní látky a další složky. **Fáze III** – vznik prespory – vychlípěním septa vznikají další dvě membrány (vnitřní a vnější) se

selektivní permeabilitou a intenzivní enzymatickou činností. Tím vznikne uvnitř vegetativní buňky dvojitou membránou obalený útvar – **prespora**. Prespora je ještě citlivá k nepříznivým podmínkám. Po vzniku prespory je proces sporulace nevratný, sporulace je dokončena bez ohledu na změny vnějších podmínek prostředí. **Fáze IV** – tvorba obalových vrstev – mezi vnější a vnitřní membránou se začíná tvořit silná, peptidoglykanová vrstva specifické stavby zvaná **kortex**. Mezi vnitřní stěnou a kortexem se tvoří sporová stěna, která je základem budoucí buněčné stěny. Začíná se tvořit vnější plášť, složený ze dvou vrstev bílkovinné povahy a obsahující velké množství cysteinu. Začíná se tvořit kyselina dipikolinová a hromadit vápník. U některých bakterií se tvoří na povrchu ještě další volná blána exosporium. **Fáze V** – zrání spory – dokončuje se tvorba vnějšího pláště, pokračuje tvorba dipikolinátu vápenatého, spora ztrácí vodu (až na 15 %). Oba faktory jsou příčinou termorezistence spory. **Fáze VI** – uvolnění spory – nastává jen u některých druhů.

Energii na syntézu sporových struktur buňka získává oxidací poly- β -hydroxymáselné kyseliny. K zahájení sporulace je potřeba přítomnost Ca^{2+} , NH_4^+ , Mn^{2+} , Ni^{2+} , NO_3^- , SO_4^{2-} , a PO_4^{3-} .

Nejvnitřnější membránou obalujícím protoplast spory je cytoplazmatická membrána, nad ní je vrstva peptidoglykanu, pak silný kortex dávající spoře odolnost proti vysokým teplotám, mechanickým vlivům atd. Následuje plášť, který je pravděpodobně zodpovědný za rezistenci vůči chemikáliím, UV a ionizujícímu záření. Na povrchu může být ještě exosporium. Protoplast obsahuje úplný genom, úplný proteosyntetický aparát včetně ribozomů, tRNA, enzymy a bílkovinné faktory.

Bakteriální endospory se vyznačují řadou vlastností umožňující přežití v nepříznivých podmínkách. Jsou **rezistentní vůči vysychání, hladovění a jiným nepříznivým podmínkám** - spora je v hypobioze - má tedy minimální metabolismus. **Spory jsou termorezistentní** v důsledku nízkého obsahu vody, přítomnosti dipikolinátu vápenatého a lipidů v obalových vrstvách. **Spory snáší za normálních podmínek i několikahodinový var a jsou likvidovány teplotou 115 – 120 °C po 15 – 30 min. Kyselé prostředí snižuje termorezistenci**, přítomnost lipidů a bílkovin a vyšší koncentrace cukrů termorezistenci zvyšuje. Kyselé potraviny (pod pH 4,0) stačí zahřívát na 80 - 100 °C protože v kyselém prostředí spory nevyklíčí v novou vegetativní buňku. Spory **jsou odolné vůči toxickým látkám** díky nepropustnosti obalů. **Mají mírně zvýšenou radiorezistenci** v důsledku přítomnosti sirných aminokyselin v obalech. Nízký obsah vody zastavuje pohyb volných radikálů po ozáření.

V buňce se zpravidla tvoří jedna světlolomná kulatá nebo oválná spora, která může být umístěna **centrálně** uprostřed buňky, **terminálně** na konci, nebo **subterminálně** mezi středem a koncem buňky. Spory mohou, ale nemusí deformovat původní tvar buňky. K deformacím dochází zejména u rodu *Clostridium*, u něž se tvoří typické útvary (vřetenovité **klostridium** a kyjovité **plektridium**), deformace buněk sporami se vyskytuje i u zástupců rodu *Bacillus*. Tvar, umístění spory a případná deformace buňky jsou důležitými rozpoznávacími znaky.

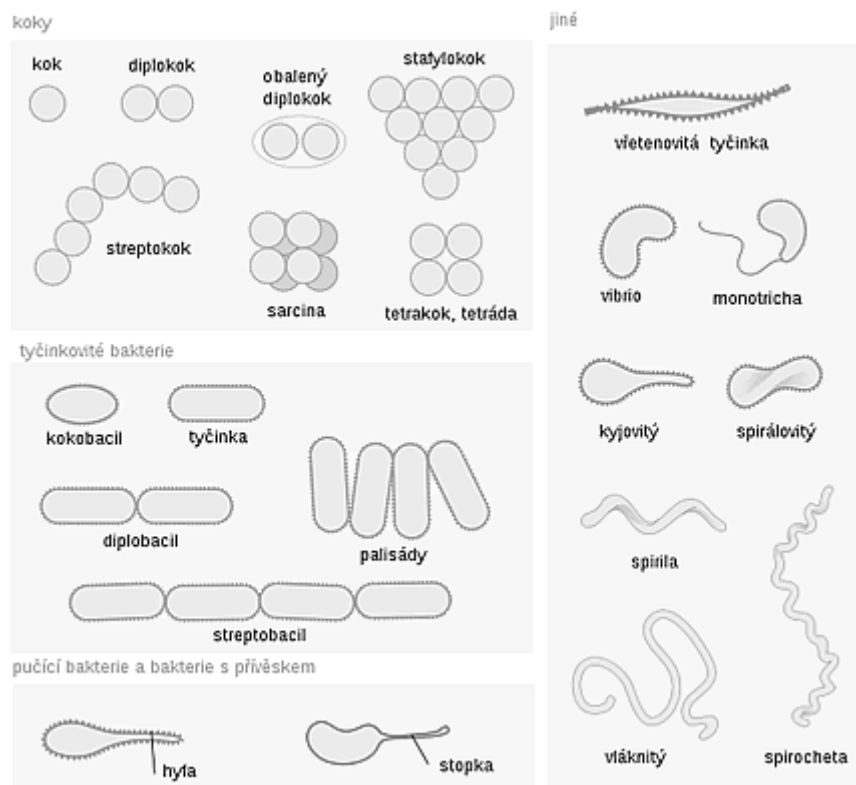
Proces vyklíčení spory a vznik nové vegetativní buňky nazýváme **germinace**. Nastává tehdy, změní-li se nepříznivé podmínky na vhodné pro život bakterie. Hlavním aktivátorem je dostatek vody, kterou spora absorbuje, dalšími podmínkami je dostatek živin, vhodné pH a teplota. Některé spory tak činí spontánně, jiné musí být aktivovány. První fází je **aktivace** působením nepříznivých činitelů (nízké pH, vyšší teplota – tepelný šok 60 - 80 °C 2 - 5 min. u některých bakterií urychlí germinaci, mechanické účinky) nebo stárnutím spory. Druhou fází je **vlastní germinace**. Je to nevratný děj zahrnující celý komplex metabolických přeměn. Vyžaduje přítomnost vody, nastává hydrolýza kortexu, do prostředí se uvolňuje dipikolinát vápenatý, do spory vstupují ionty draslíku, hořčíku aj., dochází ke ztrátě světlolomnosti a termorezistence. Rozkladné procesy katalyzují enzymy obsažené ve spoře. Poslední fází jsou **biosyntetické procesy**, kdy se vytvářejí nové bílkoviny, nukleové kyseliny a další substance. Proces germinace je podstatně kratší než sporulace, trvá asi 30 až 60 min.

4.2.2 Tvar a velikost bakteriální buňky

Tvar bakterií je nejčastěji tyčinkovitý nebo kulovitý a nemusí být vždy pravidelný, vyskytnout se mohou i jiné tvary například dlouhá vlákna, která se mohou i větvit (viz Obr. 4).

Nejběžnějším tvarem jsou **tyčinky**. Latinský název bacillus stejně jako bacterium (řecky baktérion = hůlka) rovněž značí tyčinku. Tyčinky mohou být **rovné** (většina bakterií např. *Bacillus*, *E. coli*, *Salmonella*), **krátké tyčinky** se označují jako kokobacily nebo kokobakterie (*Acinetobacter calcoaceticus*), dlouhá větvcí se **vlákna** tvoří aktinomycety, **štíhlé tyčinky** tvoří *Clostridium tetani*, **robustní Lactobacillus** a *Clostridium perfringens*, **zakřivené tyčinky** (rohličkovité) tvoří *Vibrio cholerae*, **kyjovité tyčinky** tvoří *Corynebacterium*, **rozštěpené Bifidobacterium**, mohou být i tyčinky vřetenovité aj. Tyčinky mohou mít **spirálovitý tvar** (starší kultury *Campylobacter*), **hrubé spirály** tvoří *Spirillum*, **nepravidelné Borrelia**, **jemné pravidelné spirály** *Treponema palidum* a **velmi jemné spirály** se zahnutými konci tvoří *Leptospira*. Tyčinky mohou být uspořádány **jednotlivě, ve**

dvojicích označované jako diplobacily (např. *Moraxella*), v **řetízcích** (většina bakterií např. *Bacillus*, *Lactobacillus*) nebo v **palisádách** (*Corynebacterium*). Méně častým tvarem jsou **koky** (řec. kokkos = jádro). Koky dělicí se ve stejné rovině mohou vytvářet dvojice **diplokoky** (*Leuconostoc*, *Streptococcus pneumoniae*) nebo **řetízky** streptokoky (*Streptococcus pyogenes*, *S. salivarius*). Koky, které se dělí ve dvou rovinách, jsou uspořádány ve čtveřicích **tetrádách** (*Micrococcus luteus*). Koky dělicí se ve třech rovinách tvoří **sarciny** nebo pakety. Koky, jež se dělí nepravidelně a vytváření shluky (hrozníčky) označujeme jako **stafylokoky** (stafylé = hrozny) - příkladem může být *Staphylococcus aureus*. Koky nemusí být pravidelné, mohou být oploštělé nebo na koncích zašpičatělé (lancetovitě, lanceta = kopíčko). Některé bakterie mohou být **pleomorfní** (mnohotvárné, tj. nemají stálý tvar) a přecházet od koků až k dlouhým vláknům v závislosti na stáří kultury a podmínkách růstu.



Obrázek 4: **Tvary a uspořádání bakterií** (wikipedie, Bacteria diagrams, PD-user, SVG schemes in Czech)

Velikost bakterií se udává v μm . Obvyklý průměr koků je $0,5 - 5 \mu\text{m}$, tyčinky mají obvykle tloušťku v rozmezí $0,3 - 2,0 \mu\text{m}$ a délku $1 - 7 \mu\text{m}$. Mohou se však vyskytnout i mnohem delší vláknité bakterie. Velikost bakterií v rámci druhu je ovlivněna podmínkami

prostředí, ve kterém bakterie rostou (pH, živiny, teplota apod.), stáří kultury a fyziologickým stavem. Intenzivně se množící tyčinky bývají kratší než klidové buňky.

4.2.3. Aktinomycety

Aktinomycety, tzv. vláknité bakterie, tvoří **dlouhá tenká vlákna** o průměru cca 1 μm a délce až několik mm. Vlákna (hyfy) nemají přehrádky - je to jediná větvičí se buňka. Hyfy tvoří **mycelium**, které se podobně jako u vláknitých mikromycet formuje jako **substrátové** (zajišťuje výživu) a **vzdušné**. Na vzdušném myceliu se tvoří specifické hyfy - **sporofory se sporami**, kterými se aktinomycety rozmnožují. Tvar sporoforů a uspořádání spor je pro daný druh typický a tohoto znaku se využívá v taxonomii aktinomycet.

Aktinomycety jsou grampozitivní, aerobní, fakultativně anaerobní i aerobní. Řada druhů produkuje antibiotika. Produkují rovněž barviva a tvoří barevné mycelium - červené, modré, fialové, růžové, zelené, žluté, šedé, ale též bílé mycelium. Jsou to saprofyty - rozkládají organické látky v přírodě, především v půdě. Některé mají optimální teplotu růstu 15 °C, jiné jsou termofilní. Řada druhů je patogenních pro rostliny, zvířata nebo člověka.

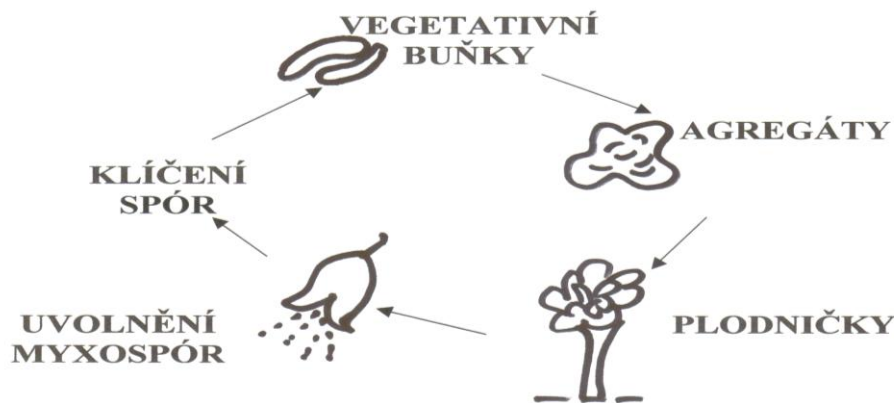
Rod *Streptomyces* patří k nejčastěji se vyskytujícím aktinomycetám v půdě, najdeme ho ale i v jiných prostředích. Produkuje antibiotika (antibakteriální, antifungální, antivirová) z nichž některá se i průmyslově vyrábějí (streptomycin, cykloheximid, tetracykliny, polyenová antibiotika). Některé druhy produkují i více antibiotik s různým spektrem účinku. *Streptomyces scabies* způsobuje strupovitost bramborových hlíz, *Streptomyces olivaceus* se využívá k výrobě vitamínu B₁₂, *Streptomyces griseus* produkuje antibiotikum streptomycin (inhibuje syntézu bílkovin u bakterií i jiných mikroorganismů) a cykloheximid (inhibice syntézy bílkovin u eukaryotních organismů, mj. též ukvasinek a plísní), *Streptomyces aureofaciens* produkuje antibiotikum chlortetracyklin (aureomycin) a vitamín B₁₂. Po pomnožení na otrubách se využíval jako přísada do krmiv jatečných zvířat (vitamin a antibiotikum v jednom).

Rod *Frankia* jsou grampozitivní, vláknité bakterie, aerobní nebo mikroaerofilní, mezofilní, chemoorganotrofní. Symbionti rostlin – hlízky na kořenech (olše) – fixují vzdušný dusík.

Rod *Thermoactinomyces* je termofilní rod s optimální teplotou růstu při 60 °C, aktivně se účastní na samovznícení vlhkého sena. Je důležitou složkou kompostů. Produkuje řadu enzymů (proteasy, lipasy, amylasy).

4.2.4 Myxobakterie

Označují se také jako klouzavé bakterie, protože se pohybují pomocí vylučovaného slizu. Jsou to gramnegativní, chemoheterotrofní, striktně aerobní bezbičíkaté bakterie. Vegetativní buňky, nejčastěji tyčinkovité, se rozmnožují příčným dělením. Často přecházejí po agregaci do tvaru **plodniček** (různá seskupení co do tvaru i barvy, makroskopicky viditelné), ve kterých se mění na klidové formy - **myxospory**, které mají tvar koků nebo tyčinek. Z plodnic se opět dostávají do prostředí a za vhodných podmínek vyklíčí do vegetativní formy (viz Obr. 5). Jsou to typické půdní mikroorganismy, účastní se rozkladu hůře rozložitelné organické hmoty v půdě (celulosa). Mohou znehodnocovat potravinářské suroviny a potraviny rostlinného původu a poškozovat některé obalové materiály. Zástupcem je např. rod *Mycococcus*, *Nannocystis*, *Polyangium*.



Obr. 5: Rozmnožování myxobakterií

4.2.5 Mykoplasmy, chlamydie a rickettsie

Tyto skupiny bakterií mají několik společných rysů: mají pleomorfní tvar, nemají buněčnou stěnu (s výjimkou rickettsií). Jsou to nitrobuněční parazité, životní cyklus mimo hostitelskou buňku nebyl většinou prokázán.

Mykoplasmy

Rod *Mycoplasma*, jehož příslušníci např. *M. hominis*, *M. pneumoniae* mají pleomorfní (proměnlivý) tvar, tvoří sférické buňky až štíhlá větvená vlákna, jsou fakultativně anaerobní, obvykle nepohyblivé. Postrádají buněčnou stěnu, mají jen cytoplasmatickou membránu. Jsou

chemoheterotrofní. Reprodukce probíhá příčným dělením, fragmentací nebo pučením. Jsou to parazité a patogeny savců a ptáků, způsobují infekce urogenitálního a respiračního traktu

Chlamýdie

Rod *Chlamydia* tvoří kokovité buňky, nejsou schopné syntetizovat ATP, jsou to vnitrobuněční parazité, množí se ve vakuolách savčích a ptačích buněk, jejich buněčná stěna neobsahuje kyselinu muramovou (peptidoglykan chybí, stěna je z proteinů). Ze zástupců lze jmenovat *Ch. trachomatis*, která je patogenní, je to původce závažných pohlavně přenosných očních (trachom) a urogenitálních onemocnění, přirozeným hostitelem je člověk.

Rod *Chlamydophila* se zástupci např. *Ch. psittaci*, který je patogenní, je původcem psitakózy (papouščí nemoc), jde o zoonózu - ornitózu, jenž může mít chřipkovou, plicní nebo tyfoidní formu. *Ch. pneumoniae* je primární patogen respiračního traktu člověka.

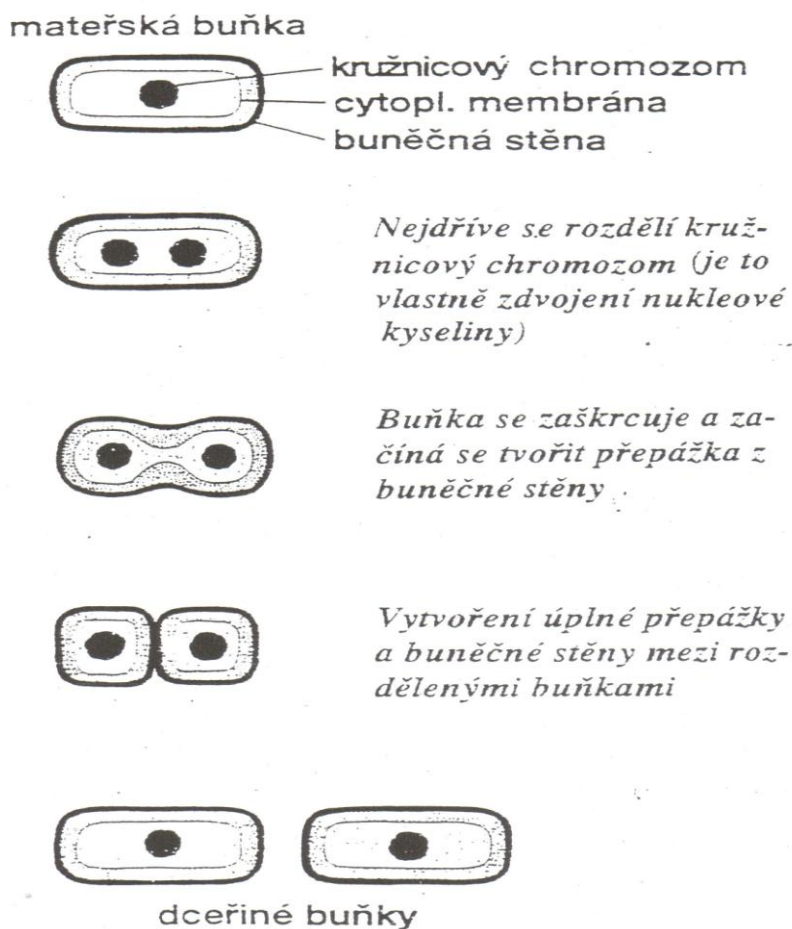
Rickettsie

Rod *Rickettsia* tvoří krátké, gramnegativní tyčinky často ve dvojicích, jsou to vnitrobuněční parazité, reprodukuje se v cytoplasmě eukaryotických buněk, mají peptidoglykanovou vrstvu, výskyt v přírodě je spjat s členovci (klíšťata, roztoči, blechy, vši a jiný hmyz), přirozený cyklus zahrnuje jako hostitele obratlovce i bezobratlé. *R. prowazekii* (pojmenovaná podle Dr. S. Prowazka rodáka z Jindřichova Hradce) přenašečem je veš šatní. Jde o původce epidemického tyfu (skvrnivky), neléčené onemocnění je až z 50 % smrtelné.

4.2.6 Rozmnožování bakterií

Bakterie se obvykle rozmnožují nepohlavně **dělením**. Procesu rozdělení buňky předchází replikace DNA. Po zdvojení genetického materiálu následuje proces vlastního rozdělení, který začíná **vytvořením septa** (přepážky) ze dvou vrstev cytoplasmatické membrány. Začíná se tvořit prstencovitě po obvodu buňky invaginací cytoplasmatické membrány až se postupně uzavře. Mezi oběma vrstvami cytoplasmatické membrány se začnou tvořit složky buněčné stěny. Jakmile je tvorba buněčné stěny dokončena, buňky se oddělí a z mateřské buňky tak vzniknou dvě buňky dceřiné (viz Obr. 6). K úplnému oddělení však nemusí dojít, buňky mohou zůstat pasivně spojeny pouzdrem nebo slizem a tvořit řetízky nebo jiné útvary. Jen několik málo rodů bakterií se rozmnožuje **pučením**. Malá dceřiná buňka, která postupně dorůstá je neustále spojena s mateřskou buňkou úzkým někdy dosti

dlouhým krčkem. Když se krčkem do dceřiné buňky dostane DNA, dceřiná buňka se oddělí a doroste do normální velikosti.



Obr. 6: Rozmnožování bakterií příčným dělením (Rosypal)

K přenosu genetického materiálu může u bakterií docházet také **konjugací**, **transformací** nebo **transdukcí**. **Konjugace** u bakterií probíhá tak, že se dvě bakterie spojí kanálkem tvořeným **sex fimbrií**. Pomocí tohoto kanálku pak začne přecházet chromozom z buňky donorové do buňky recipientní. Donorové bakterie obsahují v cytoplazmě **konjugativní plasmidy faktory F**, proto se označují jako F^+ . Recipientní buňka žádný F faktor nemá, označuje se tedy jako F^- . Kruhová DNA faktoru F se může navázat na jakékoliv místo chromozomu donorové buňky a při konjugaci se chromozomální DNA otevře právě v místě integrace (napojení) faktoru F a začne přecházet do recipientní buňky. Přechod je zahájen v počátku O (z lat. origo = začátek), jenž je na opačném konci než integrovaný faktor

F. Při konjugaci jde o jednosměrný lineární pohyb či přenos genomu z kmene F^+ do kmene F^- . Přenesení celého chromozomu trvá asi 90 – 110 min. Kromě chromozomu přecházejí do recipientní buňky F^- při konjugaci F faktory nacházející se v cytoplazmě donorové buňky. Takže se F^- buňka stává F^+ buňkou (bakterií).

U aktinomycet (např. rod *Streptomyces*) dochází rovněž ke konjugaci. Mezi vlákny kmenů R^+ a R^- (rekombinantně + a -), ale i mezi R^+ a R^+ se tvoří kanálky. Kterými dochází k výměně genetické informace v obou směrech. Vzniklá vlákna mohou obsahovat vedle sebe genetickou informaci původních kmenů i rekombinované typy chromozomů. Při tvorbě spor se jednotlivé typy oddělují. Spora obsahuje pouze jeden chromozom. Cílené konjugace lze využít k získání kmenů bakterií s výhodnějšími vlastnostmi např. při produkci antibiotik.

Dobu, za kterou dojde v kultuře ke zdvojnásobení počtu buněk, tedy dobu od vzniku dceřiné buňky k jejímu dalšímu dělení, označujeme jako **generační dobu**. Za optimálních podmínek může u většiny bakterií k této situaci dojít za 15 až 30 minut. Počet buněk vzniká geometrickou řadou a sleduje v množící se populaci (kultuře) exponenciální funkci (viz kap. Růstová křivka).

4.2.7 Sinice

Sinice (cyanobakterie) jsou aerobní, G-, fotoautotrofní prokaryotní mikroorganismy. Jsou **fotosynteticky aktivní** - obsahují chlorofyl uložený ve zvláštních vychlípeninách cytoplazmatické membrány tzv. tylakoidech. Obsahují různé barevné pigmenty, což jim dodává modrozelené, hnědozelené, olivově zelené, příp. růžové až červené zbarvení.

Vyskytují se nejčastěji v povrchových vrstvách vody či půdy, a to jednotlivě, v koloniích (rod *Microcystis*) nebo se sdružují do řetízků (rod *Anabaena*). V řetízcích (vláknech) se vyskytují ještě dva typy odlišných buněk: **heterocysty**, které obsahují enzym nitrogenasu, díky níž mohou fixovat dusík ze vzduchu a **akinety** (záchovné útvary - spory), které za příznivých podmínek vyklíčí. Sinice se běžně rozmnožují také nepohlavně dělením. V cytoplazmě sinic se často nachází vakuoly, které jsou vyplněny plyny (nadmáší buňku ve vodě).

Sinice jsou extrémně odolné k nepříznivým podmínkám. Mj. osidlují holé skály, kde jejich odumřelé buňky slouží jako zdroj organických látek pro heterotrofní mikroorganismy (počátky půdotvorného procesu). Některé sinice žijí v symbioze s eukaryoty, např. s houbami v lišejnících.

Přemnožené sinice mohou na hladině vody spolu s řasami vytvářet tzv. **vodní květ**. Ten brání prokysličování vody a může vyvolávat alergické reakce. Některé sinice totiž

produkují toxické látky, např. **neurotoxiny** (druhy rodu *Anabaena*) nebo **hepatotoxiny** (rod *Microcystis*).

5 MIKROORGANISMY S EUKARYOTICKOU BUŇKOU

Doména *Eukarya* dnes zahrnuje **5 říší organismů**: jsou to Protozoa, Fungi, Chromista, Plantae a Animalia. Předmětem našeho zájmu budou mikroskopické organismy - mikromycety, patřící do říše Fungi. Člení se do dvou skupin: vláknité mikromycety (plísňe) a kvasinky.

5.1 Základní charakteristika eukaryotické buňky

Eukaryotní buňky mikroorganismů jsou morfologicky i funkčně složitější než buňky prokaryotní a podobají se buňkám rostlin (viz Obr. 15).

Základní rozdíly mezi eukaryotní a prokaryotní buňkou lze shrnout následovně:

- Eukaryotní buňky jsou zpravidla větší (desítky μm), než prokaryotní (jednotky μm).
- Zatímco prokaryotní buňka má jen jednu membránu (cytoplazmatickou), eukaryotní jich má více. Každá organela má svou vlastní membránu.
- Zásadní rozdíl je v chemickém složení buněčné stěny. Buněčná stěna prokaryot je tvořena peptidoglykanem, v buněčné stěně eukaryot převládá chitin (plísňe) či hemicelulosa (kvasinky), dále jsou přítomny bílkoviny a tuky.
- Prokaryotní buňka nemá žádné organely, zatímco v eukaryotní mikrobiální buňce najdeme mitochondrie, endoplazmatické retikulum, Golgiho aparát.
- Prokaryotní buňka nemá ještě pravé jádro - je zde jaderná hmota (nukleoid) bez membrány, která reprezentuje jediný chromozom. Eukaryotní mikrobiální buňka má už pravé jádro obalené membránou a počet chromozomů vždy vyšší než jeden. Rozdíly jsou i v dělení jádra. Při rozmnožování prokaryot se tvoří nová kopie DNA (DNA se replikuje, tj. jde o amitotické dělení). U eukaryotních mikroorganismů dochází k mitotickému dělení jádra.
- Ribozomy jsou v prokaryotní buňce většinou rozptýleny v cytoplazmě, v eukaryotické jsou vázány na biomembrány, především na drsné endoplazmatické retikulum.
- Cytoplazma eukaryotních buněk proudí a tak napomáhá přemísťování organel, šíření živin a metabolických produktů uvnitř buňky. Cytoplazma prokaryotických buněk neproudí.

- Vakuoly u prokaryot (pokud se vyskytují) jsou naplněny plyny, v eukaryotních mikrobiálních buňkách obsahují vakuoly zásobní látky a enzymy.

Bližší charakteristika stavby buněk plísní a kvasinek je uvedena v příslušných kapitolách.

5.2 Vlákňité mikromycety – plísně

Jako plísně označujeme mikroskopické vláknité eukaryotní mikroorganismy, náležející mezi houby. Houby (*Fungi*) dělíme do čtyř velkých skupin: **odd. Chytridiomycota**, **odd. Zygomycota**, **odd. Ascomycota**, **odd. Basidiomycota**.

Zvlášť je vyčleněna pomocná skupina „*Deuteromycota*“ (*Fungi imperfecti*, houby nedokonalé) s přehrádkovaným myceliem, avšak pouze s nepohlavním rozmnožováním. Většina druhů deuteromycet je anamorfní (tj. asexuální) formou druhů z oddělení *Ascomycota*, či *Basidiomycota*, patří sem i druhy, jež nemají známé sexuální (teleomorfní) stádium, jak je tomu např. u rodu *Aspergillus* a *Penicillium*.

Prakticky důležité plísně náležejí systematicky do tří tříd. Třída *Zygomycetes* odd. *Zygomycota* zahrnuje plísně s jednobuněčným nepřebrádkovaným (neseptovaným) myceliem. Pohlavní rozmnožování se děje endosporami. Do třídy *Ascomycetes* odd. *Ascomycota* patří plísně s přebrádkovaným (septovaným) myceliem. Pohlavně se rozmnožují askosporami, nepohlavně exosporami. Třída *Deuteromycetes* (*Fungi imperfecti*) zahrnuje plísně, které mají septované mycelium a neznáme u nich pohlavní rozmnožování.

Mikromycety z odd. *Basidiomycota* mají dobře vyvinuté, rozvětvené septované mycelium a většinou existují ve formě dvoujaderného mycelia. Pohlavně se rozmnožují basidiosporami, nepohlavně konidii, arthrokonidii a chlamydosporami. Do tohoto oddělení patří také houby vytvářející makroskopické plodnice. Řadí se sem ale také z národohospodářského hlediska významné parazitické mikromycety **rzi a sněti**. Půdní a vodní mikromycety z odd. *Chytridiomycota* tvoří pohyblivé bičíkaté zoospory, které jsou uloženy ve sporangii. Vegetativní stélka může být jednoduchá jednobuněčná v substrátu upevněná výběžky (rhizoidy). Častěji je však myceliální, rozvětvená vícejaderná a coenocytická. Pohlavní rozmnožování - pokud je známé - probíhá jako gametogamie.

Významným rezervoárem mikromycet je půda, odkud se dostávají do vzduchu, na organické materiály, předměty uložené ve vlhku. Odhaduje se, že celkový počet druhů hub na naší planetě představuje 1 500 000, skutečně popsanych druhů (taxonů) je jen něco kolem

80 000, v půdě se nachází asi 15 000. Barviva produkovaná plísněmi je chráněna před UV, a proto se vyskytují často také jako vzdušná kontaminace.

Význam plísní je dán jejich fyziologickými vlastnostmi. Jsou aerobní (rostou převážně na povrchu substrátu). Na zdroje uhlíku jsou nenáročné (vysoce efektivně ho využívají). Mají bohaté enzymové vybavení (sacharolytické, proteolytické, lipolytické enzymy). Využívají vzdušnou vlhkost a okludovanou vodu. Snášejí poměrně nízkou vlhkost prostředí (i 15% vody), velmi nízké pH i velmi nízké teploty (i -10 °C). Většina nepřežívá několikaminutové zahřátí na 70 - 75 °C, některé druhy jsou ale termotolerantní. Některé mikromycety tvoří mykotoxiny, jiné antibiotika.

Mykotoxiny jsou sekundární toxické metabolity plísní. Mohou vyvolávat akutní (po jednorázovém požití) a chronické otravy po opakovaném požití menších dávek. Významné jsou pozdní účinky mykotoxinů, ty mohou být mutagenní a karcinogenní. Mykotoxiny mohou poškozovat plod v těle matky, negativně ovlivňovat imunitní systém apod. V současnosti je známo kolem 500 mykotoxinů, produkovaných více jak 350 druhy plísní. K nejvýznamnějším a nejtoxičtějším mykotoxinům patří **aflatoxiny** produkované plísněmi rodu *Aspergillus* a **ochratoxiny**, které produkují plísně rodu *Aspergillus* a *Penicillium*. (Více o mykotoxinech bude pojednáno v druhém dílu Potravinářské mikrobiologie.

5.2.1. Stavba buňky

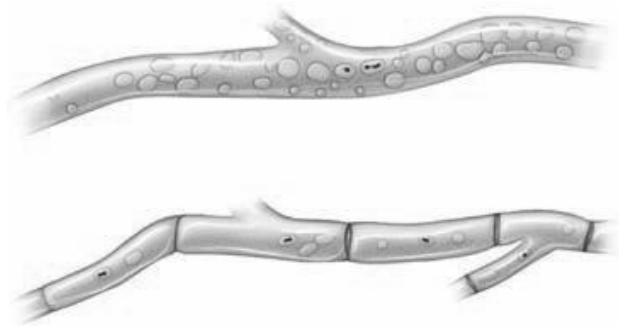
Buněčná stěna je tvořena převážně polysacharidy (80 %), jsou zde přítomny především chitin, dále chitosan, glukany, manany a polysacharidy složené z galaktosaminu nebo 6-deoxyhexos (hlavně z fukosy a rhamnosy), někdy se vyskytuje celulóza a látky podobné ligninu, které dodávají buněčné stěně pevnost. Obsahuje i bílkoviny, lipidy a vosky, které způsobují nízkou smáčivost hyf a konidií. Stěny konidií obsahují různá barviva (zelená, modrozelená, růžová, hnědá, černá, hnědočerná – melaniny), která působí jako ochrana před UV zářením. Hyfy jsou zpravidla bezbarvé, někdy obsahují zelenočerné barvivo (např. u *Ascomycetes* a *Deuteromycetes*). **Cytoplazmatická membrána** je elastická, silná 7,5 - 8 nm, složená především z lipidů a proteinů, je sídlem transportních bílkovin. **Cytoplazma** obsahuje rezervní látky ve formě kapének (např. lipidy), enzymy, meziprodukty metabolismu, některé anorganické ionty. Vyšším zastoupením tuků v cytoplasmě se vysvětluje dobrý růst plísní při nižších teplotách (chladničky).

V cytoplasmě se nachází řada dalších organel. **Endoplazmatické retikulum** je systém dvojitých membrán napojených na cytoplazmatickou membránu s poměrně velkými póry. Na vnějším povrchu jsou agregáty ribozomů, v nichž se syntetizují bílkoviny. Endoplazmatické

retikulum obsahuje různé enzymy a zásobní látky. **Golgiho aparát** je systém plochých měchýřků a nádržek, uložených rovnoběžně vedle sebe. Jeho funkcí je zřejmě transport prekurzorů buněčné stěny z cytoplazmy přes cytoplazmatickou membránu. **Mitochondrie**, organely rozmanitého tvaru jsou obklopeny dvěma membránami, z nichž vnější má bradavičnatý povrch a vnitřní tvoří vychlípeniny (**kristy**). Mitochondrie jsou složeny převážně z bílkovin, lipidů a fosfolipidů. Obsahují RNA a malé množství DNA, která je nositelem mimojaderné dědičnosti. Mitochondrie jsou sídlem dýchacích enzymů a systému oxidační fosforylace, probíhá zde syntéza některých mitochondriálních bílkovin, takže jsou zde přítomny tRNA, mRNA a ribozomy. V cytoplazmě buněk se nachází jedna až dvě **vakuoly** obsahující hydrolytické enzymy a řadu rezervních látek. **Lysozomy** - malé měchýřky obalené membránou obsahují velké množství enzymů (především hydrolytických). Enzymy se účastní vnitrobuněčného metabolismu, mohou však být i příčinou autolýzy - samodestrukce buňky. Buňky plísni obsahují jedno či více **jader**, které jsou většinou haploidní. Jádru je od cytoplazmy odděleno dvojitou jadernou membránou.

5.2.2 Morfologie

Zakladní stavební jednotkou **stélky** (thalus) vláknitých mikromycet je vlákno **hyfa** (viz Obr. 7), která může být **jednobuněčná** (coenocytická) tvořená jedinou buňkou např. u mukorovitých hub (odd. *Zygomycota*) nebo **vícibuněčná** (septovaná). Septa (přepážky) mají ve středu otvory dovolující průchod protoplazmy, organel (včetně jader) z buňky do buňky (u askomycet a deuteromycet). Průměr hyf dosahuje 3 - 50 μm a jejich délka desítek mm. Na specializovaných hyfách nazývaných **sporofory** se tvoří spory (výtrusy) sloužící k rozmnožování a šíření hub. Vlákna hyf se větví a splétají v **mycelium** (podhoubí). Vlákno klíčí ze spory a růst probíhá na konci hyfy. Dále se rozvětňuje. Mycelium rostoucí v substrátu označujeme jako **substrátové mycelium** (vegetativní), slouží k výživě plísně. **Vzdušné mycelium** roste na povrchu substrátu a plní rozmnožovací funkci (též se označuje jako reprodukční mycelium). Někdy se může vytvářet **sklerocium**, tvrdý polokulovitý útvar tvořený spleť hyf, bývá tmavý až několik mm velký, je odolný vůči nepříznivým podmínkám. Vyskytuje se u plísni, u nichž neznáme tvorbu pohlavních ani nepohlavních spor. **Stroma** je kožovitá spleť hyf vyskytující se u plísni parazitujících na ovoci a rostlinných materiálech.



Obrázek 7: **Hyfy mikromycet** jednobuněčná - coenocytická a vícebuněčná - septovaná
(Willey et al., 2008)

5.2.3 Růst a rozmnožování

Základní typy vegetativního růstu jsou dva, **polarizovaný** (apikální) typický pro vrcholovou část hyfy a **nepolarizovaný** spojený s vývojem blastických, kvasinkovitých forem. Tyto způsoby růstu charakterizují obě hlavní morfologické jednotky hub (vláknité mycelium a kvasinky) a dva základní způsoby vzniku spor (thalický a blastický). **Thalický** vznik spory je spojen s již existující strukturou - hyfou, **blastický** je takový, kdy se spory tvoří *de novo*. Rozmnožování plísní se děje buď rozrůstáním hyf, nebo pomocí spor. Ty mohou vznikat po spájení (pohlavní spory) nebo vegetativním způsobem (nepohlavní spory).

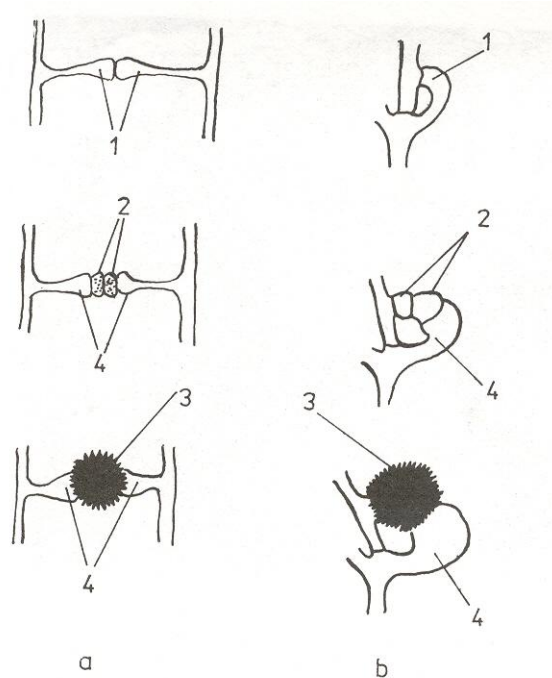
5.2.3.1 Pohlavní rozmnožování

Životní stádium plísní schopné pohlavního rozmnožování se nazývá **teleomorfa** (perfektní, sexuální stádium). Při pohlavním rozmnožování se tvoří pohlavní spory (meiospory). Pohlavní spory vznikají uvnitř (endospory) nebo vně (exospory) specializovaných buněk.

Pohlavní spory vznikají spájením dvou buněk. U tzv. **homothalických rodů** se spory tvoří **spájením** pohlavně nerozlišených buněk vyrůstajících z téže hyfy. U **heterothalických rodů** vznikají spory z pohlavně diferencovaných jedinců (+ kmeny, - kmeny). Existují tři typy pohlavně vzniklých spor: zygospory, askospory a bazidiospory.

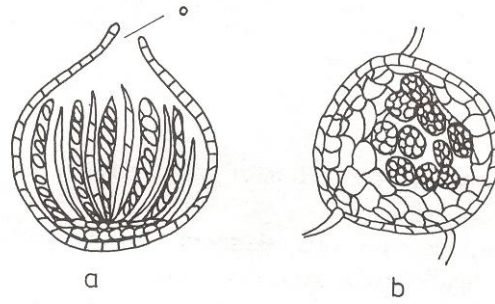
Zygospory vznikají po dotknutí výběžků hyf (progametangií) a spájením buněk (gametangií) izogamním nebo heterogamním spájením (viz Obr. 8). Zygospora je diploidní buňka se silnou obalovou vrstvou, většinou je tmavá s výrůstkem. Při jejím klíčení dojde k meióze (při ní ale 3 jádra zanikají a čtvrté se dělí mitózou). Ze zygospory pak vyroste

sporangiofor se sporangiem (**zygosporangium**) v němž jsou haploidní endospory jednoho pohlavního typu. Vyskytují se pouze u třídy *Zygomycetes*.



Obrázek 8: **Tvorba zygospor:** a- izogamní žebříčkovité spájení, b – heterogamní spájení, 1 – progametangium, 2 – gametangium, 3 – zygospora, 4 – suspenzor (Šilhánková, 2002)

Askospory se tvoří v asku (vřecku) většinou po 8, jsou jednobuněčné i vícebuněčné, kulovité, oválné, hladké či s výrůstky nebo rýhami. Vznikají z dvojjaderných hyf, které jsou buď volné, nebo uložené ve fruktifikačních orgánech. **Kleistothecium** je uzavřený fruktifikační orgán kulovitého tvaru s neuspořádanými asky (viz Obr. 9). **Perithecium** je kulovitý či lahvicovitý orgán s uspořádanými asky umístěnými paralelně a s otvorem pro jejich uvolnění. Před tvorbou askospor dochází v dvojjaderné buňce ke karyogamii; vznikne tak diploidní jádro, které se pak dělí meiózou na 4 haploidní jádra, pak mitózou - základ 8 spor v asku. Uspořádané asky válcovitého tvaru s askosporami v jedné řadě tvoří např. rod *Neurospora*. Neuspořádané asky kulovité až elipsoidní, obsahující shluk 8 spor tvoří např. *Penicillium*, *Aspergillus* a *Byssochlamys*.



Obrázek 9: **Umístění askospor:** a - v peritheciu, b – v kleistotheciu, o – ostiola
(Šilhánková, 2002)

Bazidiospory jsou exospory vznikající obvykle po 4 v bazidiích (buňky kyjovitého tvaru) umístěných na sterigmatech. Zralé bazidiospory jsou ze stopek odmršťovány.

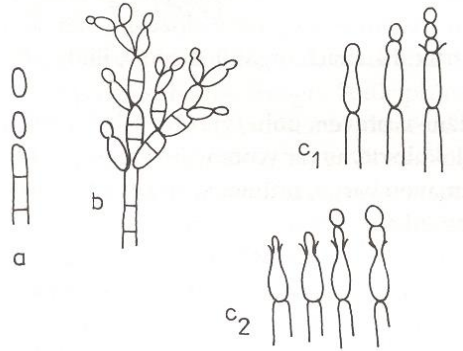
5.2.3.2 Nepohlavní vegetativní rozmnožování

Děje se buď rozrůstáním hyf, nebo nepohlavními sporama. Stádium hub, které se rozmnožuje pouze nepohlavně, se nazývá **anamorfa** (imperfektní, nepohlavní stádium).

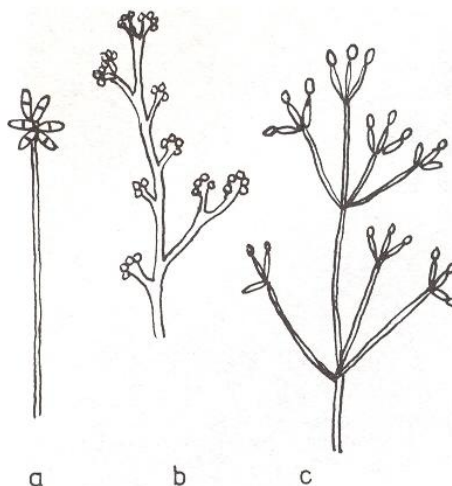
Vegetativní spory se tvoří na vegetativních hyfách nebo ve fruktifikačních orgánech. Dělíme je na exospory a endospory. **Exospory (konidie)** vznikají vně fruktifikačních orgánů. Tvarově jsou značně rozmanité: kulaté, oválné, elipsoidní, válcovité, větvenovité, srpkovité, spirálovitě stočené, mohou být jednobuněčné (mikrokonidie) nebo vícebuněčné (makrokonidie) a mohou být umístěny jak jednotlivě, tak v řetízcích nebo kulovitých útvarech. Podle způsobu tvorby (viz Obr. 10) rozeznáváme **oidie** neboli **arthrospory**, které vznikají rozpadem vláken v jednotlivé buňky, jsou často silnostěnné, válcovité, soudečkovité nebo oválné, **blastospory**, které se tvoří pučením (bazifungálně – nejmladší spora, která vznikla pučením z předchozí spory, je na vrcholu řetízku), vyrůstají na myceliu jednotlivě, v chomáčcích, hrozníčcích nebo řetízcích a **konidie**, které vznikají ze základní buňky tj. bazipetálně (nejmladší konidie z řetízku konidií je nejbližší základně). Takto se tvoří např. **fialospory** vznikající v řetízcích ze speciálních buněk **fialid** např. u rodů *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* aj. Pučení s následující tvorbou přehrádek se uplatňuje i při tvorbě vícebuněčných spor (rody *Cladosporium* a *Alternaria*).

Konidiofor je vlákno odlišné od hyf, které nese konidie. Konidiofory mohou být jednoduché nebo větvené (viz Obr. 11), na konci mohou být zduřelé ve **vezikulum**. Konidie vyrůstají přímo z konidioforu nebo se tvoří na fialidách (sterigmatech). Konidiofor u rodu

Aspergillus nese na vezikulu primární fialidy a pak sekundární fialidy vyrůstající ve svazcích z primárních fialid. U rodu *Penicillium* je konidiofor složen z větví (rami), odstupujících z mycelia, z větviček (ramul) a obdélníkových buněk (metul), které nesou fialidy (sterigmata).

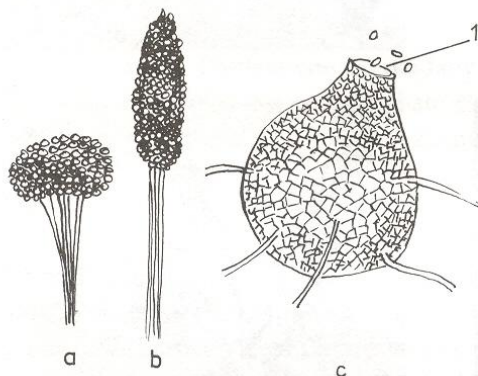


Obrázek 10: **Vznik exospor u plísní:** a – oidie čili arthrospory (*Geotrichum candidum*), b – blastospory (*Cladosporium* sp.), c₁, c₂ – fialospory (*Penicillium*) (Šilhánková, 2002)



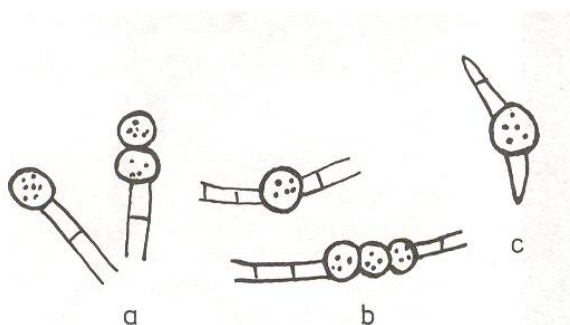
Obrázek 11: **Typy konidioforů:** a - jednoduchý (*Trichothecium roseum*), b - nepravidelně větvený (*Botrytis cinerea*), c - přeslenovitě větvený (*Verticillium* sp.) (Šilhánková, 2002)

Svazek srostlých konidioforů ukončený paličkou spor označujeme jako **koremium**. **Pyknidium** je kulovitý či hruškovitý útvar v němž jsou umístěny krátké konidiofory např. u rodu *Phoma* a konidie se uvolňují otvorem, jemuž se říká ostiola (viz Obr. 12).



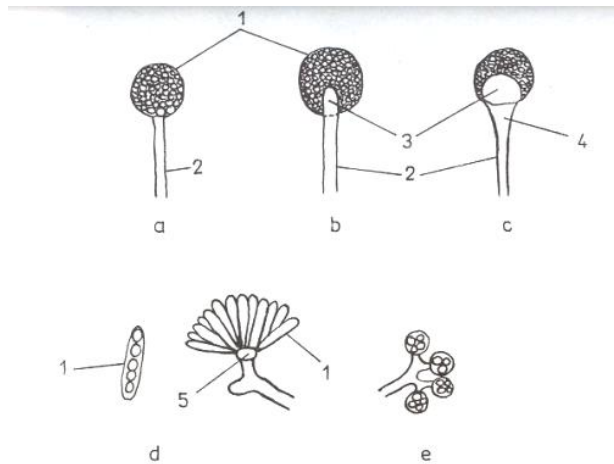
Obrázek 12: **Zvláštní uspořádání konidioforů:** a – koremium ze stejně dlouhých konidioforů, b – koremium z nestejně dlouhých konidioforů, c – pyknidium, 1 – ostiola (Šilhánková, 2002)

U některých rodů plísní se mohou tvořit **chlamydospory** (viz Obr. 13) odolné nepříznivým podmínkám. Vytváří se tak, že se kolem jednotlivých buněk mycelia vytvoří silný obal a obsah buňky se zahustí. Mohou být koncové či interkalární (mezi dvěma buňkami). Setkáváme se s nimi i v myceliu bez přehrádek (tř. *Zygomycetes*) nebo v makrokonidiích. Tvorba chlamydospor je obvyklá u rodu *Trichosporum* a *Geotrichum*.



Obrázek 13: **Chlamydospory:** a – koncové, b – interkalární, c- v makrokonidii (Šilhánková, 2002)

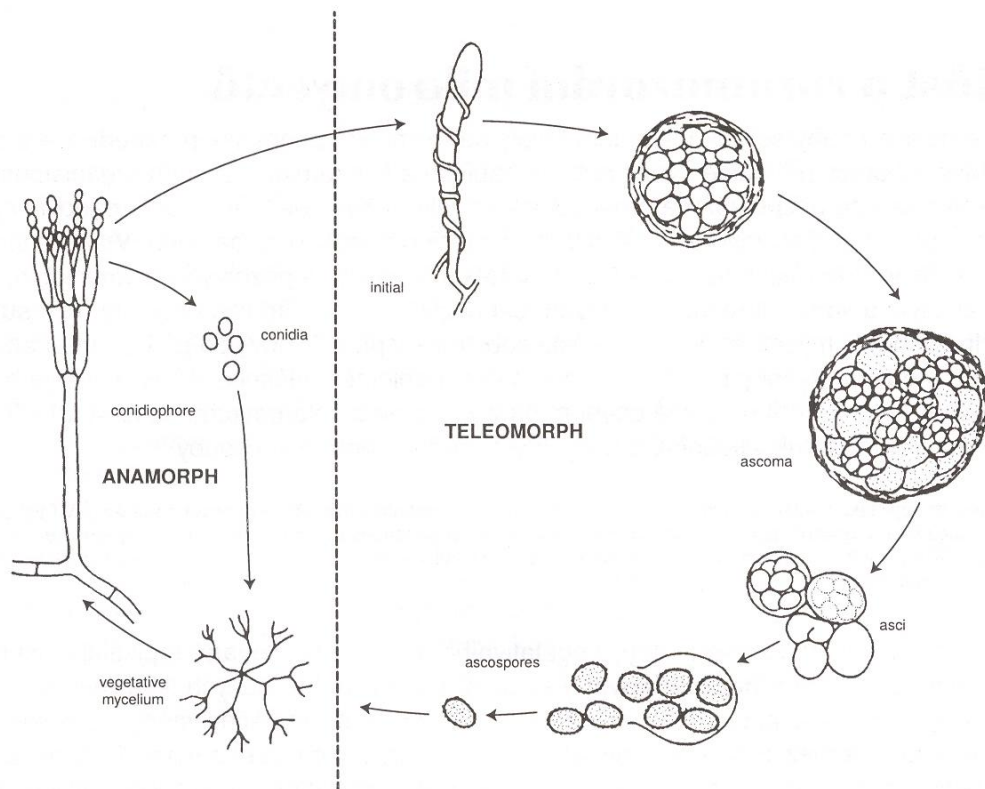
Endospory vznikají uvnitř fruktifikačních orgánů **sporangii** neboli výtrusnic. **Sporangiospory** mají většinou několik jader. **Sporangium** je umístěno na **sporangioforu**, ten může být jednoduchý nebo větvený. Část sporangioforu zasahující do sporangia označujeme jako **kolumelu** (u tř. *Zygomycetes*). Kolumela může mít polokulovitý či hruškovitý tvar. Sporangium někdy nahrazuje jednodušší **sporangiola** obsahující 1 - 10 spor (viz Obr. 14).



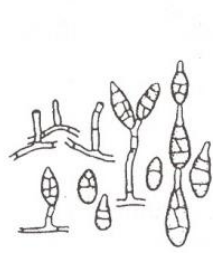
Obr. 14: **Sporangia a sporangioly**

a až c - kulovitá sporangia, a - bez kolumely (*Mortierella*), b - s kolumelou (*Mucor*), c - s kolumelou a apofýzou (*Rhizopus*), d - válcovitá sporangia (*Piptocephalis*), e - sporangioly (*Thamnidium*), 1 - sporangium, 2 - sporangiofor, 3 - kolumela, 4 - apofýza, 5 - bazální buňka (Šilhánková, 2002)

Plísně se tedy mohou rozmnožovat pohlavně i nepohlavně. Pohlavně se rozmnožující stádium plísně tj. teleomorfa a jedno nebo více odpovídajících nepohlavně se rozmnožujících stádií (anamorf) jednoho druhu plísně tvoří celek označovaný jako **holomorfa** (viz Obr. 15). Každé stádium má vlastní binomické latinské jméno (tzv. duální nomenklatura) a jsou rovněž morfologicky odlišné. Typické morfologické struktury významných rodů plísni jsou zobrazeny na Obr. 16.



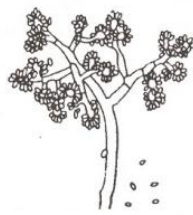
Obrázek 15: Životní cyklus askomycety *Talaromyces flavus* (teleomorfa) - *Penicillium dangeardii* (anamorfa) podle Samson et al. 1988 (Malíř et al., 2003)



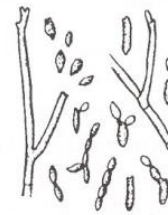
ALTERNARIA



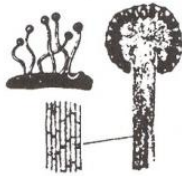
ASPERGILLUS



BOTRYTIS



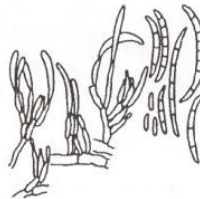
CLADOSPORIUM



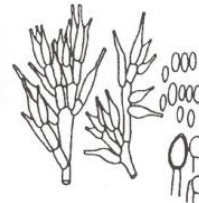
CLAVICEPS



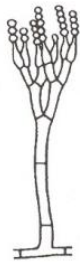
CUNNINGHAMELLA



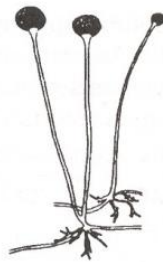
FUSARIUM



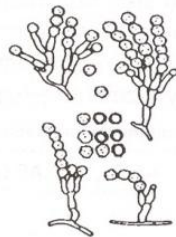
PAECILOMYCES



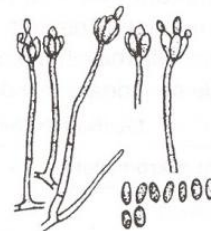
PENICILLIUM



RHIZOPUS



SCOPULARIOPSIS



STACHYBOTRIS



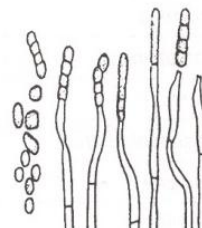
THAMNIDIUM



TRICHOTHECIUM



ULOCLADIUM



WALLEMIA

Obrázek 16: Typické morfologické struktury plísní (Malíř et al., 2003)

5.3 Kvasinky a kvasinkovité mikroorganismy

Jsou to eukaryotické chemoheterotrofní mikroorganismy. Svě české jméno kvasinky dostaly podle schopnosti zkvašovat mono-, di-, nebo trisacharidy na ethanol a CO₂. Systematicky je řadíme mezi houby, vzhledem k jejich velikosti mezi mikromycety (mikroskopické houby) spolu s plísněmi. Kvasinky jsou většinou jednobuněčné organismy rozmnožující se pučením nebo dělením. Na pevných médiích tvoří kolonie a askospory.

O **kvasinkovitých mikroorganismech** hovoříme v případě, pokud se kromě jednotlivých pučících buněk vytváří i vlákna (pravé a nepravé hyfy), které zpravidla tvoří vřetka.

Kvasinky vyžadují pro svůj růst kyslík, mají ale schopnost změnit metabolismus za anaerobních podmínek na fermentační a při silně omezeném růstu buněčné hmoty produkovat ethanol a CO₂. Rostou v širokém rozmezí pH 3 - 11 i teplot (0 - 45 °C). Některé druhy rostou i při -10 °C a hodnotách pH až 1,5. Některé druhy jsou osmotolerantní. Většina kvasinek má nízkou odolnost k vyšším teplotám, usmrcuje je 2 - 5 minutové zahřívání na 56 °C, spory jsou nepatrně odolnější.

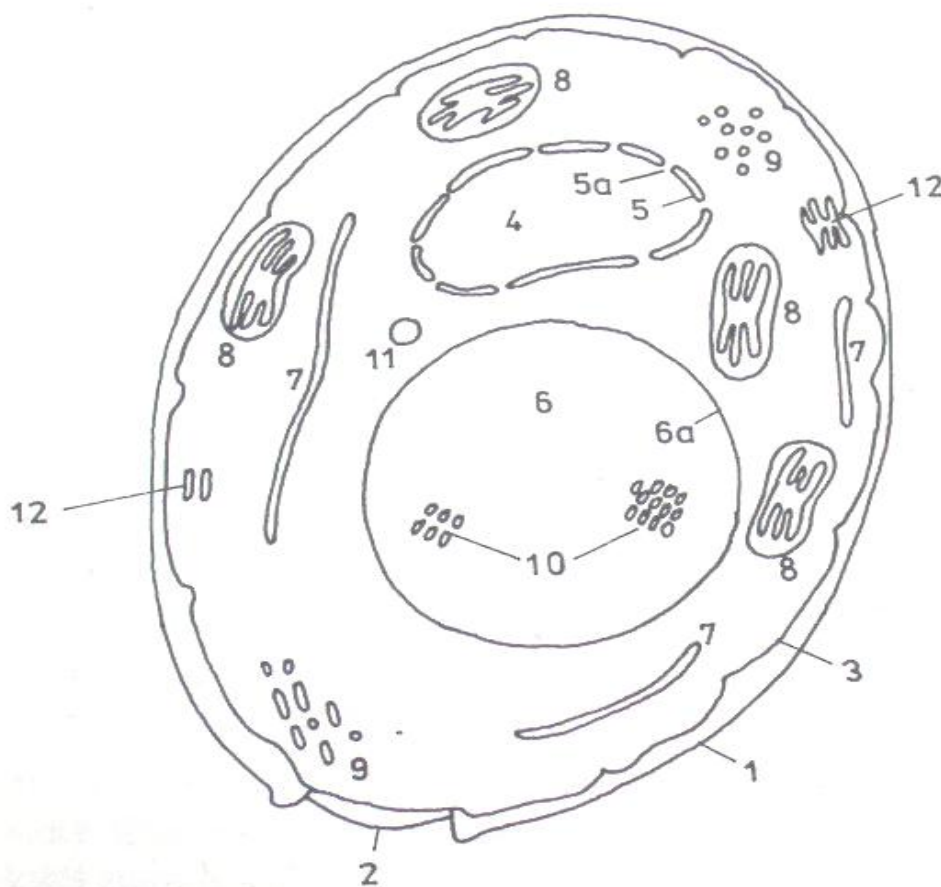
Kvasinky jsou v přírodě velmi rozšířené. Vzhledem ke svému většinou pouze sacharolytickému schopnostem se vyskytují především na cukernatých materiálech a potravinách, v květních nektarech, v půdě, ve vzduchu, střevním traktu zvířat (i hmyzu – včely) a člověka. Šíří se větrem, pomocí hmyzu apod. Kvasinky se množí pomaleji než bakterie a mohou s nimi soutěžit jen za podmínek pro bakterie nepříznivých (nízké pH, nízký oxidoredukční potenciál). Způsobují kažení ovocných moštů a šťáv, slazených nápojů, piva, vína, kontaminují droždí. Kvasinek a jejich metabolismu se prakticky využívá mj. při výrobě alkoholických nápojů, droždí, ergosterolu (provitamin vitamínu D), kefíru. (Více v druhém dílu Potravinářské mikrobiologie.)

5.3.1 Buňka kvasinek, morfologie a způsoby rozmnožování

V buňce kvasinek (viz Obr. 17) jsou obsaženy všechny základní části eukaryotické buňky: buněčná stěna, cytoplazmatická membrána, cytoplazma, vakuoly, ribozomy, mitochondrie, Golgiho aparát, jádro a jadérko, endoplazmatické retikulum typické pro eukaryotickou buňku. **Buněčná stěna** je polysacharidové povahy (80 % - často přítomny hemicelulosa) doplněná bílkovinami (6 - 10 %), lipidy a fosfolipidy (3 - 10 %) a fosforečnany. Nese **jizvy po pučení**, jejich počet se pohybuje mezi 9 - 43 (nejčastěji 15 - 24)

a lze podle nich určit stáří kvasinky. **Jizva zrodu** je místo, kde byla kvasinka spojena s mateřskou buňkou.

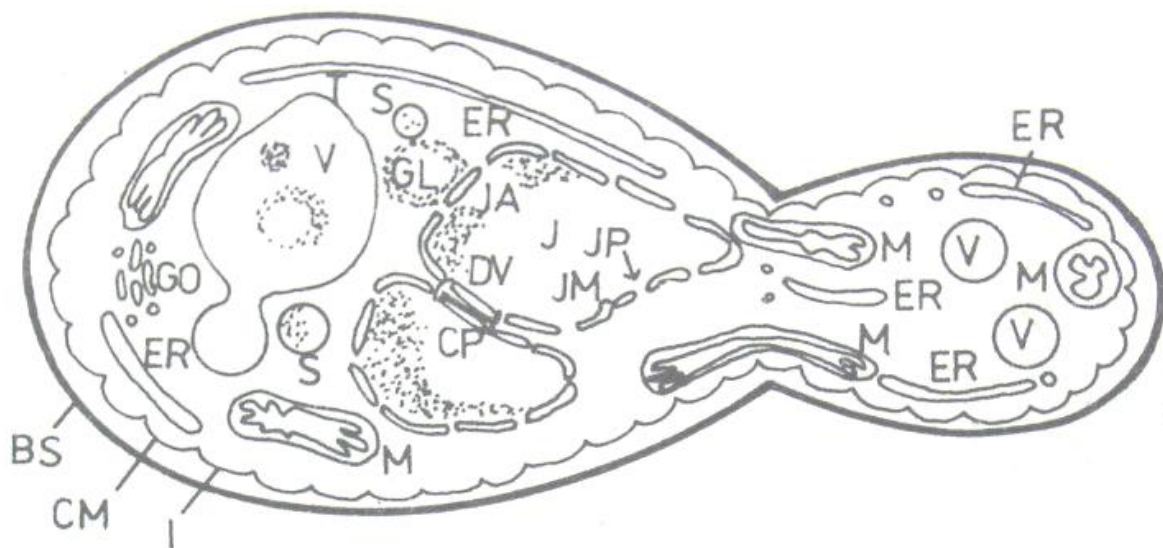
Nejčastější tvar kvasinek je vejčitý, elipsoidní nebo kulovitý. Vyskytují se ale i kvasinky s buňkami dlouze protáhlými, citronkovitými, válcovitými nebo trojúhelníkovitými. Tvar buněk nebývá stálý a v čisté kultuře kolísá v závislosti na stáří kultury a kultivačním prostředí. Velikost buněk se pohybuje v rozmezí 3 - 6 x 3 - 15 μm v extrémních případech jako například u rodu *Dipodascus* může být délka buněk až 130 μm . Tvar buněk je v přímé souvislosti s vegetativním rozmnožováním – pučením nebo dělením.



Obrázek 17: Schéma průřezu buňkou kvasinky

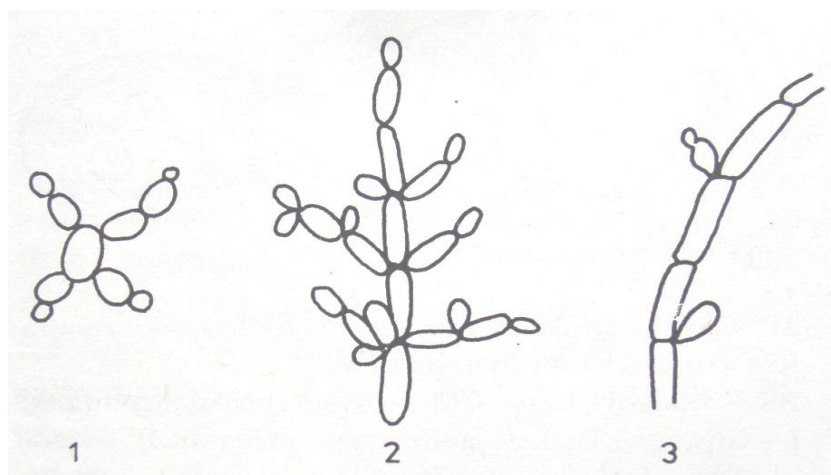
1 - buněčná stěna, 2 - jizva zrodu, 3 - cytoplazmatická membrána, 4 - jádro, 5 - jaderná membrána, 6 - vakuola, 7 - endoplazmatické retikulum, 8 - mitochondrie, 9 - glykogen, 10 - polymetafosfát (volutin), 11 - lipidy, 12 - Golgiho aparát (Šilhánková, 2002)

Většina kvasinek se rozmnožuje **pučením**. Při něm se na mateřské buňce vytváří pupen, který se postupně zvětšuje, dochází k fragmentaci všech organel, z nichž část se stěhuje do pupenu spolu s jádrem po jeho rozdělení (Obr. 18). Po postupném uzavření zúženiny cytoplazmatickou membránou dojde k oddělení dceřiné buňky. Podle místa kde se pupen tvoří, rozlišujeme **monopolární** (pupen vzniká na jednom, vždy stejném pólu buňky, např. u rodu *Malassezia*), **bipolární** (pupen se tvoří střídavě na obou pólech, např. u rodu *Nadsonia*) a **multipolární pučení** (pupen se tvoří na kterémkoliv místě buňky a nikdy na tomtéž místě, např. u rodu *Saccharomyces*). Některé kvasinky **pučí na široké základně**, což je jakýsi přechod mezi pučením a dělením typický pro rod *Saccharomyces* a *Wickerhamia*. U kvasinek **pučících na sterigmě** je pupen spojen s mateřskou buňkou úzkou stopkou sterigmou. Přehrádečné dělení jednotlivých buněk se u kvasinek vyskytuje u rodu *Schizosaccharomyces*.



Obrázek 18: **Schéma struktury pučící buňky kvasinky** podle Kockové-Kratochvílové (1982) BS - buněčná stěna, CM - cytoplazmatická membrána, I - invaginace, J - jádro, JA - jadérko, JP - jaderný pór, DV - vřeténko, CP - plak, ER - endoplazmatické retikulum, V - vakuola s polymetafosfátovými zrnky, VP - pinocytosa, T - tonoplast, GO - Golgiho aparát, M - mitochondrie, GL - globule, S - vakuola s S-adenosylmethioninem (Marendiak, 1987)

Některé kvasinky vytváří protáhlé buňky, které pučí pouze na pólech a zůstávají pak spojeny v dlouhá vlákna, která tvoří **pseudomycelium** (viz Obr. 19). V určitých místech pseudomycelia vznikají svazky kratších elipsoidních buněk **blastospor**. U jiných se tvoří **pravé mycelium**, které vzniká příčným dělením protáhlých buněk a i zde vznikají blastospory. Tvorba mycelia a pseudomycelia je charakteristická pro rody se silným aerobním metabolismem (*Endomycopsis*, *Sporobolomyces*, *Candida*) nebo u tzv. R-mutantů (rough – drsný), tvořících drsné kolonie. Tvorba pravého mycelia je vždy jen jednou z možností vegetativního rozmnožování, tyto kvasinky mohou tvořit také jednobuněčné formy. U některých kvasinek (např. rod *Trichosporon*) může docházet k rozpadu mycelia na jednotlivé válcovité buňky arthrospory.



Obrázek 19: **Růst kvasinek:** 1 - ve svazcích buněk, 2 - v pseudomyceliu, 3 - v pravém myceliu (Šilhánková, 2002)

Balistospory jsou exospory, tvořené některými kvasinkami (*Sporidiobolus*, *Sporobolomyces*) které vyrůstají na tenkých stopkách a jsou z nich zvláštním kapalinovým mechanismem odmršťovány. **Chlamydo**spory se vytváří tak, že se kolem jednotlivých buněk mycelia vytvoří silný obal a obsah buňky se zahustí. Mohou být koncové nebo interkalární. Představují klidové buňky odolné k nepříznivým podmínkám. Mohou se tvořit i u plísní. Obvyklé jsou u rodu *Geotrichum*.

Výsledkem pohlavního rozmnožování kvasinek jsou **pohlavní spory**. Většina kvasinek tvoří **askospory**, endospory umístěné v asku (vřecku). Některé rody tvoří **exospory** umístěné vně sporotvorných buněk. Pohlavní rozmnožování je charakterizováno **konjugací (spájením)** dvou haploidních buněk a jejich jader (karyogamií) za vzniku diploidního jádra,

kteře se pak meiózou dělí na čtyři haploidní jádra, základ pohlavních spor, nebo se dělí mitózou, pak teprve vznikají spory.

6 VÝŽIVA MIKROORGANISMŮ

Aby mikroorganismy mohly růst a rozmnořovat se, musí být v prostředí, ve kterém se vyskytují, zajištěn zdroj energie a všech biogenních prvků. Prostedí též musí obsahovat dostatečné množství vody. Největší nároky jsou kladeny na nejdůležitější **makrobiogenní prvky C, H, O, N, P, a S**. Z kationtů jsou důležité K^+ , Mg^{2+} , Na^+ , Ca^{2+} , Fe^{3+} , Co^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} . Kobalt, zinek a měď stejně jako některé anionty (MoO_4^{2-}) jsou potřebné jen v malých koncentracích.

6.1 Prvkové složení mikrobiální buňky

Uhlík je složkou všech organických látek v buňce, je výchozím prvkem pro syntézu aminokyselin, nukleotidů, cukrů, lipidů a jiných nízkomolekulárních látek, tvoří kostru proteinů a nukleových kyselin. Mikroorganismy mohou využívat uhlíku z různých zdrojů. Zdrojem pro heterotrofní mikroorganismy jsou sloučeniny využívané současně jako zdroj energie tedy **cukry, alkoholy, organické kyseliny**. Z prostředí mohou buňky využívat i sloučeniny, jež jsou součástí buněčné hmoty a mohou být transportovány do buňky difuzí či transportním mechanismem. Jsou to např. aminokyseliny, purinové a pyrimidinové baze, vitaminy apod. Pro autotrofní mikroorganismy je CO_2 nejdůležitějším anorganickým zdrojem uhlíku. Heterotrofní mikroorganismy ho mohou využít omezeně pro karboxylační reakce na začátku růstu, kdy si ho ještě nevytvořily dostatečné množství při respiraci nebo fermentaci. Podle zdroje uhlíku můžeme autotrofní a chemotrofní mikroorganismy rozdělit do několika skupin (viz kap. 6.2).

Dusík potřebují mikroorganismy pro tvorbu aminových a iminových skupin v aminokyselinách, purinových a pyrimidinových bází, nukleových kyselin a dalších sloučenin. Pro heterotrofní mikroorganismy jsou nejvhodnějším zdrojem dusíku amonné soli (nejčastěji používané ve formě fosfátů a síranů). Některé bakterie, kvasinky a většina plísní mohou asimilovat dusičnany. Pokud má buňka vhodný transportní systém může využít pro syntézu proteinů aminokyseliny z prostředí za současné represe tvorby těchto aminokyselin. Je-li aminokyselina jediným zdrojem dusíku je deaminována a amoniak je využit k syntéze dusíkatých látek. Některé mikroorganismy mohou asimilovat vzdušný dusík N_2 . Těchto mikroorganismů není mnoho, jde především o bakterie rodu *Rhizobium* a *Azotobacter*, sinice,

fototrofní bakterie, některá klostridia. Dusičnany i vzdušný dusík musí být nejprve redukovány na amonnou formu.

Fosfor je složkou nukleotidů, nukleových kyselin, fosfolipidů, koenzymů a intermediátů metabolismu sacharidů. Organické sloučeniny fosforu jsou využívány k akumulaci energie (ADP a ATP).

Mikroorganismy asimilují fosfor nejčastěji ve formě anorganických fosfátů. Nedostatek fosforu v prostředí vede ke zpomalení růstu a kvasných procesů.

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

Vodík je složkou nízko i vysokomolekulárních látek. Jeho zdrojem je nejčastěji H₂O, H₂, H₂S případně různé organické sloučeniny.

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

Růstové látky - auxotrofní mikroorganismy vyžadují v prostředí přítomnost specifických organických sloučenin označovaných jako růstové látky, které si nejsou schopny samy syntetizovat. Jsou to nejčastěji různé vitaminy (např. u laktobacilů vitaminy skupiny B, *Saccharomyces cerevisiae* vyžaduje kyselinu pantothenovou a biotin), aminokyseliny, purinové a pyrimidinové baze (adenin, uracil a u některých bakterií též thymín).

6.2 Třídění mikroorganismů podle nároků na živiny

Podle toho, ze kterých zdrojů získávají uhlík, rozdělujeme mikroorganismy do dvou skupin:

Autotrofní mikroorganismy – jinak také litotrofní mikroorganismy, využívají anorganické sloučeniny: jako zdroj uhlíku CO₂, jako zdroj dusíku amonné soli, dusičnany a některé i molekulový dusík. energii získávají oxidací anorganických sloučenin (chemoautotrofní mikroorganismy) nebo využívají světelné energie (fotoautotrofní mikroorganismy). V rámci této skupiny se můžeme setkat i s přechodnými skupinami.

Obligátní autotrofi využívají pouze anorganické látky jako zdroj uhlíku, **fakultativní autotrofi** mohou využít i organické zdroje uhlíku a zastaví tak využívání CO₂, **mixotrofi** mohou současně využívat jak CO₂ tak i organické zdroje uhlíku (Příkladem mixotrofů mohou být některé sirné bakterie - mj. rod *Beggiatoa* - získávající energii oxidací sulfanu a jako zdroj

uhlíku využívající organické sloučeniny, v nepřítomnosti redukováných forem síry mohou ale jako zdroj energie i uhlíku využívat např. acetát).

Heterotrofní mikroorganismy – jinak také organotrofní mikroorganismy, využívají jako zdroje uhlíku, vodíku a energie organické sloučeniny přítomné v prostředí. **Prototrofní mikroorganismy** jsou takové, jimž postačují k výživě jednoduché organické sloučeniny spolu s anorganickými solemi. **Auxotrofní mikroorganismy** vyžadují kromě toho ještě složitější sloučeniny – růstové látky, které si samy nedovedou syntetizovat.

6.3 Třídění mikroorganismů podle způsobu získávání energie

Fototrofní mikroorganismy využívají jako zdroj energie sluneční záření, tuto energii přeměňují na energii chemickou. Kromě chlorofylu využívají některé mikroorganismy také karotenoidní barviva k adsorpci světla a jeho předání do reakčního centra v chlorofylu. Jako zdroj uhlíku mohou využívat CO₂ nebo organické sloučeniny.

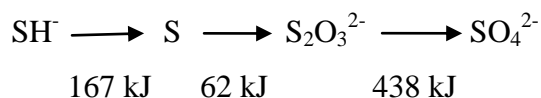
Fotoautotrofní (fotolitotrofní) mikroorganismy využívají jako zdroj energie světlo a jako zdroj uhlíku CO₂. ATP se tvoří v procesu fotosyntézy, necyklickou fotofosforylací. Vodík pro redukci CO₂ poskytují anorganické sloučeniny. **Vodu** jako zdroj vodíku využívají **sinice, řasy** a rostliny, které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

Fotoheterotrofní (fotoorganotrofní) mikroorganismy jako zdroj uhlíku a vodíku pro redukci CO₂ využívají organické sloučeniny. Patří sem **nesírné purpurové bakterie** (čeleď *Rhodospirillaceae*), které obsahují bakteriochlorofyl i karotenoidní barviva. Většinou jsou schopné využívat i plynný vodík. Za světla mají anaerobní metabolismus, ve tmě však oxidují organické sloučeniny aerobně.

Sírné i nesírné bakterie dokáží fixovat vzdušný dusík. Vyskytují se v sírných pramenech, organicky znečištěné a zahnívající vodě, v mořích. Absorbují díky odlišnému chlorofylu světlo o vlnových délkách, které nevyužívají řasy. Karotenoidní barviva absorbují světlo o vlnové délce 450 až 550 nm.

Chemotrofní mikroorganismy získávají energii oxidací chemických sloučenin a to jak anorganických tak i organických.

Chemoautotrofní (chemolitotrofní) mikroorganismy získávají energii oxidací různých anorganických sloučenin. Patří sem několik skupin aerobních bakterií. **Bezbarvé sírné bakterie** a **vláknité sírné bakterie**, které získávají energii oxidací síry a jejích sloučenin, především sirovodíku. Elementární síru mohou ukládat v buňce ve formě zrníček. Příslušníci rodu *Thiobacillus* produkují H_2SO_4 a mohou silně okyselovat prostředí.



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

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



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

Bakterie využívající pouze methan a methanol, patřící k rodům *Methylomonas* a *Methylococcus*, nejsou schopny využívat žádné další organické sloučeniny a pro syntézu buněčné hmoty využívají CO₂. Některé ale mohou energii získat i oxidací sacharidů či jiných organických sloučenin. A jsou tedy **mixotrofními mikroorganismy**.

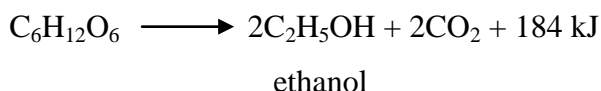
Chemoheterotrofní (chemoorganotrofní) mikroorganismy získávají energii oxidací organických sloučenin, jichž využívají také jako zdrojů uhlíku, vodíku a většinou i kyslíku k syntéze buněčné hmoty. Do této skupiny patří většina bakterií včetně patogenů a mikroskopické houby, tj. kvasinky a plísně. Tyto mikroorganismy mají velký význam v koloběhu látek v přírodě, při produkci organických kyselin a dalších významných látek. Podílí se ale také na kažení potravin, krmiv a surovin pro jejich výrobu. Z potravinářského hlediska jde tedy o nejvýznamnější skupinu mikroorganismů.

Za **aerobních podmínek** jsou organické sloučeniny oxidovány s maximálním ziskem energie až na oxid uhličitý a vodu. Proces označujeme též jako **respirace** neboli **dýchání**.



Dusík obsažený v organických sloučeninách je přeměňován většinou na amoniak. Při nadbytku organického substrátu a absenci některých enzymů vedoucích k úplnému rozkladu tohoto substrátu může být substrát jen částečně oxidován za vzniku technologicky významného produktu. Tento proces pak označujeme jako **neúplná oxidace** nebo **nepřavé kvašení**. Tento proces je využíván při výrobě kyseliny octové, citronové, fumarové aj.

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



Anaerobní oxidace může ale probíhat i s využitím kyslíku dusičnanů (např. u příslušníků rodu *Bacillus* aj.) nebo síranů (u rodu *Desulfovibrio* a *Desulfotomaculum*). Ze síranů při tomto procesu vzniká sirovodík, který při reakci s železitými či jinými kationty tvoří černé sulfidy. To může být například příčinou černání obsahu konzerv. Při tzv.

dusitanovém kvašení dochází při oxidaci dusičnanů ke vzniku toxických dusitanů nebo nižších oxidů dusíku.

6.4 Příjem živin a exkrece látek mikrobiální buňkou

Mikroorganismy dokáží přijímat živiny celým povrchem buňky. Příjem živin reguluje cytoplazmatická membrána, která tvoří osmotické rozhraní mezi buňkou a vnějším prostředím. Složité a velké molekuly však nemohou touto membránou projít a musí být nejprve enzymaticky rozloženy na jednodušší sloučeniny. Významnou roli zde sehrávají permeasy.

Mechanismus přenosu některých vysokomolekulárních sloučenin jako jsou peptidy, některé bílkoviny, fágová nebo bakteriální DNA není ještě uspokojivě popsán, předpokládá se však existence specifických receptorů v cytoplazmatické membráně, na něž se tyto látky naváží a jež způsobí změnu permeability membrány. Předpokládá se rovněž přenos takovýchto látek pinocytózou (eukaryota).

Přenos látek se však nejčastěji děje prostřednictvím pasivní difuze, usnadněné difuze nebo aktivním transportem.

Pasivní difuze probíhá přes cytoplazmatickou membránu jejími bílkovinnými póry ve směru gradientu tak dlouho, až se koncentrace na obou stranách membrány vyrovnají. Volně mohou difundovat pouze nízkomolekulární hydrofilní sloučeniny bez elektrického náboje (nedisociované molekuly vody, slabých kyselin a zásad, kyslík, některé ionty, ethanol, polyoly - vícesytné alkoholy, monosacharidy lineární – acyklické struktury). Lipidovou částí cytoplazmatické membrány prochází sloučeniny rozpouštějící lipidy jako např. aceton nebo diethylether a sloučeniny lipofilní nebo s lipofilní složkou (mýdla, alkylsulfáty apod.). Vyšší koncentrace způsobují odumření buňky, protože poškozují cytoplazmatickou membránu.

Usnadněná difuze probíhá ve směru gradientu bez potřeby metabolické energie. Je však potřebný specifický bílkovinný přenašeč. Tímto způsobem přijímají kvasinky pentosy a hexosy a vylučují ethanol.

Aktivní transport probíhá proti gradientu koncentrace. Jsou takto transportovány anorganické ionty a organické sloučeniny jako oligosacharidy, aminokyseliny, vitaminy, puriny, pyrimidiny a u některých mikroorganismů i některé organické kyseliny (kyselina citronová). Tento transport vyžaduje metabolickou energii a přítomnost specifických bílkovin zprostředkujících transport anorganických iontů (označují se jako přenašeče) nebo organických sloučenin (označují se jako permeasy někdy i indukovatelné – viz dále). Přenášená látka se do buňky dostává bez chemické modifikace. Aktivní transport může

probíhat jako **primární aktivní transport** využívající energii redox systémů a makroergických sloučenin (např. ATP). Takto se přenáší např. galaktosa u *E. coli*, laktosa a maltosa u *Staphylococcus aureus*, ionty draslíku, vápníku, sodíku a hořčíku u bakterií a eukaryotních mikroorganismů. **Sekundární aktivní transport** využívá energizovaného stavu cytoplazmatické membrány ve spojení např. s transportem další látky. Využívá energie uvolněné přímo katabolickým procesem. Je to neekonomičtější mechanismus transportu. Takto jsou přenášeny oligosacharidy, aminokyseliny, purinové a pyrimidinové baze.

Specifický příkladem aktivního transportu je **transport spojený s přeměnou sloučeniny**. Takto se přenáší monosacharidy, disacharidy a alkoholické cukry u řady fakultativně anaerobních a anaerobních bakterií. Proces je spojen s fosforylací uvedených cukrů. Systém bílkovin a enzymů, uskutečňující tento transport, se nazývá **fosfotransferasový systém PTS**.

Výsledkem aktivního metabolismu mikrobiální buňky je velké množství produktů, které vylučuje buňka do vnějšího prostředí. Většina těchto látek z buňky odchází **volnou difuzí** (např. CO₂, ethanol, vyšší alkoholy). Mechanismus vylučování dalších látek jako např. kyseliny mléčné, octové, citronové nebo aminokyselin u produkčních mutantů není dosud znám. Důležité je vylučování **extracelulárních hydrolytických enzymů** (amylas, proteinas, lipas, celulas atd.) mikrobiální buňkou do vnějšího prostředí. Hydrolytické enzymy se jako jednotlivé polypeptidové podjednotky syntetizují v ribozomech a procházejí přes cytoplazmatickou membránu. K jejich sestavení v příslušný enzym dochází v periplazmovém prostoru nebo po průchodu póry buněčné stěny. U kvasinek a plísni se předpokládá, že některé vysokomolekulární sloučeniny se do prostředí vylučují vyprázdněním sekrečních nádobek, např. měchýřků Golgiho aparátu do periplazmového prostoru. V jednodušších případech a pravděpodobně i u bakterií může jít o pinocytozu.

7 METABOLISMUS MIKROORGANISMŮ

Pro tvorbu buněčné hmoty, reprodukci a zajištění ostatních životně důležitých procesů potřebují mikroorganismy stavební materiál a energii. Stavební materiál jsou živiny a látky přijímané a transformované buňkou. Mikroorganismy mohou využívat obrovské spektrum nejrůznějších látek. Zdrojem energie pak může být světelná energie nebo energie chemicky vázaná (viz kap. 5.3). Soubor biochemických procesů, kterými se uskutečňuje příjem látek, jejich přeměny a vylučování se nazývá **metabolismus**. Procesy zahrnující štěpení (oxidaci)

složitějších látek na jednodušší, při kterém se uvolňuje energie, označujeme jako **katabolismus** (katabolické, **rozkladné - disimilační procesy**).

Procesy při nichž vznikají z jednoduchých látek látky složitější a spotřebovává se energie, označujeme jako **anabolické** či jako **procesy biosyntetické (asimilační)**.

Intenzita metabolismu je u mikroorganismů podstatně vyšší než u ostatních organismů. Je to dáno především tím, že mikroorganismy přijímají živiny celým povrchem buňky, dovedou rychle získávat energii, intenzivně syntetizují bílkoviny, jsou bohatě enzymově vybaveny a velmi rychle se dovedou adaptovat na měnící se podmínky v růstovém prostředí.

7.1 Enzymy

Většina metabolických procesů je katalyzována bílkovinnými makromolekulami - **enzymy**. Odhaduje se, že i nejjednodušší buňky obsahují přes 3000 enzymů, které řídí rychlost prakticky všech reakcí v nich probíhajících. Katalytickou funkci může vykonávat jednoduchá nebo většinou **složená bílkovina**. Bílkovinná část enzymu se nazývá **apoenzym**. Nebílkovinná část enzymů povahy složených bílkovin se nazývá **kofaktor** (např. NAD^+ , NADP^+ , FMN, FAD, ATP, pyridoxalfosfát, glutathion). Kofaktory přenáší atomy nebo jejich skupiny nebo elektrony při biochemických reakcích katalyzovaných příslušnými enzymy. Pevně vázaný kofaktor na bílkovinnou část enzymu je označován jako **prosthetická skupina** (např. pyridoxalfosfát u aminotransferas). Slabě vázaný a snadno disociovatelný (oddělitelný) kofaktor označujeme jako **koenzym** (např. koenzym A). Jeho komplex s apoenzymem pak označujeme jako **holoenzym**.

Obrovské množství změn v prostorovém uspořádání molekul a změn struktur jejich povrchu umožňují vysokou specifitu enzymů, která může být v podstatě dvojího typu, a to **substrátová specifita**, tj. schopnost určitého enzymu katalyzovat přeměnu určitého substrátu a **specifita účinku**, kdy příslušný enzym katalyzuje jen jednu z více možných přeměn substrátu. **Mechanismus působení enzymů** se vysvětluje na základě tvorby aktivního komplexu enzymu se substrátem, který přechází přes přechodný stupeň na komplex enzym a produkt. Tento systém se následně rozpadá a regenerovaný enzym může vstoupit do další reakce.

Podle typu katalyzované reakce rozdělujeme enzymy do šesti základních skupin:

1. **Oxidoreduktasy** katalyzují intermolekulové oxidačně redukční přeměny. Jsou to složené bílkoviny a jsou velmi početné. Oxidoredukční děje realizují přenosem atomů vodíku (transhydrogenasy nebo dehydrogenasy) nebo elektronů (transelektronasy), případně vestavěním atomu kyslíku do substrátu (oxygenasy). Příkladem je laktátdehydrogenasa vratně dehydrogenující laktát na pyruvát.
2. **Transferasy** realizují přenos skupin $-CH_3$, $-NH_2$, zbytků glukosy apod. v aktivované formě z jejich donoru na akceptor. Jde většinou o složené bílkoviny. Příkladem může být aminotransferasa přenášející aminoskupinu z aminokyseliny na oxokyselinu.
3. **Hydrolasy** štěpí hydrolyticky vazby vzniklé kondenzací např. peptidové, glykosidové, esterové. Jsou to vesměs jednoduché bílkoviny. Příkladem mohou být proteasy štěpící peptidové vazby v molekulách bílkovin a peptidů.
4. **Lyasy** katalyzují nehydrolytické štěpení a vznik vazeb C-C, C-O, C-N, tak, že odštěpují ze substrátu nebo do něj vnášejí malé molekuly (H_2O , CO_2 , NH_3 atd.) bez pomoci dalšího reaktantu. Jsou to složené bílkoviny a tvoří málo početnou skupinu. Příkladem může být pyruvátdekarboxylasa odštěpující z pyruvátu CO_2 za vzniku acetaldehydu.
5. **Isomerasy** realizují vnitromolekulové přesuny atomů a jejich skupin, tedy vzájemné přeměny isomerů. Jsou nejméně početnou skupinou enzymů a jde většinou o jednoduché bílkoviny. Příkladem může být triosafosfátisomerasa katalyzující vytvoření rovnováhy mezi glyceraldehyd-3-fosfátem a dihydroxyacetonfosfátem.
6. **Ligasy** katalyzují vznik energeticky náročných vazeb za současného rozkladu látky uvolňující energii, např. ATP. Jsou málo početnou skupinou enzymů povahy složených bílkovin. Bývají označovány také jako syntethasy. Příkladem může být pyruvátkarboxylasa katalyzující zabudování CO_2 do molekuly pyruvátu za vzniku oxalacetátu.

Podle místa působení dělíme enzymy na **enzymy intracelulární**, které zajišťují vnitrobuněčný metabolismus. Druhou skupinou jsou **extracelulární enzymy**, které buňka vylučuje do okolního prostředí, jde zejména o enzymy katalyzující hydrolýzu živin.

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

1. **Konstitutivní enzymy** jsou přítomny v buňce za jakýchkoliv vnějších podmínek. Příkladem mohou být enzymy umožňující využívání většiny hexos.

2. **Indukovatelné enzymy** jsou syntetizovány jen tehdy, je-li v živném prostředí přítomen induktor tj. sloučenina, jejíž přeměnu tyto enzymy katalyzují.
3. **Reprimovatelné enzymy** jsou syntetizovány jen tehdy, není-li ve vnějším prostředí přítomna sloučenina produkovaná metabolickým řetězcem, jehož součástí jsou tyto enzymy. Jestliže je sloučenina následně do prostředí dodána, dojde k **zastavení (represi)** syntézy těchto enzymů a buňka bude přijímat hotovou sloučeninu z prostředí.
4. **Indukovatelné enzymy, které podléhají ještě represi.** Jsou to indukovatelné katabolické enzymy, jejichž indukce je **reprimována přítomností snáze využitelného zdroje energie.**

Příkladem může být **glukosová nebo hexosová represe**, kdy je indukce enzymu štěpícího oligosacharid (maltosu, laktosu, celobiosu, rafinosu) nebo polysacharid celulosu potlačena přítomností snadno využitelné hexosy štěpené konstitutivními enzymy. Represí indukovatelných enzymů lze vysvětlit postupné využívání substrátu od nejnáze využitelného k těm, pro jejichž využití je třeba komplikovanějších enzymových systémů. Tento jev je nazýván **diauxie**.

Hexosové represi podléhá také indukce dýchacích enzymů u většiny fakultativně anaerobních mikroorganismů. Pro buňku je jednodušší využít cukr přítomný v dostatečně vysoké koncentraci anaerobním procesem, i za cenu nižšího energetického zisku. Teprve při poklesu koncentrace pod určitou hladinu, začne syntéza indukovatelných enzymů a přenašečů elektronů, nutných pro aerobní využití cukru a tím i jeho efektivnějšího energetického využití. Takovému potlačení dýchání přítomností hexosy se u kvasinek říká **Crabtreeho efekt**.

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

Aktivitu enzymů ovlivňují různé faktory prostředí. Jde především o fyzikálně-chemické vlastnosti prostředí a přítomnost specifických látek s funkcí aktivátorů nebo inhibitorů enzymů (např. koncentrace substrátu nebo metabolitů, teplota, pH atd.). **Kompetitivní inhibitory** soutěží se substrátem o aktivní místa na molekule enzymu, nemohou být ale přeměněny na normální produkt reakce. Zvýšením koncentrace substrátu se enzymatická aktivita může obnovit. **Nekompetitivní inhibitory** se vážou na jiné místo

enzymu a způsobí takové konformační změny, že produkt vzniká velmi pomalu nebo vůbec ne, bez ohledu na koncentraci substrátu.

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

7.2 Metabolismus chemoheterotrofních mikroorganismů

Z potravinářského hlediska jsou nejdůležitější metabolické procesy **chemoheterotrofních mikroorganismů** tedy mikroorganismů, které energii získávají oxidací organických sloučenin. Tato oxidace může probíhat za aerobních nebo za anaerobních podmínek. Kofaktor oxidoredukčních enzymů funguje jako přenašeč vodíku nebo elektronů a při oxidaci substrátu se redukuje. Regenerace kofaktoru probíhá aerobně (za účasti plynného - vzdušného kyslíku) nebo anaerobně (bez účasti plynného kyslíku)

Při **aerobních katabolických procesech** jsou redukované kofaktory oxidovány za postupné účasti jednotlivých přenašečů vodíku a elektronů, tvořících tzv. **dýchací řetězec**. Dva vodíky redukovaných kofaktorů jsou na konci tohoto řetězce oxidovány za účasti vzdušného kyslíku ve vodu. Při tomto dýchacím procesu vzniká velké množství energie; proces jejího ukládání do makroergické sloučeniny (ATP) se nazývá **aerobní (oxidační) fosforylace**. Při aerobní oxidaci z jedné molekuly NADH v dýchacím řetězci vznikají z ADP a anorganického fosfátu 3 molekuly ATP.

Při **anaerobních katabolických procesech** se regenerace redukovaného kofaktoru uskutečňuje tak, že redukovaný kofaktor předá dva vodíky další části substrátu, takže vzniká **redukováná sloučenina**, která je ještě poměrně energeticky bohatá, ale již není využitelná daným mikroorganismem anaerobním způsobem a je vylučována do prostředí. Při těchto procesech se uvolňuje mnohem méně energie.

ATP je univerzální přenašeč chemické energie mezi reakcemi energií poskytujícími a reakcemi, které energii spotřebovávají. Při přeměně 1 mol. ATP v ADP se obvykle uvolní energie 30 - 37 kJ, ale za některých podmínek až 50 kJ.

Za aerobních podmínek se substráty mohou oxidovat až na CO₂ a vodu a energetický zisk buňky je mnohem vyšší než u anaerobních procesů (viz kap. 6.3). Množství sloučenin,

kteřé mohou mikroorganismy tímto způsobem využít je mnohem větší než u ostatních organismů.

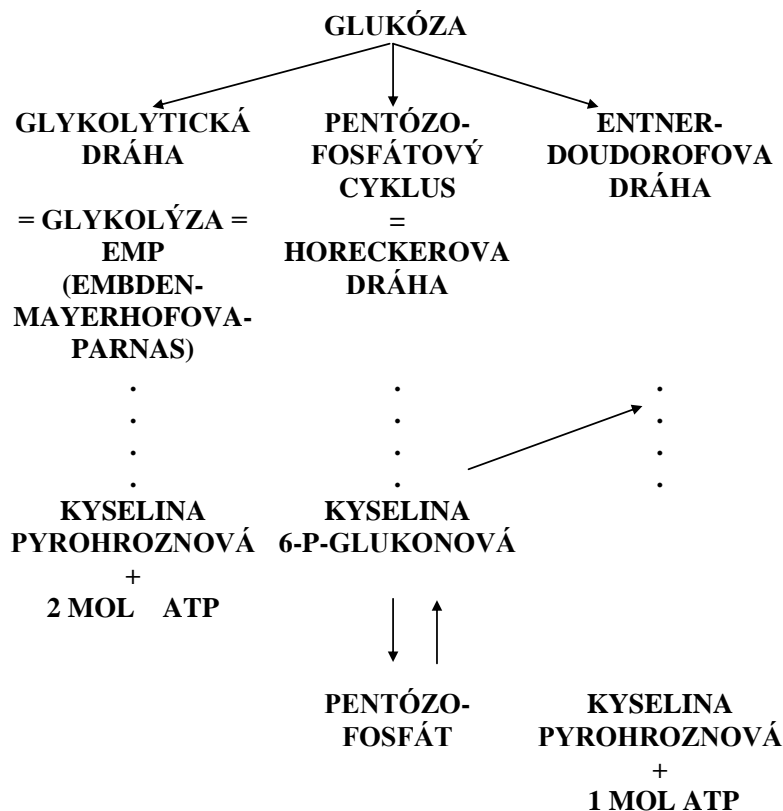
7.2.1 Rozklad monosacharidů

Hlavní cestou odbourávání glukosy (viz Obr. 20), vzniklé štěpením sacharidových složek potravy a rezervních polysacharidů je **glykolýza**. Kompletní schéma přeměny glukosy na pyruvát bylo objasněno v roce 1940 a bylo nazváno **Embden-Mayerhofova** nebo **Embden-Mayerhof-Parnasova dráha** (EMP dráha). Kromě glukosy se touto drahou přeměňují i další hexosy (fruktosa, mannosu, galaktosa). Jde o sled deseti reakcí katalyzovaných příslušnými enzymy. Tento proces začíná postupnou fosforylací hexos až ve fruktosa-1,6-bisfosfát, pokračuje jeho štěpením na 2 trifosfáty a jejich oxidací v 1,3-bisfosfoglycerát. Při oxidaci se redukuje koenzym NAD^+ v $\text{NADH} + \text{H}^+$ a u některých mikroorganismů je jediným zdrojem energie glykolýzy. Část takto získané energie se ihned uloží v ATP a další se uvolní až při dalších reakčních stupních, tj. při přeměně fosfoenolpyruvátu v pyruvát za vzniku další ATP. **Čistý zisk při odbourání molekuly hexosy je 2 ATP.** Pyruvát pak může být následně přeměňován za aerobních podmínek v citrátovém cyklu nebo za anaerobních podmínek na různé organické sloučeniny podle druhu fermentace.

Alternativní cestou rozkladu glukosy je **pentoso-fosfátový cyklus** (pentosový cyklus, Horeckerova dráha, hexosamonofosfátový zkrat). Tento cyklus umožňuje úplnou oxidaci hexosy na CO_2 bez zahrnutí citrátového cyklu a dýchacího řetězce. Je zdrojem redukovaného koenzymu NADPH, kterého se využívá při většině redukčních procesů syntézy buněčné hmoty. Je rovněž zdrojem pentos pro syntézu nukleotidů a nukleových kyselin, nejsou-li pentosy obsaženy v růstovém prostředí. Jeho podstatou je fosforylace hexosy a následující oxidace (za součinnosti NAD^+) v 6-fosfoglukono- δ -lakton, který je následnou enzymovou adicí H_2O přeměněn v 6-fosfoglukonát. Ten je pak oxidačně dekarboxylován v pentosa-5-fosfát za současné redukce NADP^+ . Šest molekul pentosa-5-fosfátu je systémem enzymů postupně přeměňováno v sedmi-, tří- a čtyřuhlíkaté fosforylované cukry, až se konečně získá pět molekul glukosa-6-fosfátu, které jsou znovu oxidovány. Procesu lze využít při výrobě kyseliny glukonové pomocí *Aspergillus niger*.

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

Kyselina 6-fosfoglukonová, která vzniká v tomto cyklu může vstoupit do další metabolické dráhy rozkladu hexos a tou je **Entner-Doudoroffova dráha**. V této dráze je glukosa fosforylována na glukosa-6-fosfát, který je pak oxidován za součinnosti NADP⁺ na 6-fosfoglukonát. Ten je dehydratován na 2-keto-3-deoxy-6-fosfoglukonát a ten je pak štěpen na pyruvát a glycerinaldehyd-3-fosfát. Vzniklý glycerinaldehyd-3-fosfát je převeden procesy známými při glykolýze na pyruvát za vzniku 2 ATP a NADH. Oba vzniklé pyruváty jsou oxidační dekarboxylací převedeny v acetylkoenzym A, který vstupuje do citrátového cyklu. Vzniklé NADPH a NADH jsou oxidovány v dýchacím řetězci za vzniku příslušného množství ATP. Z jedné molekuly glukosy je čistý zisk 37 ATP. Touto drahou získávají energii aerobní gramnegativní bakterie rodu *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Azotobacter*, *Rhizobium* aj. ale také fakultativně anaerobní bakterie rodu *Zymomonas*, které vzniklé pyruváty přeměňují glykolýzou za anaerobních podmínek v ethanol.



Obr. 20: Schema metabolických drah rozkladu glukosy

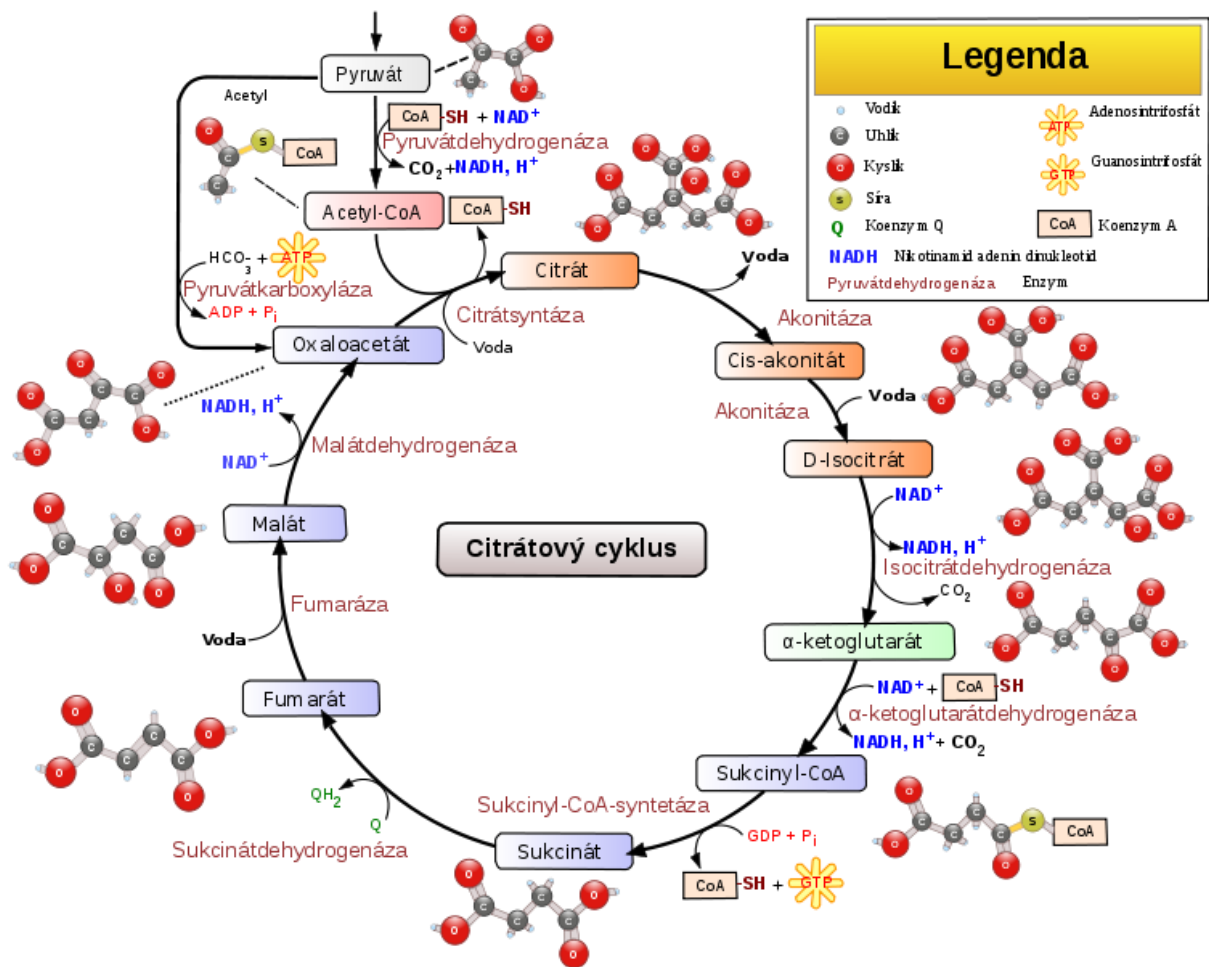
7.2.1.1 Aerobní respirace mikroorganismů

Aerobní katabolické procesy poskytují buňce mnohem více energie než procesy anaerobní. Paleta využitelných organických sloučenin je pestrá. Prakticky neexistuje žádná přirozená organická sloučenina, která by nebyla rozložitelná nějakým mikroorganismem. Univerzálním substrátem je glukosa. Proces její aerobní oxidace můžeme rozdělit na čtyři děje: **glykolýzu, citrátový (Krebsův) cyklus, transport vodíku a elektronů ke kyslíku a tvorbu ATP oxidací na membránové úrovni**. Glykolýza je děj zahajující fermentaci, ale vzniklý pyruvát je dále oxidován a dekarboxylován na acetyl-CoA (ten se tvoří i při rozkladu lipidů a některých aminokyselin).

Citrátový cyklus a glyoxylátový cyklus

Citrátový cyklus (viz Obr. 21) neboli cyklus trikarboxylových kyselin nebo také Krebsův cyklus je nejdůležitější aerobní katabolický proces mikroorganismů, má význam jak energetický, tak také z hlediska látkového metabolismu. Do cyklu vstupuje acetyl-CoA a acetyl je v něm postupně oxidován až na CO_2 za redukce čtyř molekul kofaktorů. Redukované kofaktory jsou potom oxidovány dýchacím řetězcem za vzniku ATP. Při oxidaci jedné molekuly acetylu a oxidační regeneraci kofaktorů se získá až 12 ATP. Důležitým zdrojem acetylu je pyruvát, vytvořený glykolýzou z hexosy. Při aerobním využití jedné molekuly hexosy přes pyruvát a citrátový cyklus vzniká za současné aerobní regenerace vzniklých redukovaných kofaktorů až **38 ATP** (19 x více než při anaerobním využití, ethanolové či mléčné fermentaci).

Meziprodukty cyklu jsou trikarboxylové kyseliny citronová a isocitronová, dikarboxylové kyseliny α -oxoglutarová, jantarová (anion se nazývá sukcinát), fumarová, jablečná (anion se označuje jako malát) a oxaloctová. V tomto cyklu jsou využívány kromě acetátu a pyruvátu i ethanol po enzymové oxidaci na acetát, glycerol a laktát po přeměně na pyruvát, di- a trikarboxylové kyseliny, vyšší mastné kyseliny a většina aminokyselin po enzymové deaminaci.



Obrázek 21: **Citrátový cyklus** (wikipedie, Citric acid cycle, GFDL, License migration redundant)

Citrátový cyklus slouží mikroorganismům jako zdroj látek pro syntézu buněčných složek. Je **zdrojem oxokyselin** (α -oxoglutarové a oxaloctové) pro syntézu aminokyselin. Tyto meziprodukty z citrátového cyklu významně ubývají v období růstu mikroorganismů, jejich úbytek je nahrazován **karboxylací pyruvátu** za vzniku oxalacetátu a **roztěpením izocitrátu v sukcinát a glyoxylát** a reakcí glyoxylátu a acetyl-CoA za vzniku dalšího meziprojektu citrátového cyklu, tedy z jedné molekuly izocitrátu vznikne molekula sukcinátu a malátu.

Vznik glyoxylátu a jeho další metabolismus je označován jako **glyoxylátový cyklus**, který se uplatňuje hlavně při využívání dvouuhlíkatých sloučenin (acetátu, ethanolu a vyšších mastných kyselin). Enzymy pro citrátový a glyoxylátový cyklus jsou u prokaryot umístěny v cytoplasmatické membráně. U fakultativně anaerobních mikroorganismů jsou to indukovatelné enzymy podléhající většinou hexosové represi. U eukaryot jsou enzymy umístěny v mitochondriích.

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

Citrátový cyklus ve své katabolické funkci úzce souvisí s dýcháním a tedy i s **dýchacím (respiračním) řetězcem**. V dýchacím řetězci jsou oxidovány redukované kofaktory NADH, FMNH₂ a FNDH₂. V podstatě jde o stupňovitý přenos vodíku z redukovaných kofaktorů na elementární kyslík a vzniká voda. Při oxidaci NADH + H⁺ dýchacím řetězcem vznikají 3 ATP, při oxidaci FADH₂ maximálně 2 ATP. Přenosem vodíku z redukovaných kofaktorů až na kyslík respiračním řetězcem se uvolní energie využitelná k syntéze ATP z ADP. Tento děj se nazývá **oxidační (aerobní) fosforylace**. Respirační řetězec a oxidační fosforylace jsou spřažené procesy, které probíhají u prokaryot v cytoplazmatické membráně a u eukaryot v mitochondriích.

7.2.1.2 Částečná oxidace organických substrátů

Organické sloučeniny se mohou oxidovat až na CO₂ a H₂O různými metabolickými drahami za účasti velkého počtu různých enzymů. Chybí-li buňce příslušný enzym, dojde v daném místě k přerušení řetězce reakcí a proces se zastaví. Vzniklý produkt může buňka metabolizovat jinými drahami nebo ho jako nevyužitelný vyloučí do prostředí. Příkladem takovýchto procesů, které mají i průmyslové využití, je částečná oxidace ethanolu na kyselinu octovou bakteriemi rodu *Acetobacter* nebo *Gluconobacter* či tvorba kyseliny citronové plísní *Aspergillus niger*. Tyto procesy bývají nesprávně označovány jako octové a citronové kvašení. Neúplná oxidace nastává v nepříznivých podmínkách např. při nepříznivém pH (při produkci kyseliny citronové pH 2,0), nedostatku stopových prvků či při přebytku sacharidů.

7.2.1.3 Fermentace (kvašení)

Fermentace (kvašení) je jedním ze základních a nejstarších typů energetického metabolismu. Mikroorganismy mohou fermentovat mnoho různých organických substrátů. Nejčastěji to jsou ale sacharidy. Základní dráhou je glykolýza, při níž vzniká pyruvát, který je následně přeměňován na různé produkty. Nejčastěji to jsou organické kyseliny (mléčná, octová, propionová, máselná, aj.), alkoholy a jim příbuzné látky (ethanol, aceton, isopropanol, butanol, aj.), častým produktem jsou rovněž plyny především CO₂ a H₂. Společným cílem přeměny pyruvátu u fermentací je přeměna redukovaného kofaktoru (NADH) ve formu schopnou dehydrogenovat další molekulu substrátu při glykolýze (tj. v NAD⁺). Akceptorem

vodíku jsou u anaerobního rozkladu sacharidů organické látky, které vznikají v průběhu glykolýzy. Podle výsledného produktu jsou odvozeny i názvy jednotlivých fermentací. Výsledkem vždy není jen jeden produkt, může jich vznikat více.

7.2.1.3.1 Ethanolové kvašení

Nejrozšířenějším typem fermentace sacharidů je ethanolová fermentace (ethanolové či alkoholové kvašení). Hlavními původci tohoto kvašení jsou kvasinky (nejvýznamnější je rod *Saccharomyces*). Toto kvašení navazuje na **EMP dráhu**. Vzniklý pyruvát je dekarboxylován na acetaldehyd za součinnosti redukovaného kofaktoru NADH a příslušného enzymu redukován na ethanol. Z jedné molekuly hexosy vznikají dvě molekuly ethanolu a dvě molekuly CO₂, za současného čistého zisku energie 2ATP. U některých bakterií např. *Pseudomonas lindneri* či *Sarcina ventriculi* probíhá glykolýza Entner-Doudoroffovou dráhou a konečným produktem je opět ethanol a CO₂.

Průběh a konečné produkty ethanolového kvašení mohou být ovlivněny podmínkami prostředí, mluvíme tak o různých formách tohoto kvašení. V přítomnosti NaHSO₃ je vznikající acetaldehyd blokován tvorbou adiční sloučeniny a nemůže tedy fungovat jako akceptor vodíku. Jako náhradní akceptor je využíván v tomto případě dihydroxyacetonfosfát z EMP dráhy, který je redukován a defosforylován na **glycerol**. Další forma probíhá v alkalickém prostředí za přítomnosti HCO₃⁻ nebo HPO₄²⁻ a tvoří se rovněž glycerol, protože acetaldehyd se přeměňuje dismutací na ethanol a kyselinu octovou a není využíván jako akceptor vodíku.

Ethanolové kvašení se využívá při výrobě alkoholických nápojů a ethanolu. CO₂ vznikající při fermentaci je příčinou kynutí těsta. Technologický význam mají i látky vznikající při této fermentaci v malém množství. Tyto látky především vyšší jednosytné alkoholy (propanoly, butanoly, pentanoly) označované jako **přiboudliny** jsou používány při výrobě laků. Vznikající **estery** tvořící se esterifikací organických kyselin ethanolem se podílí na buketu vína, v pivovarnictví však působí negativně. **Diacetyl**, který vzniká kondenzací acetaldehydu s pyruvátem na kyselinu acetylmléčnou a jejím samovolným oxidačním rozkladem má negativní význam v pivovarnictví (tvoří ho především bakterie rodu *Pediococcus*). Naopak pozitivně působí na tvorbu charakteristického aroma fermentovaných mléčných výrobků, kde je produkován především bakterií *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*.

7.2.1.3.2 Mléčné kvašení

Mléčná fermentace či mléčné kvašení nebo také mléčné kysání (protože se tvoří organické kyseliny) je jedním z nejdůležitějších fermentačních procesů využívaných v potravinářství. Podle průběhu fermentace a výsledných produktů ho dělíme na homo- a heterofermentativní a je uskutečňován především bakteriemi mléčného kvašení (viz Tab. 4). Tato skupina je tvořena 13 rody grampozitivních bakterií *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Paralactobacillus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*.

Pravé bakterie mléčného kvašení tvoří velkou přirozenou skupinu nepohyblivých, nesporulujících G+ koků a tyčinek, které fermentují sacharidy za fakultativně anaerobních (mikroaerofilních) podmínek a tvoří přitom hlavně kyselinu mléčnou (Orla-Jensen 1919 – tato definice je ve své podstatě dosud platná).

Homofermentativní mléčné kvašení navazuje na EMP dráhu, vzniklý pyruvát je redukován za součinnosti redukovatelného kofaktoru na laktát, tj. anion kyseliny mléčné. Ten je v podstatě jediným produktem (více jak 90 %), ostatní vedlejší produkty se tvoří v nepatrném množství. Mezi homofermentativní bakterie patří např. rody *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, některé druhy rodu *Lactobacillus*.

Heterofermentativní mléčné kvašení je charakterizováno kromě tvorby kyseliny mléčné (více jak 50 %) tvorbou dalších významných produktů jako je kyselina octová, ethanol, CO₂. kromě toho vznikají v menším množství i kyseliny mravenčí a jantarová, glycerol aj. Průběh fermentace je odvozen od pentosofosfátové dráhy. Heterofermentativním bakteriím chybí enzymy aldolasa a triosofosfátisomerasa. V průběhu fermentace je vzniklý pentosofosfát přeměňován na xyluloso-5-fosfát a enzymem pentosofosfátketolasou rozštěpen na glyceraldehyd-3-fosfát a acetylfosfát. Acetylfosfát je některými bakteriemi (*Leuconostoc*) redukován přes acetaldehyd na ethanol, jiné druhy (*Lactobacillus brevis*) přeměňují acetylfosfát buď zcela, nebo částečně na acetát přičemž vzniká makroergická vazba ATP. Přebytečný vodík je v tomto případě přenášen na glukosu za vzniku manitolu. Glyceraldehyd-3-fosfát je přeměňován glykolýzou na pyruvát a pak na laktát.

Tabulka 4: Rozdělení významných bakterií mléčného kvašení podle typu a produktů kvašení (Görner a Valík, 2004, upraveno)

Rod (skupina)	Typ fermentace	Hlavní produkty (molární poměr)
<i>Lactococcus</i>	homofermentativní	laktát
<i>Streptococcus</i>	homofermentativní	laktát
<i>Pediococcus</i>	homofermentativní	laktát
<i>Lactobacillus</i>	homofermentativní	laktát
<i>Thermobacterium</i>	homofermentativní	laktát
<i>Streptobacterium</i>	homofermentativní	laktát
	heterofermentativní*	laktát:acetát 1:1
<i>Betabacterium</i>		
	heterofermentativní	laktát : acetát : CO ₂ 1:1:1
<i>Leuconostoc</i>	heterofermentativní	laktát : acetát : CO ₂ 1:1:1
<i>Bifidobacterium</i> **	heterofermentativní	laktát : acetát 2:3

Vysvětlivky: * při fermentaci pentos, ** nepatří mezi pravé bakterie mléčného kysání, *Thermobacterium*, *Streptobacterium*, *Betabacterium* jsou skupiny laktobacilů podle původního třídění (Orla-Jensen, 1919), které ale nemají taxonomickou hodnotu.

Bakterie mléčného kvašení se vyskytují ve střevech a na sliznici lidí a zvířat, na rostlinách a ve fermentovaných potravinách (mléčné výrobky, masné výrobky, zelenina...). Jejich význam tkví především v prodloužení trvanlivosti potravin, inhibici nežádoucí mikroflóry, produkci kyseliny mléčné, snížení pH a redoxpotenciálu, produkci látek s antimikrobiálním účinkem (nisin, bakteriociny, kyselina mléčná...), tvorbě produktů metabolismu dávajících potravinám typické sensorické vlastnosti (chuť, vůně, vzhled).

V potravinářství se využívají při průmyslové výrobě i tradiční malovýrobě fermentovaných mléčných výrobků (jogurty, kefir, kysaná mléka, kysaná smetana aj.), sýrů, tepelně neopracovaných fermentovaných masných výrobků, při výrobě fermentovaných potravin rostlinného původu (kysané zelí, kvašené okurky aj.), jsou složkou tradičního chlebového kvásku, významnou roli hrají ve vinařství v procesu jablečno-mléčného kvašení. Při výrobě potravin se bakterie mléčného kysání používají ve formě čistých mlékařských

kultur, startovacích kultur, zákysů apod. Jde o směsné často vícedruhové kultury, v nichž každý mikrobiální druh má svou funkci a účel.

Kromě bakterií mléčného kvašení produkují kyselinu mléčnou i bakterie rodu *Bifidobacterium*, které ale s pravými mléčnými bakteriemi nejsou fylogeneticky příbuzné, nebo bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae* (např. *E. coli*).

7.2.1.3.3 Propionové kvašení

Propionové kvašení navazuje na EMP dráhu a pyruvát nebo laktát je přeměňován na propionát a acetát, CO₂ a H₂O. Původci této fermentace jsou bakterie rodu *Propionibacterium* (*P. freudenreichii*). Jejich činnosti se využívá v sýrařství při výrobě sýrů s oky, které jsou tvořeny oxidem uhličitým (Ementál), svou činností se ale podílí i na tvorbě tytických sensorických vlastností těchto sýrů. Používají se i pro průmyslovou výrobu kyseliny propionové, která se, stejně jako její soli propionáty, využívá jako konzervační látka.

7.2.1.3.4 Máselné kvašení

Máselné kvašení je charakteristické pro anaerobní rod *Clostridium*. Produktem této fermentace nazývané také máselno-butanolové nebo aceton-izopropanolové kvašení je kyselina máselná (butyrát), která vzniká dekarboxylací pyruvátu z EMP dráhy na acetaldehyd, sloučením dvou acetylových zbytků za účasti CoA a jejich postupnou redukcí. Jde o poměrně složitý proces, při němž vznikají další významné produkty jako butanol, aceton, izopropanol, ethanol, CO₂ a H₂. Zvláštní variantou je butanol-acetonová fermentace druhem *Clostridium acetobutylicum*, kde aceton a butanol představují hlavní koncové produkty.

Máselná kyselina je nepříjemně páchnoucí látka, klostridia jsou proto obávanou kontaminací v potravinářství a krmivářství. Navíc produkcí plynů způsobují vadu sýrů označovanou jako pozdní duření sýrů (*C. butyricum*, *C. tyrobutyricum*). *C. butyricum* a *C. acetobutylicum* se využívají k průmyslové výrobě kyseliny máselné používané např. v kosmetickém průmyslu pro výrobu parfémů.

7.2.2 Rozklad složitých organických látek

Mikroorganismy mohou jako zdroj stavebních látek a energie využívat i složité a mnohdy těžko rozložitelné organické látky. Takovéto složité látky jsou většinou ve vodě nerozpustné a neprocházejí přes cytoplazmatickou membránu. Mikroorganismy je proto musí rozložit pomocí extracelulárních enzymů na látky jednodušší metabolizovatelné běžnými drahami v mikrobiální buňce. Někdy k tomu mohou využít také enzymy intracelulární, které se

uvolní po autolýze odumřelých buněk části mikrobiální populace. Mikrobiální rozkladné procesy jsou základem koloběhu látek v přírodě, využívá se jich při zpracování potravinářských surovin a biologicky rozložitelných odpadů. Na druhé straně bývají příčinou kažení potravin, chorob rostlin nebo způsobují znehodnocení různých organických materiálů.

7.2.2.1 Rozklad celulosy a hemicelulos

Nejrozšířenějším stavebním polysacharidem v přírodě je **celulosa**. Vyskytuje se především v buněčných stěnách rostlin, kde může být zastoupena až 40 - 60 %. Celulosa je ve vodě nerozpustná, její molekula se skládá z mnoha podjednotek D-glukosy (až 15 tisíc) vázaných k sobě β -1,4-glykosidickými vazbami a vytvářející dlouhý lineární řetězec (homopolymer) **glukan**. Vždy 600 až 1000 řetězců rovnoběžně orientovaných se laterálně spojuje intermolekulárními vodíkovými můstky do pevnějšího svazku zvaného mikrovlákno (mikrofibrila). V rostlinných pletivech tvoří celulosu komplexy s průvodními látkami – hemicelulosami, pektiny a ve starých pletivech bývá impregnována ligninem.

Úplný rozklad celulosy zajišťují mikroorganismy disponující enzymy celulasami. Těchto mikroorganismů ale v přírodě není mnoho. Počáteční fáze rozkladu probíhají vně buňky za účasti extracelulárních enzymů **celulas C₁ a C_x**. prvním produktem štěpení jsou tzv. celulosodextriny. Ty jsou poté štěpeny na disacharid celobiosu. Celobiosa je již rozpustná ve vodě, je buňkou asimilována a její další přeměny probíhají uvnitř buňky katalyzované enzymem **celobiasou** (β -glukosidasa). Produktem rozkladu je glukosa. Za **aerobních podmínek** jsou konečnými produkty rozkladu voda a CO₂, často se ale hromadí produkty neúplné oxidace ve formě organických kyselin hlavně uronových. Při **anaerobním rozkladu** (fermentaci) celulosy vznikají organické kyseliny jako octová, máselná a menší množství kyseliny mravenčí, mléčné a výjimečně i propionové. Při fermentaci se produkují samozřejmě také plyny především CO₂ a vodík. Mezi celulolytické mikroorganismy patří například příslušníci anaerobního rodu *Clostridium*, z aerobních jsou to např. rody *Polyangium* a *Streptomyces* a z mikroskopických hub např. *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* a další.

Pektinové látky se vyskytují v rostlinách, kde stmelují jednotlivá celulosová vlákna, ve formě pektocelulos a protopektinů nerozpustných ve vodě. Vlastní pektiny jsou makromolekulární heteropolysacharidy, které se skládají z α -galakturonových podjednotek, z nichž menší či větší část má karboxylovou skupinu esterifikovanou methanolem. Rozklad pektinů (pektinolýza) má následující průběh: působením extracelulárního enzymu **protopektinasy** jsou hydrolyzovány glykosidické vazby mezi celulosou a protopektinem za

uvolnění rozpustného pektinu. Enzym **pektasa** (pektinmethylesterasa) rozrušuje methylesterové vazby za vzniku volné kyseliny pektinové (polygalakturonové) a methanolu. Enzym **pektinasa** (polygalakturonasa) štěpí vazby mezi jednotkami kyseliny pektinové a uvolňuje se kyselina D-galakturonová. Jako produkt štěpení se hromadí směs kyseliny galakturonové a tetragalakturonové, pentosy, hexosy a methanol. Za **aerobních podmínek** jsou konečnými produkty oxidace CO₂ a voda. Za **anaerobních podmínek** vznikají kyseliny octová, máselná, v menší míře mravenčí a jantarová, dále vodík a CO₂. Mezi pektinolytické mikroorganismy patří např. bakterie *Erwinia carotovora* či plísně *Fusarium*, *Botrytis cinerea* aj. Tyto mikroorganismy bývají příčinou různých chorob rostlin.

Rozklad celulos a hemicelulos (pektinů) probíhá v půdě, v kompostech, kalech z odpadních vod, v předžaludcích přežvýkavců apod.

7.2.2.2 Rozklad škrobu

Škrob je zásobní polysacharid, který v přírodě najdeme ve formě škrobových zrn především v buňkách zásobních pletiv rostlin v hlízách, kořenech a semenech. Škrob se skládá ze dvou glukanů - amylosy a amylopektinu. **Amylosa** (15 – 30 % hmoty škrobu) je tvořena maltosovými jednotkami, které jsou vazbou 1-4 lineárně spojeny v dlouhé řetězce, helikálně svinuté. Je ve vodě rozpustná. **Amylopektin** je ve vodě nerozpustný a má větvenou strukturu: k větvení řetězce z maltosových jednotek dochází vytvářením vazeb 1-6 v průměru asi po 20 až 30 glukosových jednotkách. Rozklad škrobu je katalyzován enzymy **amylasami** (α -amylasa – dextrinotvorná a β -amylasa). Působením α -amylasy se amylosa štěpí na **dextriny** a teprve po delší době působení vzniká maltosa a isomaltosa. Ty jsou dobře rozpustné ve vodě a jsou snadno asimilovány mikrobní buňkou. Jejich další štěpení zajišťuje **α -glukosidasa**, která je rozštěpí na molekuly glukosy. Glukosa je **za aerobních podmínek** rozštěpena až na CO₂ a vodu. **V anaerobních podmínkách** se škrob rozkládá na kyselinu máselnou, mléčnou, ethanol a další produkty. Mikroorganismů, které dokáží rozkládat škroby je velké množství.

7.2.2.3 Rozklad tuků

Tuky jsou složitou **směsí esterů glycerolu a mastných kyselin**, z nichž nejběžnější jsou palmitová, stearová a olejová. Kvantitativně nejvýznamnější lipidy, které mohou být zdrojem uhlíku a energie jsou triglyceridy a fosfolipidy. Jejich utilizace začíná hydrolýzou **lipasami** na glycerol a mastné kyseliny. Glycerol vztupuje do glykolýzy přes 3-fosfoglyceraldehyd a je rozložen až na CO₂ a vodu. Mastné kyseliny jsou oxidovány přes

nenasycené mastné kyseliny a ketokyseliny na acetyl-CoA β -oxidací mastných kyselin. Vzniklý acetyl-CoA vstupuje za aerobních podmínek do citrátového cyklu. Vodík, který se uvolňuje β -oxidací a oxidací acetyl-CoA, přechází dýchacím řetězcem až na O_2 . **Oxidace mastných kyselin poskytuje buňce větší energetický zisk než oxidace sacharidů.** Za anaerobních podmínek zůstává velká část mastných kyselin volná v tuku, mikroorganismy je redukují na aldehydy a alkoholy. Schopnost rozkládat tuky není mezi mikroby nijak vzácná, vyskytuje se často u pseudomonád, bacilů, aktinomycet i mikromycet. Mikrobiální znehodnocení tuků se projevuje jako žluknutí, které je doprovázeno zápachem ze vznikajících ketonů. Původci jsou zejména plísně rodu *Penicillium*, *Aspergillus* a některé kvasinky. V jiných případech se jedná o žluknutí doprovázené uvolňováním nenasyčených mastných kyselin a nepříjemným zápachem (u živočišných tuků je označován tento proces jako lojovatění). Nežádoucím činitelem jsou v tomto případě některé kvasinky z rodu *Candida*.

7.2.2.4 Rozklad bílkovin

Štěpení bílkovin je katalyzováno extracelulárními enzymy **proteasami** a slouží mikroorganismům k získávání energie při následném odbourávání aminokyselin a pro vlastní proteosyntézu. Mikrobiální proteasy jsou co do účinku specifické a podle způsobu, jakým štěpí bílkoviny, jsou děleny na **endopeptidasy**, které rozrušují molekuly bílkovin uprostřed peptidových řetězců za vzniku kratších polypeptidových řetězců a **exopeptidasy**, které z polypeptidových řetězců odštěpují jednotlivé koncové aminokyseliny. Vzniká směs aminokyselin, které jsou asimilovány a dále odbourávány různými typy deaminací, dekarboxylací, případně jsou transaminovány. **Deaminace** je proces, při kterém se z aminokyselin odštěpuje aminoskupina za vzniku amoniaku. Jako vedlejší zplodiny se tvoří různé organické kyseliny, jež jsou dále metabolizovány. Z dalších produktů jsou to sirovodík, merkaptany, indol, skatol, fenoly a alkoholy. Za aerobních podmínek jsou zplodiny jednodušší a jsou tvořeny vodou, CO_2 , a amoniakem. Podle tvořícího se amoniaku jsou tyto procesy nazývány **amonizací**. **Dekarboxylace** je spojena s odštěpením karboxylové skupiny a vznikem CO_2 . Proces probíhá často za anaerobních podmínek. Produkty jsou pak například biogenní aminy jako tyramin, histamin a další. **Transaminace** je proces, kdy aminové skupiny určitých aminokyselin mohou být enzymaticky přenášeny na α -ketokyseliny za vzniku jiných aminokyselin. Těmito reakcemi se tvoří aminokyseliny, které mikroorganismy nemohou syntetizovat bezprostřední aminací za využití amoniaku.

Proces rozkladu bílkovin je v přírodě značně rozšířen a je průvodním jevem rozkladu organické hmoty, jak v pozitivním, tak negativním slova smyslu. Za anaerobních podmínek je

rozklad především živočišných zbytků provázen vznikem páchnoucích látek a bývá označován jako **hnití**. Rozklad rostlinného materiálu za aerobních podmínek bez vzniku páchnoucích látek se označuje jako **tlení**.

7.3 Anabolické procesy

Anabolické procesy nebo také procesy biosyntetické představují soubory reakcí, které spotřebovávají energii na vytváření složitých makromolekul a jejich podjednotek. Nejvýznamnější biosyntetické reakce jsou spojeny s tvorbou sacharidů, aminokyselin, bílkovin a nukleových kyselin.

7.3.1 Biosyntéza monosacharidů

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

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



Mnohé meziprodukty cyklu jsou využívány na syntézu buněčných složek. Fosfoglycerát je výchozí sloučeninou pro syntézu pyruvátu a acetyl-CoA, ribulosa-5-fosfát je využíván na syntézu nukleotidů a hexosofosfáty na tvorbu polymerů.

Heterotrofní mikroorganismy nedovedou syntetizovat monosacharidy de novo, ale jsou odkázány na jejich externí zdroje. Nejčastěji je získávají rozkladem polysacharidů. Výchozí látkou pro syntézu je pyruvát nebo jiné meziprodukty tvořící se v citrátovém cyklu, EMP dráze případně v jiných metabolických drahách. Biosyntéza di- a polysacharidů je

podmíněna aktivací sacharidových jednotek jejich převodem na makroergické deriváty. Vytváří se přitom uridinfosfoglukosa (UDP-glukosa). Ta se vyznačuje schopností přesunout UDP skupiny na jiný sacharid. Tvorba disacharidů je výsledkem reakce mezi UDP-hexosou a další jednotkou, která musí být fosforylována. Za odštěpení UDP se vytváří glykosidická vazba mezi dvěma sacharidy, z nichž jeden zůstává fosforylován a může reagovat s další molekulou aktivovaného sacharidu.

7.3.2 Biosyntéza aminokyselin

Biosyntéza vychází z metabolismu sacharidů, při jejichž odbourávání vznikají metabolity sloužící jako uhlíkatá kostra pro syntézu aminokyselin. Jsou to např. kyselina 3-fosfoglycerová, fosfoenolpyrohroznová, pyrohroznová z EMP dráhy, kyselina jantarová, ketoglutarová, fumarová, oxaloctová z citrátového cyklu, ribuloso-5-fosfát z pentosového cyklu. Aminací těchto meziproductů amoniakem vznikají základní aminokyseliny alanin, kyseliny glutamová a asparagová, které jsou výchozími metabolity pro syntézu dalších aminokyselin.

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

Biosyntetickým procesem je rovněž fixace vzdušného (molekulového) dusíku bakteriemi *Rhizobium* nebo *Azotobacter*. Biosyntézou vznikají i další mnohdy i technologicky významné látky patřící k sekundárním metabolitům, jsou to různá barviva, antibiotika nebo toxiny.

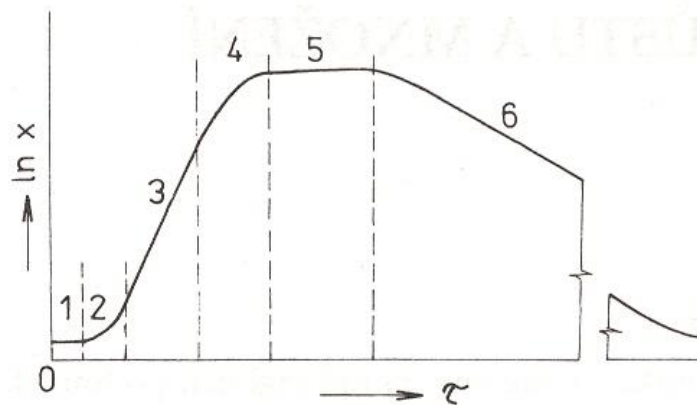
8 RŮST MIKROORGANISMŮ

Mikroorganismy se za optimálních podmínek rozmnožují obrovskou rychlostí. **Generační doba** (čas, za který se zdvojnásobí počet buněk) je u bakterií za optimálních podmínek asi 20 min. Za 48 h by tedy vzniklo asi $2,5 \times 10^{43}$ buněk, tj. asi 4000 násobek hmoty Země. Toho však nelze dosáhnout, protože dostupné živiny se postupně vyčerpají a

produkty metabolismu působí inhibičně na růst mikroorganismů. Podobnou rychlost rozmnožování mají v optimálních podmínkách také některé kvasinky, i když jejich průměrná rychlost růstu je pomalejší. Nejpomaleji rostou a rozmnožují se plísňe, které vytváří viditelné kolonie za několik dní.

8.1 Růstová křivka

Růst mikroorganismů za statických podmínek (tj. v uzavřeném systému) je charakterizován **růstovou křivkou**, která má sigmoidní tvar nebo tvar J, což je v podstatě neúplná sigmoida (viz Obr. 22). Po počáteční stagnaci nastává intenzivní nárůst mikroorganismů, který po vyvrcholení počíná klesat. Přírůstek ani úbytek mikroorganismů není rovnoměrný, v některých úsecích je rychlejší a v některých pomalejší. Tyto úseky vymezují na křivce **růstové fáze**.



Obrázek 22: **Růstová křivka**

τ - doba (h), $\ln x$ - počet živých buněk v 1 ml, 1 - lag fáze, 2 - fáze zrychlujícího se růstu, 3 - exponenciální fáze, 4 - fáze zpomalujícího se růstu, 5 - stacionární fáze, 6 - fáze odumírání (Šilhánková, 2002)

Lag fáze (přípravná - adaptační)

Buňky se prakticky nerozmnožují, zvětšuje se jejich objem a aktivuje se jejich enzymový systém. Jejich počet se může často snižovat odumíráním starších a méně životaschopných buněk. Délka této fáze je závislá na druhu mikroba, fyziologickém stavu buněk, velikosti inokula. Zkrácení této fáze lze dosáhnout optimálním množstvím inokula (5 - 10 % obj.) nejlépe v exponenciální fázi růstu a ze stejného média.

Fáze zrychleného růstu (akcelerační)

Mikroorganismy jsou přizpůsobeny podmínkám prostředí. Rychlost růstu převyšuje rychlost množení. Buňky jsou větší než v jiných fázích. Tato fáze je ovlivněna fyziologickým stavem inokula. Buňky jsou citlivé na změny prostředí.

Fáze exponenciální (logaritmická)

Je charakterizována intenzivním množением buněk, jejichž počet narůstá geometrickou řadou. Generační doba je nejkratší a během fáze se nemění. Metabolismus mikroorganismů je velmi aktivní, substrát je rychle vyčerpáván. Proces ještě není limitován nedostatkem živin. Úbytek odumíráním je v poměru k přírůstku minimální. Limitujícími faktory této fáze jsou především vlastnosti mikroorganismů, povaha prostředí a teplota kultivace. Přeneseme-li buňky v této fázi do nového kultivačního média o stejném složení, pokračují v množení se stejnou generační dobou bez zřejmé lag-fáze.

Fáze zpomaleného růstu (deklinační)

Postupné zpomalování rychlosti množení i celkového metabolismu mikroorganismů. Rychlost množení se zpomaluje, narůstá počet odumírajících buněk. Postupně se vyčerpávají živiny a hromadí se metabolity. Dochází rovněž ke změnám pH, redox potenciálu aj., jež působí na mikroorganismy nepříznivě.

Fáze stacionární

Vyrovňuje se počet odumírajících buněk s přirůstajícími. Rychlost množení je nulová. Koncentrace mikroorganismů je konstantní. Tvoří se endospory sporulujících mikroorganismů (*Bacillus*, *Clostridium*). Pro některé fermentace je tato fáze nejdůležitější, dochází k největší produkci žádaných metabolitů (sekundárních metabolitů). Dosažení maximální koncentrace mikroorganismů v této fázi závisí na současně působících faktorech: na koncentraci energetického a uhlíkatého zdroje, na koncentraci O₂ v médiu, zdrojích dusíku, stopových prvcích, růstových faktorech, pH atd. Limitující je především dodávka živin.

Fáze postupného odumírání

Úbytek buněk převládá čím dál více nad přírůstkem. Podmínky prostředí se zhoršují. Koncentrace živin je snížena pod kritickou hladinu, snižuje intenzitu metabolismu. Odbourávají se zásobní látky a nastává hromadné odumírání buněk.

8.2 Růst v tekutých živných médiích

V laboratorních podmínkách i v průmyslových provozech pěstujeme mikroorganismy (převážně bakterie) v **tekutých živných médiích**. Takovéto mikrobiální populace označujeme také jako **mikrobiální resp. bakteriální kultury**. Buňky se zde nachází rozptýlené

v tekutině, která je unáší, je-li sama v pohybu, některé bakterie se mohou v tekutině i aktivně pohybovat. Mikroorganismy se v podstatě nachází v **planktonním stavu**. Například nacházeli se modelová bakterie *E. coli* v optimálním tekutém živném médiu (živný bujon) pomnoží se za 18 h při 37 °C do koncentrace cca 10⁹ buněk/ml. Původně čiré tekuté živné médium je mléčně zakalené, slabě průsvitné a neprůhledné.

8.3 Růst na tuhých živných médiích

Mikroorganismy lze pěstovat rovněž na tuhých živných médiích (půdách) v laboratořích nejčastěji v Petriho miskách. Viditelná část populace mikroorganismů, která se vytvořila rozmnožením jediné nebo několika počátečních buněk na pevné půdě či jiném substrátu se nazývá **kolonie**. Mnoho druhů mikroorganismů vykazuje typickou morfologii svých kolonií, čehož se využívá k jejich předběžnému určení. Hodnotí se velikost, tvar, barva, povrch a okrajová část, produkce a uvolňování barviva do živné půdy, v případě plísní hodnotíme i vzhled spodní odvrácené části kolonie. Pokud kolonie vyroste na původním místě, kde byla naočkována, hovoříme o **primární kolonii**. **Sekundární kolonie** se mohou vytvářet na povrchu starých primárních kolonií. V případě plísní se mohou sekundární kolonie tvořit ze spor, které se vytvořily na primární kolonii, následně došlo k jejich uvolnění a vyklíčení.

Kolonie bakterií většinou nepředstavují homogenní útvar, ale uvnitř jsou různé dutinky a nepravidelné prostory. Vyvíjí se, jak již bylo řečeno z jediné nebo z několika asociovaných buněk (řetízek, diplokok apod.). Nejdříve se objevuje útvar mikroskopické velikosti zvaný **mikrokolonie**, který se dále zvětšuje v **makrokolonii**. Množením buněk se populace prostorově zahušťuje a buňky při okraji jsou vytlačovány do volné plochy. Pohyblivé bakterie putují po povrchu tuhého média a plazivým růstem se šíří do okolí koncentricky ve vlnách. Po morfologické stránce nemusejí být všechny buňky v kolonii stejného tvaru. V mnoha případech můžeme v kolonii pozorovat **morfologickou diferenciaci**. Potravinářsky významné bakterie vytváření viditelné kolonie za 24 až 72 h. Mladé kolonie jsou konvexní útvary, na povrchu hladké nebo drsné, většinou pravidelného tvaru. Kolonie bacilů a aktinomycet tvoří bizarní rozvětvené tvary. Po delší kultivaci, i vlivem lokálního vyčerpání živin mohou i pravidelné kolonie získat nepravidelný rozsochatý tvar. Pravidelný okrouhlý tvar kolonie je více méně artefaktem krátké kultivace v nadbytku živin v laboratorních podmínkách. Růst kolonie jako celku je omezený a její velikost je často typická pro určitý druh bakterie po stanovené době kultivace. K rozmnožování buněk uvnitř kolonií, a tím k růstu kolonií jako celku je nutná u aerobů přítomnost kyslíku, adekvátní

transport živin směrem k množícím se buňkám, eliminace škodlivých metabolitů, významnou roli hrají i další faktory (teplota, pH apod.).

Kolonie plísní, vyrostlé z jediné spory představují na rozdíl od kolonií bakterií jediné individuum. Dobře viditelné kolonie plísní se tvoří na potravinách a surovinách pro jejich výrobu a na dalších organických materiálech.

8.4 Biofilm

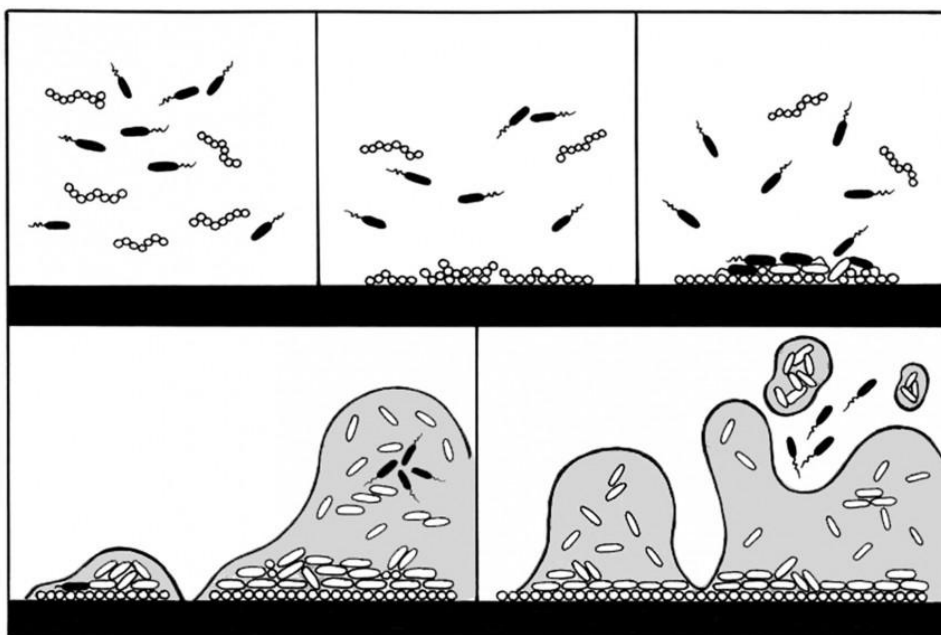
Biofilm je přisedlé multidruhové společenstvo mikroorganismů, charakterizované tím, že buňky, které jsou ireverzibilně přichycené k podkladu nebo jedna k druhé, jsou zapuštěné v matrici extracelulárních polymerních látek těmito buňkami produkováných, které dále vykazují odlišný fenotyp s ohledem na rychlost růstu a transkripci genů. Definice biofilmů se neustále vyvíjí.

Kromě přírodních prostředí (např. kameny ve vodě nebo zubní plak, který je nejdéle známým biofilmem v lidském těle) se biofilmy vyskytují i v mnoha humánních prostředích (nemocnice, potravinářské provozy apod.), kde způsobují četné problémy, protože znečišťují povrchy, na kterých se tvoří, případně je poškozují korozi, ale mohou být také zdrojem některých infekcí. Tvorba patogenních biofilmů byla prokázána u celé řady rodů bakterií např. *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Listeria*, *Staphylococcus*.

Genetické studie jednodruhových biofilmů ukázaly, že biofilmy se vytvářejí v několika krocích, které vyžadují mezibuněčnou signalizaci a vykazují celou řadu genetických transkripcí zcela odlišných od planktonních buněk.

Vznik a vývoj biofilmu lze popsat v několika krocích (viz Obr. 23):

- Transport a adsorpce organických molekul substrátu na povrch nosiče („conditioning“).
- Transport mikrobiálních buněk k povrchu nosiče, transformace těchto buněk z reverzibilní na ireverzibilní adsorpci; desorpce reverzibilně; růst ireverzibilně adsorbovaných buněk a eroze (odtrhávání) buněk.
- Zachycení mikroorganismů (v první fázi především bakterií) na povrchu, replikace přisedlých buněk a produkce extracelulární matrice a dalších metabolitů.
- Vývoj biofilmu na povrchu nosiče (odumírání některých buněk, kontinuální replikace dalších částí biofilmu).
- Odtrhávání a disperze buněk biofilmu zpět do kapaliny.



Obrázek 23: **Fáze vývoje biofilmu** (<http://ziva.avcr.cz/2012-3/mikrobiani-biofilmy-1-vsudypritomny-a-pritom-malo-znamy-fenomen.html>)

Vlastní zachycení buněk na povrchu je klíčový ale poměrně složitý proces. Probíhá ve dvou fázích: **reverzibilní adsorpce** a **ireverzibilní (permanentní) zachycení**, které jsou zprostředkovány třemi typy interakcí bakterií vůči okolí: **fyzikálními silami** (van der Waalsovy síly, hydrofobní interakce, elektrostatické interakce), **nespecifickými chemickými vazbami** (kovalentní polární vazby, vodíkové vazby) a **specifickými interakcemi** mezi bakteriálními receptory a receptory hostitele. Bakterie k adhezi používají specifické, povrchově aktivní molekuly, zvané **adheziny**, což mohou být látky různé povahy (bílkoviny, glykopeptidy, polysacharidy). Po přichycení se buňky začnou dělit a akumulovat a produkují **primární biofilm**, na který se mohou přichytávat a akumulovat další buňky tzv. **sekundárního biofilmu**. Počáteční tvorba biofilmu úzce souvisí s hydrofobicitou povrchu. Pro úvodní iniciální fázi adheze se zdá výhodnější hydrofobní povrch biomateriálů, přestože povrch většiny bakteriálních buněk je hydrofobní. Hydrofobní povrch obvykle napomáhá buňkám překonat počáteční elektrostatický odpor nosiče a adherovat se rychleji. Adhezi napomáhá také přítomnost fimbrií a bičíků. Byla prokázána mnohem rychlejší tvorba biofilmu např. na teflonu než na materiálech hydrofilní povahy typu sklo či kov.

Na vývoj biofilmů působí celá řada faktorů, z nichž nejdůležitější je povrch nosiče (drsny povrchy, póry apod. pozitivně ovlivňují tvorbu biofilmu) a podmínky okolního prostředí (v nutričně bohatém prostředí je tvorba rychlejší).

Biofilmy se v zásadě mohou vytvářet na třech typech povrchů:

- **Rozhraní pevné a vzdušné fáze** (mokrý povrchy, plicní infekce), živiny a vlhkost získává biofilm z pevné fáze a kyslík ze vzduchu. Výsledkem je vznik opačných gradientů živin a kyslíku v biofilmu.
- **Rozhraní inertní pevné a tekuté fáze** (potrubí, kloubní implantáty), živiny a kyslík jsou získávány z tekutého prostředí, gradient klesá s rostoucí hloubkou biofilmu.
- **Rozhraní pevné živné a tekuté fáze** (půdní prostředí, infekce měkkých tkání), živiny a kyslík mohou být získávány z pevné nebo tekuté fáze, výsledkem je vznik různých fyzikálně-chemických gradientů v mikrobiálním společenstvu biofilmu.

Po přichycení na povrch změní bakterie svůj fenotyp i chování a začnou produkovat velké množství polysacharidu. Vytváří se z něj **matrice**, která drží buňky pohromadě. Biofilm **nepředstavuje souvislé kontinuum hmoty** a není tedy homogenním útvarem či vrstvou. Naopak je to **systém heterogenní**, ve kterém se vytvářejí agregáty bakterií, tvořící **mikrokolonie** (shluky kuželovitého nebo houbovitého tvaru), nebo jiných mikroorganismů rozptýlené v matici, s kanálky a dutinkami naplněnými vodou, které jsou spojené s okolní tekutou fází. V biofilmech se chovají mikroorganismy většinou jinak než ve volném prostředí.

Podle dostupnosti živin v prostředí kolísá tloušťka biofilmu od několika μm do několika stovek μm nebo dokonce několika mm. Nejnižší hustota bývá uváděna jako 10 kg/m^3 .

Buňky biofilmu jsou vysoce rezistentní k antimikrobiálním látkám a desinfekčním prostředkům. Jsou až tisíckrát rezistentnější než buňky planktonní. Odolnost je vyjádřena fenotypově, nejde o rezistenci podmíněnou geneticky. V biofilmu se mezi buňkami přenášejí geny až tisíckrát úspěšněji než mezi buňkami planktonními. To podporuje přenos genů rezistence v populaci. Polysacharidová matrice také fyzicky ochraňuje buňky před protilátkami. Bakterie, které se uvolnily z biofilmu, bývají mnohem odolnější a disponují rezistencí vůči řadě běžných antimikrobiálních činidel.

Výskyt biofilmu v **potravinářství** je zcela běžný a je velmi obtížné dosáhnout jeho kompletní eliminace. Biofilm nabízí útočiště a chrání patogenní mikroorganismy (*Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*) a mikroorganismy technologicky škodlivé. Jeho přítomnost může vést k poškození zařízení, kontaminaci produktů, energetickým ztrátám a nebezpečí infekcí. **V pozitivním slova smyslu** na něj lze nahlížet jako na součást potraviny (sýry s mazovými kulturami), nebo jako na součást

nástroje, kterým je prováděna konverze suroviny v produkt (*Acetobacter aceti* na bukových hoblinách oxidující ethanol na kyselinu octovou).

V **lékařství** má tvorba biofilmu a zejména změna vlastností buněk rozhodující význam pro patogenezi některých **infekčních onemocnění**. Patogeny, které se usadí na sliznici nebo uvnitř tkáně způsobují endokarditidu (zánět srdeční), cystickou fibrózu, zánět dásní (periodontitida). Bakterie mohou rovněž vytvářet biofilm na pomůckách zaváděných do tělních dutin a tkání, jako jsou například katétry, kontaktní čočky, kloubní náhrady, nitroděložní tělíška, umělé srdeční chlopně.

9. ZÁKLADY EKOLOGIE MIKROORGANISMŮ

Termín **ekologie** poprvé použil německý biolog E. Haeckel v roce 1870. Slovo ekologie vzniklo z řeckých slov oikos = dům, obydlí a logos = slovo, nauka.

Ekologie mikroorganismů studuje působení faktorů vnějšího prostředí na mikroorganismy a také obráceně, vliv mikroorganismů na složky zevního prostředí. Mikroorganismy působí svou činností rozklad mnoha organických látek, vylučují toxické produkty, vstupují do různých vztahů k jiným organismům apod.

Mikrobiální ekosystém je tvořen společenstvem mikroorganismů a prostředím, které tyto mikroorganismy osidlují. Jejich stanoviště se nazývá **biotop** (z řeckého bios = život a topos = místo). Mikrobiální společenstvo je v daném ekosystému složkou biotickou, živou. Složkami resp. **faktory abiotickými** se rozumí souhrn fyzikálních a chemických podmínek konkrétního biotopu. Nejvýznamnější faktory, které působí na mikroorganismy, jsou **teplota, aktivita vody resp. relativní vlhkost, reakce prostředí – pH, oxidačně-redukční potenciál, hydrostatický tlak, osmotický tlak**. Vedle těchto faktorů působí na mikroorganismy také **faktory biotické**, kam zahrnujeme ekologické vztahy mezi mikroorganismy samotnými a vztahy mezi mikroorganismy a ostatními organismy tj. rostlinami a živočichy. Samostatnou skupinu pak tvoří **faktory antropogenní** představující vliv lidské činnosti na mikroorganismy.

Každý ekosystém je svým charakterem vždy **systémem dynamickým**, mezi společenstvem mikroorganismů a jejich biotopem vládne neustálá výměna látek a energie. Tato výměna je základní podmínkou existence každého ekosystému. Velikost mikrobiálních ekosystémů je různá. Ekosystém může být velký a obsáhlý, právě tak jako relativně velmi malý. Jako příklady ekosystémů lze uvést např. jezero, dutinu ústní, střevní trakt, povrch jednoho listu, konkrétní potravinu.

9.1 Významné faktory prostředí působící na mikroorganismy

Na životní činnost mikroorganismů působí celá řada faktorů prostředí. Aby se mikroorganismy mohly rozmnožovat, potřebují nejen **dostatečné množství živin a zdroje energie, ale i vhodné fyzikální, chemické a biologické podmínky**. Mikroorganismy jsou schopné přizpůsobit se změnám podmínek prostředí změnou svého enzymového vybavení, do jisté míry mohou změnit složení, velikost a tvar buněk, mohou měnit některé vlastnosti prostředí např. pH, mohou se pohybovat ke zdroji živin nebo od zdroje toxických látek. Schopnosti mikroorganismů jsou však limitované, překročí-li se určitá hranice (určitý bod) dojde k inhibici růstu nebo k usmrcení mikroorganismů.

Faktory prostředí můžeme rozdělovat podle různých hledisek, nejčastěji na fyzikální, chemické, biotické a antropogenní, jak bylo popsáno výše. Z pohledu potravinářského lze faktory rozdělit na **vnitřní faktory**, které jsou vlastní dané potravině popř. rostlinné nebo živočišné tkáni. Do této skupiny patří pH, aktivita vody, oxido-redukční potenciál, obsah živin, antibakteriální látky, biologická struktura a na **vnější faktory**, které ovlivňují jak potravinu, tak i přítomné mikroorganismy. K nejdůležitějším patří teplota, relativní vlhkost, přítomnost a koncentrace plynů.

9.1.1 Voda

Voda je nezbytnou složkou buněčné hmoty a tvoří u mikroorganismů 75 - 90 % jejich hmotnosti. Mikroorganismy potřebují vodu pro svou látkovou přeměnu. Snížení obsahu vody v buňce způsobuje zpomalení jejího metabolismu a růstu, případně úplné zastavení látkové přeměny a končí odumřením buňky.

Obsah vody v potravinách je značně proměnlivý (viz Tab. 5). Je v přímé souvislosti s chemickým složením potravinářských surovin, jejich zpracováním na finální produkty a se způsobem skladování hotových výrobků. Množství vody v potravinách respektive aktivita vody (viz Tab. 6) zásadně ovlivňuje charakteristické organoleptické vlastnosti potravin (texturu, vůni, chuť, barvu) a také jejich údržnost, odolnost vůči mikrobiálnímu ataku, enzymové (biochemické) reakce a neenzymové (chemické) reakce, ke kterým dochází během zpracování a při skladování.

Za míru využitelnosti vody pro mikroorganismy se zvolil pojem aktivita vody. **Aktivita vody 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.

Tabulka 5: **Obsah vody v některých potravinách** (Velíšek, 1999)

Potravina	Obsah vody v %
maso vepřové	30 - 72
maso hovězí	35 - 73
maso kuřecí	63 - 77
maso rybí	65 - 81
mléko kravské	87 - 91
sýry	30 - 78
vejce	74
máslo, margaríny	15 - 18
olej, sádlo	0 - 0,5
med, sirupy	20 - 40
cukr (sacharosa)	0 - 0,5
ovoce, džusy	81 - 94
zelenina	60 - 93
brambory	75 - 80
luštěniny	10 - 12
obiloviny	11 - 14
chléb	35 - 45
těstoviny	9 - 12
ořechy	3 - 6
pivo	90 - 96

U většiny potravin se obsah vody a tedy i její aktivita mění podle vlhkosti vzduchu okolního prostředí, respektive podle teploty a neustále dochází k sorpci nebo desorpci vody. Aktivita vody při konstantním obsahu vody v potravině roste se zvyšující se teplotou. Nárůst teploty o 10 °C způsobí nárůst aktivity vody v potravině o hodnotu 0,03 - 0,2 a to může mít kupříkladu negativní vliv na stabilitu balených potravin, u kterých je obsah vody v systému stálý. Vzhledem k tomu, že potraviny jsou velmi často složité mnohosložkové vícefázové systémy s různou termodynamikou jednotlivých fází, nemusí být aktivita vody v celém tomto systému stejná. Dosažení rovnovážného stavu např. sušením je pak poměrně dlouhodobý proces.

Tabulka 6: **Aktivita vody ve vybraných potravinách** (Velíšek, 1999)

Potravina	Aktivita vody
čerstvé maso, vejce, zelenina, ovoce	0,97 - 0,98
sýry, chléb	0,97
ovocné džemy	0,82 - 0,94
uzeniny	0,82 - 0,85
sušené ovoce	0,76 - 0,80
med	0,75
těstoviny	0,50
cukr	0,10

Voda obsažená v potravinách se dříve členila na vodu vázanou a vodu volnou, v současnosti se rozlišují tři kategorie vody v potravinách.

- **Voda vicinální** – v rozmezí a_w 0,0 - 0,2 a v množství 0 - 1 % z celkového obsahu vody. Jde o vodu velmi pevně vázanou, nacházející se v bezprostřední blízkosti molekul organických látek.
- **Voda vícevrstevná** – v rozmezí a_w 0,2 - 0,7 a v množství 1 - 5 % z celkového množství vody. Může tvořit další vrstvy kolem molekulární vrstvy vody.
- **Voda kondenzovaná** – v rozmezí a_w 0,7 - 1,0 v množství 90 - 96 % z celkového množství vody. Je to voda více či méně volná, vázaná fyzikální sorpcí (kapilárními silami).

Větší význam než obsah vody v potravine má však její dostupnost. Ta souvisí s interakcí vody se složkami potravin a pevností vazby vody vázané.

Optimální hodnota a_w je pro většinu mikroorganismů $a_w > 0,98$. Při snížení hodnoty a_w prostředím odnímáním vody (sušením, uzením), přidavkem soli, cukru či mražením se koncentrace mikroorganismy využitelné vody snižuje a jejich růst je částečně nebo úplně inhibován. Může nastat selekce mikrobiálních skupin, rodů a druhů. Odolnost vůči nízké hodnotě aktivity vody je všeobecně největší u plísní, menší u kvasinek ještě menší u bakterií grampozitivních a nejmenší u bakterií gramnegativních (viz Tab. 7).

Tabulka 7: **Minimální hodnoty a_w pro růst mikroorganismů** (Christian, 1980 In. Görner a Valík, 2004)

Interval minimálních hodnot a_w	Skupina mikroorganismů	Příklady	
		Min. hodnota a_w	Mikroorganismus (druh nebo rod)
0,97-0,95	bakterie (konkrétní rody a druhy)	0,97	<i>Pseudomonas</i> spp.
		0,96	<i>C. botulinum</i> typ E, <i>Acinetobacter</i>
		0,95	<i>Lactococcus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Shigella</i>
0,94-0,91	většina bakterií	0,94	<i>Salmonella</i> a jiné <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Microbacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Pediococcus</i>
		0,94	<i>Candida utilis</i>
0,94-0,87	kvasinky	0,88	Většina kvasinek způsobujících kažení potravin
		0,87	<i>Debariomyces</i>
		0,90	<i>Micrococcus</i>
0,90-0,86	grampozitivní koky	0,86	<i>Staphylococcus aureus</i>
		0,93	<i>Rhizopus nigricans</i>
0,93-0,80	plísňe	0,83	<i>Penicillium expansum</i>
		0,81	<i>Penicillium patulum</i>
		0,80	Většina plísňí kazících potraviny
		0,75	<i>Halobacterium halobium</i>
0,80-0,75(0,61)	halofilní bakterie	0,75	<i>Halobacterium halobium</i>
0,65-0,61	osmotolerantní/filní kvasinky	0,62	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>
0,78-0,61	xerotolerantní/filní plísňe	0,78	<i>Aspergillus flavus</i>
		0,77	<i>Aspergillus ochraceus</i>
		0,75	<i>Walemia sebi</i>
		0,70	<i>Aspergillus</i> ze skupiny <i>glaucus</i>
		0,71	<i>Eurotium chevalieri</i>
		0,69	<i>Chrysosporium fastidium</i>
		0,62	<i>Eurotium echinulatum</i>
		0,61	<i>Monascus bisporus</i>

Mikroorganismy adaptované na nízké hodnoty a_w označujeme jako **xerotolerantní** nebo **osmotolerantní** (tolerantní vůči vysokému osmotickému tlaku jsou např. kvasinky rodu *Zygosaccharomyces*) a nebo **halotolerantní** snášející vyšší koncentrace NaCl v prostředí (např. bakterie rodu *Micrococcus* a *Staphylococcus*, rozmnožující se i při 10 % koncentraci NaCl v prostředí).

Minimální hodnoty a_w , které mikroorganismy potřebují pro svůj růst a případnou tvorbu toxických sekundárních metabolitů, jsou do značné míry spoluurčovány i dalšími faktory prostředí např. hodnotou pH a teplotou.

Kromě mikrobiálních změn ovlivňuje aktivita vody v potravinách také **enzymové reakce**. Jedním ze základních předpokladů činnosti enzymů je jejich hydratace a vodné reakční prostředí. Aktivita enzymů je proto za jinak stejných okolností obecně tím větší, čím bohatším (a proto ve vnějších vrstvách volnějším) obalem vodných molekul jsou obklopeny jejich bílkovinné micely a čím více se blíží k optimu podíl volné vody v jejich prostředí. Snížením a_w tedy dochází nejen k zastavení činnosti mikroorganismů, ale i ke snížení či úplné inaktivaci enzymů.

Relativní vlhkost prostředí je důležitá jak z hlediska a_w uvnitř potraviny, tak i z hlediska růstu mikroorganismů na jejím povrchu. Tak při a_w potraviny 0,60 je důležité ji skladovat v prostředí s relativní vlhkostí, která nedovolí zvýšení a_w do takové výše, aby došlo k pomnožení mikroorganismů. Důležitou roli hraje skladovací teplota. Všeobecně platí, že **čím vyšší je teplota, tím nižší musí být relativní vlhkost** a naopak. Potraviny, které podléhají povrchové hnilobě, musí být skladovány v podmínkách s nízkou relativní vlhkostí.

9.1.2 Koncentrace vodíkových iontů – pH

pH je záporný dekadický logaritmus koncentrace vodíkových iontů. Koncentrace vodíkových iontů v prostředí se vyjadřuje ve stupnici pH od 0 do 14. Růst i biochemickou činnost mikroorganismů výrazně ovlivňuje koncentrace vodíkových iontů v prostředí. Každý mikrobiální druh, aby se mohl rozmnožovat, potřebuje určité rozmezí pH (viz Tab. 8). Rozmezí pro optimální růst většiny bakterií a kvasinek je poměrně úzké, zatím co u plísní je podstatně širší.

Vnější pH ovlivňuje také regulační procesy metabolismu a vede ke změně poměru hlavních produktů. Vnitřní prostředí buňky je velmi dobře tlumeno a v souvislosti se změnou pH prostředí se mění poměrně málo. Vodíkový kationt ani hydroxylový aniont nemohou volně difundovat přes cytoplazmatickou membránu a z buňky nebo do buňky se dostávají pouze prostřednictvím vratného aktivního transportu. Proto tyto ionty ovlivňují především aktivitu extracelulárních enzymů a funkce cytoplazmatické membrány, tj. především mechanismy transportu látek.

Mikroorganismy, které se dobře rozmnožují v kyselém prostředí, označujeme jako **acidofilní** (optimální pH 1 - 5). Do této skupiny patří i druhy, které tvoří jako hlavní produkty svého metabolismu kyseliny mléčnou, octovou apod. Při nízkém pH se ovšem přestávají

rozmnožovat a postupně ustává i jejich metabolická činnost. **Fakultativně acidofilní** mikroorganismy jsou schopny se rozmnožovat i při neutrálním pH. Jako **obligátní acidofily** pak označujeme mikroby rostoucí optimálně kolem pH 3 i méně. **Neutrofilní** mikroorganismy mají optimální pH v rozmezí 5 - 9. Do této skupiny patří většina mikroorganismů včetně patogenů. **Alkalofilní** mikroorganismy rostou dobře v zásaditém prostředí, optimální pH je v rozmezí 7 - 11. Mezi **alkalotolerantní** mikroorganismy patří i proteolytické mikroby např. *Proteus*. Mezi bakterie snášející extrémní pH patří střevní bakterie, neboť musí přežít velmi nízké pH žaludečních šťáv i alkalické pH žluči.

Minimální hodnota pH je pro **většinu bakterií** (mnohé bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae*, druhy rodu *Bacillus* aj.), jež se účastní kažení potravin 4,4 až 4,6. Toxinogenní a patogenní bakterie např. *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus* a *Pseudomonas aeruginosa* jsou citlivější vůči nižšímu pH. Naopak některé druhy laktobacilů mají optimum mezi pH 5,5 až 6,0 a úměrně k tomu je i hodnota minimálního pH. Maximální hodnoty pH pro většinu bakterií, kvasinek a plísňových kvasnic se pohybují mezi 8 až 9. Maximální hodnota pro laktobacily je podstatně nižší jen 7,2.

Kvasinky vyžadují pro růst kyselého prostředí, optimální pH se pohybuje mezi 4,2 – 5,5, již slabě alkalické prostředí kolem 7,5 zastavuje jejich růst. V neustojném prostředí si však rychle upravují pH prostředí směrem k optimální hodnotě. Optimální pH většiny **plísňů** je poblíž neutrálního bodu, avšak plísně mohou růst v podstatně širším rozmezí pH (1,2 – 11). V silně kyselém prostředí se rozmnožují především druhy produkující organické kyseliny např. *Aspergillus niger* a další aspergily a některá penicilia.

Tolerance mikroorganismů vůči nízkým hodnotám pH v potravinách závisí i na dalších faktorech, které je mohou ovlivňovat. V první řadě jde o vliv jednotlivých složek potravin, snížení nebo naopak zvýšení a_w , zásobení kyslíkem a v neposlední řadě i procesy výroby a skladování.

Tabulka 8: **Minimální a maximální hodnoty pH pro růst mikroorganismů** (Corlett et Brown, 1980, upraveno, in Görner et Valík, 2004)

Mikroorganismus	Minimální pH	Maximální pH	Tolerance vůči kyselosti
<i>Micrococcus</i> sp.	5,6	8,1	Malá tolerance $\text{pH}_{\text{min}} > 5,0$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,6	8,0	
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	5,2	9,2	
<i>Clostridium botulinum</i> typ E	5,0 - 5,2	-	Střední tolerance $\text{pH}_{\text{min}} 5,0-4,0$
<i>Clostridium sporogenes</i>	5,0	9,0	
<i>Bacillus cereus</i>	4,9	9,3	
<i>Listeria monocytogenes</i>	4,5	9,0	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4,8	11,0	
<i>Clostridium botulinum</i> typ A, B	4,5	8,5	
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,0	9,8	
Salmonely	4,0 - 4,5	8,0 - 9,6	
<i>Escherichia coli</i>	4,4	9,0	
<i>Proteus vulgaris</i>	4,4	9,2	
<i>Lactococcus lactis</i>	4,3 - 4,8	9,2	
Bakterie mléčného kvašení			Značná tolerance $\text{pH}_{\text{min}} < 4,0$
<i>Lactobacillus</i> spp.	3,8 - 4,4	7,2	
Bakterie octového kvašení			
<i>Acetobacter acidophilus</i>	2,6	6,3	
Kvasinky			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,3	8,6	
Plísně			
<i>Penicillium italicum</i>	1,9	9,3	
<i>Aspergillus oryzae</i>	1,6	9,3	

Z důležitých mikrobiologických a konzervačních důvodů je účelné rozlišovat potraviny vysloveně **kyselé** (technologicky kyselé), **málo kyselé** a **zcela nekyselé**. Do první skupiny řadíme všechny potraviny, jejichž šťáva má pH nižší než 4,0, do druhé potraviny, jejichž kyselost se pohybuje v rozmezí pH 4,0 - 6,5 a do třetí skupiny potraviny, jejichž pH je vyšší než 6,5 (viz Tab. 9).

Tabulka 9: **Intervaly hodnot pH různých skupin potravin** (Corlett et Brown, 1980, in Görner et Valík, 2004, upraveno)

Interval pH	Potravina	Hodnota PH
Alkalický pH > 7,0	Vaječný bílek	až 9,6
Neutrální pH 7,0 - 6,5	Mléko	6,7 - 6,5
	Povrch sýrů zrajících pod mazem	7,0 - 6,8
	Drůbež	
Slabě kyselé pH 6,5 - 5,3	Ryby	6,6 - 5,7
	Zralé ryby	5,9 - 5,5
	Maso	5,8 - 5,4
	Bílý chléb	6,0 - 5,0
	Mnohé druhy zeleniny	6,6 - 5,7
Středně kyselé pH 5,3 - 4,5	Mladé sýry	
	Mnohé konzervy v plechu nebo ve skle	5,3 - 4,7
Kyselé pH 4,5 - 3,7	Kysaná zelenina	4,5 - 3,5
	Kyselá mléka, jogurt	4,2 - 3,8
	Mnohé druhy ovoce	4,5 - 3,5
Velmi kyselé pH < 3,7	Kysané zelí	3,7 - 3,1
	Jablka, švestky, citrony	3,5 - 3,3; 3,0 - 2,8; 2,4 - 2,2

pH prostředí ovlivňuje také odolnost buněk ke zvýšeným teplotám. Odolnost k vysokým teplotám je tím menší, čím větší je odchylka od optimálního pH, to platí pro vegetativní buňky i pro spory. Kyselé pH zabraňuje klíčení spor bakterií rodu *Bacillus*, *Clostridium* a *Desulfotomaculum*. Kyselé potraviny o pH nižším než 4,0 (kompoty, šťavy, zelenina v kyselém nálevu) se sterilují teplotami pod 100 °C, neboť přeživší spory nemohou vyklíčit.

9.1.3 Teplota

Teplota vnějšího prostředí je jedním z hlavních faktorů, které ovlivňují rychlost rozmnožování mikroorganismů a jejich metabolismus.

Pro jednotlivé mikroorganismy lze stanovit tři základní teplotní body - minimální teplotu, optimální teplotu a maximální teplotu. **Minimální teplota** je nejnižší teplota, při které se mikroorganismus rozmnožuje ještě zjizitelnou rychlostí. **Optimální teplota** je pro daný mikroorganismus nejvýhodnější, množí se při ní nejvyšší rychlostí. Optimální teplota pro růst mikroorganismů se nemusí shodovat s optimální teplotou pro ostatní životní procesy. **Maximální teplota** je taková, při níž je mikroorganismus schopen se ještě množit.

Minimální teplota růstu je určena tím enzymem, jehož aktivita je nejcitlivější k nízkým teplotám. V teplotním rozmezí mezi minimální a optimální teplotou se zvyšuje se stoupající teplotou rychlost všech procesů v buňce, a tedy i rychlost rozmnožování. Při teplotách blízkých se maximální teplotě se již začíná uplatňovat vliv denaturace bílkovin na některé enzymy. Při maximální teplotě růstu je teplotní destrukce bílkovin tak velká, že růst ustává. U prokaryotních mikroorganismů se maximální teplota obvykle pohybuje v oblasti vyšších hodnot (45 až 70 °C, výjimečně i více) než u mikroorganismů eukaryotních (38 - 55 °C). Mezi průměrnou minimální teplotou a průměrnou optimální teplotou je průměrný rozdíl asi 22 °C a mezi průměrnou optimální a průměrnou maximální teplotou je průměrný rozdíl jen 6,5 °C. Podle toho mikroorganismy lépe snášejí teploty suboptimální než hyperoptimální. Podle nároků na teplotu lze mikroorganismy rozdělit do tří základních skupin na psychrofilní, mezofilní a termofilní (viz Tab. 10).

Tabulka 10: **Rozdělení mikroorganismů podle jejich teplotních nároků** (Görner et Valík, 2004, upraveno)

Skupina	Teplota [°C]		
	minimální	optimální	maximální
Psychrofilní	-5 až +5	12 až 15	15 až 20
Psychrotrofní	-5 až +5	25 až 30	30 až 35
Mezofilní	+5 až 15	30 až 40	35 až 47
Termofilní	40 až 45	55 až 75	60 až 90

Psychrofilní mikroorganismy - většinou k nim patří nepatogenní mikroorganismy chladných oceánských a jezerních vod a zmrzlých půd. Kažení potravin se účastní jen v zřídka případech. Z potravinářského hlediska jsou důležité tzv. **psychrotrofní mikroorganismy**, tj. takové, které se rozmnožují ještě dosti rychle při teplotách 0 °C až +10 °C bez ohledu na jejich optimální teplotu. V podstatě jde o mikroorganismy s růstovým optimem v mezofilní oblasti. Patří sem zejména zástupci rodu *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Enterococcus*, *Serratia*, dále například *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* a *Clostridium botulinum* typ E. **Extrémně psychrotrofní** jsou kvasinky, některé kmeny mohou růst až po -10 °C, podobně i některé plísně. Některé zastaví růst úplně, až když v potravine vymrzne všechna voda, tj. při teplotách -20 °C až -30 °C. Mezi kvasinkami se psychrotrofností vyznačují zejména rody *Candida*, *Hansenula*, *Saccharomyces* a *Rhodotorula*; u plísní jsou to rody *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Botrytis* a jiné.

Mezofilní mikroorganismy – tato skupina zahrnuje většinu druhů mikroorganismů včetně významných patogenů. Z potravinářsky významných bakterií sem patří zejména zástupci čeledě *Enterobacteriaceae*, rody *Bacillus*, *Clostridium* (*Clostridium botulinum* typ A a B, *Clostridium perfringens*), *Micrococcus*, *Salmonella*, dále zástupci rodu *Staphylococcus* včetně *Staphylococcus aureus* a většina bakterií mléčného kvašení. Jejich teplotní minimum je mezi +5 až +15 °C, proto při konsekvantním dodržování chladírenských teplot při skladování potravin se nerozmnožují a potraviny se jejich působením nekaží.

Termofilní mikroorganismy – poměrně malá skupina, do které patří i některé potravinářsky významné mikroorganismy. Jde především a zástupce rodu *Geobacillus* (*G. stearothermophilus* dříve *Bacillus stearothermophilus*), *Clostridium* např. *Clostridium thermosaccharolyticum* a některé zástupce rodu *Lactobacillus* (*Lbc. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* a *Lbc. delbrueckii* ssp. *delbrueckii*). Vyznačují se mimořádně vysokou metabolickou aktivitou a rychlostí růstu za optimální teploty; vysoká metabolická aktivita při těchto teplotách je výsledkem odlišného složení bílkovinných složek jejich enzymů, neboť optimální teplota většiny izolovaných enzymů se pohybuje v rozmezí optimálních teplot růstu. Některé enzymy termofilních bakterií jsou však u neporušených buněk aktivnější při vyšších teplotách, než když jsou extrahovány z rozdrcených buněk, což svědčí o ochranných účincích některých složek buňky vůči vysokým teplotám. Sporotvorné bakterie (především rody *Bacillus* a *Clostridium*) mohou přežít vysoké teploty ve formě endospor.

Mikroorganismy mající růstové optimum v mezofilní oblasti, ale snášející i poměrně vysoké teploty, řadíme do skupiny **termotolerantních mikroorganismů**. Do této skupiny patří i některé druhy rodů *Bacillus* a *Clostridium* a některé plísňe.

Jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňujících **termorezistenci** je obsah vody v prostředí i buňkách, neboť v suchém prostředí jsou mikroorganismy mnohem rezistentnější k vysokým teplotám než v prostředí vlhkém. K látkám působícím ochranně patří především lipidy, bílkoviny a vyšší koncentrace sacharidů. Termorezistenci vegetativních buněk i spor silně ovlivňuje pH prostředí; obecně můžeme říci, že termorezistence je nejvyšší, je-li pH optimální pro růst daného mikroorganismu. Nízké teploty přežívá většina mikroorganismů poměrně dlouho. U některých mikroorganismů může docházet k tzv. **teplotnímu šoku**, jsou-li intenzivně se množící buňky přeneseny z optimálních teplot do prostředí s teplotou blízkou se 0 °C, což se projeví ztrátou životnosti většiny populace. Ani zmrazení potravin neusmrtí všechny mikroorganismy, dochází pouze k zastavení jejich činnosti. Rozmražené potraviny podléhají velmi rychle mikrobiálnímu kažení, protože buňky potraviny jsou porušeny ledovými krystalky. Rychlým zmrazením na teploty -30 až -190 °C se usmrtí jen malý podíl mikrobiálních populací, protože se vytvoří jen mikrokrystalky ledu, které nemají škodlivé účinky. Při cíleném uchovávání kultur mikroorganismů patří k osvědčeným postupům právě rychlé zmrazení buněk suspendovaných v roztoku peptonu nebo bílkovin s následnou sublimací vody. Takto připravené **lyofilizované kultury** mají životnost několik let.

9.1.4 Přístup vzduchu a jeho složení

Podle nároků na vzdušný kyslík můžeme mikroorganismy rozdělit do několika skupin:

Aerobní mikroorganismy (obligátní, striktní aeroby) jsou mikroorganismy, které vyžadují ke svému růstu kyslík. energii získávají aerobní respirací nebo oxidací anorganických sloučenin. Patří sem např. bakterie rodu *Pseudomonas*, *Acetobacter*, *Vibrio*, *Mycobacterium*, mikroskopické houby.

Striktně (obligátně) anaerobní mikroorganismy rostou jen za nepřítomnosti vzdušného kyslíku, který je pro ně toxický. energii získávají fermentací nebo anaerobní respirací. Patří sem např. bakterie rodu *Clostridium* a *Desulfotomaculum*. **Aerotolerantní anaeroby** snášejí přítomnost kyslíku, ale kyslík není při získávání energie konečným příjemcem elektronů. Patří sem např. *Clostridium perfringens*.

Fakultativně (příležitostně) anaerobní mikroorganismy mohou růst v přítomnosti i v nepřítomnosti vzdušného kyslíku. Přítomnost kyslíku indukuje změnu metabolismu z fermentatorního na respiratorní. V aerobních podmínkách se rychleji rozmnožují díky

většímu energetickému zisku. Patří sem zástupci kvasinek např. *Saccharomyces cerevisiae*, z bakterií např. bakterie mléčného kvašení *Lactococcus*, *Leuconostoc*, atd., *E. coli* aj.

Mikroaerofilní mikroorganismy jsou mikroorganismy, které mohou využívat O₂ jako konečný akceptor elektronů i tehdy, když je v růstovém prostředí koncentrace kyslíku nižší (asi 10 x), než ve vzduchu (21 %). Je to proto, že mají omezenou schopnost dýchání nebo že obsahují enzymy labilní vzhledem ke koncentraci kyslíku. Patří sem např. *Campylobacter* a bakterie mléčného kvašení rodu *Lactobacillus*.

Přítomnost plynů v prostředí se využívá při balení a skladování potravin v řízené atmosféře. Používá se kombinace plynů CO₂ a O₂ nebo N₂ (poměr plynů 15 - 20 : 80 - 85 %). Prostředí řízené atmosféry brání růstu aerobních mikroorganismů. Dominantní mikroflórou se stávají fakultativně anaerobní bakterie. Skladování potravin balených v ochranné atmosféře nebo vakuově balených při chladírenských podmínkách prodlužuje jejich dobu údržnosti.

9.1.5 Oxidoredukční potenciál

Mírou tendence určité látky odevzdávat elektrony je její **redoxní potenciál**. Závisí na pH, atmosférickém tlaku kyslíku a přístupu vzduchu v potravině. Vlastní mechanismus působení redoxpotenciálu spočívá v regulaci funkcí některých enzymů.

Oxidoredukční potenciál se mění v průběhu technologického zpracování a skladování za přispění přítomných mikroorganismů. Hodnota Eh je závislá na poměru oxidovaných a redukovaných látek. Poměr těchto látek je v potravině výrazně ovlivňován přidávkem látek s redukční schopností (např. kyseliny askorbové) a růstem aerobních mikroorganismů. Tepelně neošetřené mléko má hodnoty Eh +200 až +300 mV (nejčastěji ale +230 až +250 mV) u tepelně ošetřeného mléka jsou hodnoty Eh sníženy až na +120mV. U zralých sýrů se Eh pohybuje v rozmezí -20 až -200 mV. Redox potenciál masa klesá po zabíjení z asi +250 mV až na -200 mV, což umožňuje růst anaerobním popř. fakultativně anaerobním mikroorganismům. Hodnota mletého masa je +200 mV. Ovocné a zeleninové šťávy mají hodnoty Eh +300 až +400 mV, na jejich kažení se tedy podílí především aerobní mikroorganismy včetně plísní a kvasinek.

Aerobní mikroorganismy vyžadují vysoký Eh např. *Pseudomonas fluorescens* od +100 do +500 mV. Aerobní mikroorganismy mohou snížit redoxpotenciál k tak nízkým hodnotám, které umožní množení anaerobů. Fakultativně anaerobní mikroorganismy jsou tolerantní k pozitivním i negativním hodnotám. Příkladem je *Staphylococcus aureus*, který se množí při -200 do +200 mV a výše, přičemž optimum pro tvorbu toxinu je +200 mV. Anaerobní bakterie např. rod *Clostridium* vyžadují Eh -300 mV.

9.1.6 Hydrostatický tlak

Mikroorganismy se většinou rozmnožují za normálního atmosférického tlaku. Zvýšením tlaku na 10 až 20 MPa se obvykle rozmnožování zpomaluje a při tlaku 30 až 40 MPa se rozmnožování většiny mikroorganismů zastaví. Některé bakterie jsou ovšem schopny se rozmnožovat i při tlaku 60 a více MPa, který je na dně oceánů. Jde o tzv. **barofilní** nebo **barotolerantní mikroorganismy**. Pro usmrcení mikroorganismů je potřeba vysokého tlaku okolo 600 až 700 MPa, přičemž doba jeho působení se uvádí v rozmezí několika minut až hodin. Spory bacilů neusmrtí ani hodinové působení tlaku 1700 MPa. Tlak několika desítek MPa ale indukuje klíčení spor, které jsou potom usmrceny teplotou 55 až 65 °C.

9.1.7 Záření

Elektromagnetické vlnění různých vlnových délek se značně liší svým fyziologickým účinkem na mikroorganismy. Vlnění o nejdelších délkách (**IR - infračervené záření a Hertzovy vlny**) sama o sobě pravděpodobně smrtící účinek nemají, působí pouze tepelnými účinky. **Viditelné světlo** (380 - 760 nm) a někdy i část IR záření (800 - 900 nm) se uplatňují spíše jako zdroj energie fototrofů. Viditelné světlo ale ovlivňuje v pozitivním i negativním smyslu aktivitu řady mikroorganismů. Řada bakterií se lépe rozmnožuje za tmy, některé plísně lépe sporulují za světla. Sporangia některých plísní se obrací ke zdroji světla, jde o tzv. **fototropismus**. Viditelné světlo zvyšuje citlivost mikroorganismů k nepříznivým účinkům některých barviv např. methylenové modři. Jde o **fotodynamický účinek**, ke kterému je nutná přítomnost kyslíku.

UV záření má silné mutagenní a letální účinky. Hlavní příčina účinku UV záření je tvorba kovalentní vazby mezi sousedními pyrimidiny nukleových kyselin. Největší účinky má záření o vlnové délce 265 nm. Vlnové délky germicidních lamp se pohybují obvykle v oblasti 210 - 310 nm. Pronikavost UV záření je velmi malá, proto se používá na sterilizaci vzduchu, povrchů předmětů, pracovních ploch, vody apod. Účinnost se snižuje intenzivním osvětlením viditelným světlem (360 – 500 nm) buď současně s UV, nebo krátce po něm (do tří hodin po ozáření), umožňuje se tak **fotoreparace** (fotoreaktivace), tj. enzymové rozštěpení pyrimidinových dimerů. Kromě přímého účinku na nukleové kyseliny působí UV záření také tvorbou toxických peroxidů a ozonu. Mikroorganismy se liší odolností vůči UV záření, odolné jsou spory bacilů a klostridií, ještě odolnější jsou bakterie a kvasinky obsahující karotenoidní barviva a černě zbarvené spory plísní.

Záření o vlnové délce kratší než 10 nm (**Roentgenovo záření, γ -záření a kosmické záření**) mají silné mutagenní i letální účinky. Účinek je vyvolán přímým působením na citlivé

molekuly (především DNA) a prostřednictvím volných radikálů a oxiranů, které vznikají v důsledku těchto záření na buňku a její okolí. Účinnost je však ovlivněna vnějšími podmínkami: přítomností vzdušného kyslíku (zvyšuje citlivost), silně redukující sloučeniny jako např. kyselina askorbová působí ochranně. Také zmrazené a vysušené prostředí působí ochranně, především tím, že je omezen nebo znemožněn vznik radikálů vody. Nízké dávky ionizujícího záření se používají v potravinářství k ošetření potravin.

9.1.8. Antimikrobiální látky

Některé látky mají díky svému specifickému chemickému složení nepříznivý vliv na mikroorganismy. Pokud tyto **antimikrobiální** látky pouze zastavují rozmnožování mikroorganismů, označují se jako **mikrobistatické (bakteriostatické, fungistatické)**, pokud mikroorganismy usmrcují, označují se jako **mikrobicidní (baktericidní, fungicidní)**. Některé látky působí v nízkých koncentracích mikrobistaticky a ve vyšších mikrobicidně. Po chemické stránce jde o látky velmi rozmanité. Podle mechanismu účinku je můžeme rozdělit do několika základních skupin:

- Látky poškozující strukturu buňky (buněčnou stěnu, cytoplazmatickou membránu, ribozomy atd.) nebo její funkci.
- Látky působící na mikrobiální enzymy.
- Látky reagující s DNA.

Ke sloučeninám poškozujícím buněčnou stěnu patří u bakterií antibiotikum penicilin, u mikroskopických hub polyenová antibiotika produkovaná streptomycetami. Cytoplazmatickou membránu poškozují rozpouštědla tuků (aceton, chloroform), anionaktivní tenzidy (mýdla) atd. Na bílkoviny působí formaldehyd, silná oxidační (H_2O_2) a redukční činidla (SO_2), enzymy poškozují i ionty těžkých kovů, oxidační činidla a mnoho dalších sloučenin, poškození DNA působí mutageny, jako jsou silná alkylační činidla, deaminační činidla, některá antibiotika. Mezi nejčastější antimikrobiální ochranné prostředky používané v potravinářství patří sodné a vápenaté soli kyseliny propionové, benzoan sodný, kyselina sorbová a její soli.

9.1.9 Některé další faktory působící na mikroorganismy a jejich metabolickou aktivitu

Růst, rozmnožování a metabolickou aktivitu mikroorganismů v potravinách ovlivňuje celá řada dalších činitelů, například aditiva přidávaná do potravin s cílem buď podpořit rozvoj a aktivitu žádoucí mikroflóry nebo naopak omezit, nebo dokonce vyloučit nežádoucí mikroorganismy z prostředí potravin. Příkladem takových aditiv mohou být mimo jiné sacharosa a jiné sacharidy, siřičitan sodný, glukono- δ -lakton (GDL) či dusitan sodný.

Ačkoliv jsou primárně používány jako kořenící a chuťové agens v potravinách, mnoho koření má významnou antimikrobiální aktivitu. Obecně jsou koření méně efektivní v potravinách než v živných médiích. Grampozitivní bakterie jsou citlivější než gramnegativní, bakterie mléčného kvašení jsou odolnější než ostatní grampozitivní bakterie.

U většiny potravin působí několik faktorů současně. Mohou být stejné intenzity nebo, což je reálnější, nestejně intenzity. **Pro mikrobiální stabilitu a zdravotní nezávadnost potravin je rozhodující komplexní působení faktorů.** Dochází totiž k sumarizačnímu efektu nadlimitních hodnot faktorů. Podle tohoto principu mohou být faktory nastaveny tak, aby vznikl stabilní výrobek.

9.2 Komunikace bakterií – quorum sensing

Quorum znamená nejnižší počet účastníků zasedání, jako podmínka k tomu aby bylo úspěšné. Termín **quorum sensing** (detekce nebo zjištění kvoru) je v současné době používán v souvislosti s **komunikací** bakteriálních buněk. Bakterie používají quorum sensing ke **společné regulaci různých situací**, jako je například tvorba biofilmu, produkce toxinů, exopolysacharidů, faktorů virulence nebo koordinace pohybu. Lze uvést, že quorum sensing je regulací exprese příslušných genů jako odezva na kolísání denzity bakteriálních buněk. Quorum sensing je vlastně **druhem rozhodovacího procesu** směřujícího ke koordinaci chování členů určité populace.

Bakterie syntetizují a uvolňují do prostředí chemické signální molekuly tzv. **autoinduktory** (feromony), jejichž koncentrace v prostředí je funkcí buněčné denzity. Autoinduktory se váží na specifické **receptory** přítomné na povrchu sousední buňky. Detekce hraniční (prahové) koncentrace bakteriálními buňkami vede pak ke změně exprese odpovědných genů. Před určitou činností, např. patologickým působením, musí bakterie dosáhnout tzv. kritické (minimální) koncentrace, aby jejich aktivita byla úspěšná. Právě této minimální hranici či minimálnímu počtu bakterií (kvótě) se říká **quorum**. Bakterie si toto quorum musí sdělit specifickou komunikací zvanou **sensing** (detekce, vnímání, z lat. sensus = smysl, vjem), která je zprostředkována chemickými signály. Nejběžnějšími signálními

molekulami jsou u gramnegativních bakterií **oligopeptidy** a u grampozitivních bakterií **laktony N-acylhomoserinu**. Teprve potom nastává větší syntéza autoinduktorů, jež aktivují expresi genů vedoucích např. k syntéze určitých patogenních faktorů nebo substancí.

S koordinovaným chováním populace bakterií se můžeme setkat u tzv. světélkujících (bioluminiscenčních) bakterií v mořích např. *Vibrio fischeri*. Dalším příkladem může být *Pseudomonas aeruginosa* používající quorum sensing k tvorbě biofilmu nebo produkci exopolysacharidů a agregaci buněk. *Pseudomonas* může žít s makroorganismem (hostitelem) bez jeho zjevného poškození. Po dosažení quora (minimální koncentrace) je jejich počet dostatečný k překonání imunitního systému hostitele a nastává tvorba biofilmu vedoucího k onemocnění.

9.3 Základní ekologické vztahy mezi mikroorganismy

Mikroorganismy se v přírodě i v jiném prostředí např. v potravinách vyskytují v čistých kulturách jen vzácně. Nejčastěji mikroorganismy tvoří společenstva různých rodů a druhů tzv. **biocenózy**, jejichž složení je závislé na složení živin a ostatních látek prostředí a na daných podmínkách. V těchto společenstvech se mezi mikroorganismy vytváří různé vzájemné vztahy. V podstatě může jít o několik variant vztahů mezi dvěma druhy mikroorganismů, z nichž mohou být některé pro daného mikroba prospěšné, jiné mohou působit negativně, případně nemusí být mikrob ovlivněn vůbec. Protože se ale v prostředí vyskytuje najednou mnohem více druhů mikroorganismů, jsou skutečné vztahy daleko složitější.

Neutralita je vztah relativní, protože mezi druhy jakkoliv vývojově nebo ekologicky vzdálenými existují vícestupňové vazby v rámci biogeosystému. Na omezeném prostoru si tento vztah lze představit mezi mikroorganismy s odlišným typem metabolismu, mikroorganismy od sebe prostorově vzdálenými, či mezi sporama.

Komenzalizmus (spolustolovníctví) je interakce čili soužití dvou i více druhů mikroorganismů, z nichž komenzál (komenzalický mikroorganismus) má ze soužití prospěch, ale druhý není vztahem poškozen ani ovlivněn. Komenzalizmus může spočívat v tom, že jedna mikrobiální populace upravuje prostředí v průběhu svého růstu a metabolismu tak, že druhá z toho má užitek. Např. spotřeba kyslíku umožní růst anaerobům, produkce vitaminů a jiných růstových látek umožní růst auxotrofům apod.

Metabióza (sukcese) je **výměna mikrobiálních společenstev** v časové posloupnosti na jednom a tomtéž substrátu. Jedno mikrobiální společenstvo připravuje svou činností např. produkcí metabolitů, či vhodným pH, podmínky pro růst následujícího společenstva.

Zjednodušeně lze říci, že produkty metabolismu jedněch mikroorganismů jsou využívány dalšími mikroorganismy. Například cukerné roztoky mohou být kvasinkami fermentovány na alkohol, který může být, dojde-li ke kontaminaci bakteriemi rodu *Acetobacter* za aerobních podmínek dále oxidován na kyselinu octovou. Metabióza umožňuje rychlou mineralizaci organických látek v přírodě a tím i koloběh prvků.

Synergismus (součinnost, spolupůsobení) označuje situaci, kdy určité kmeny nebo druhy mikroorganismů rostou lépe společně než odděleně a jednotlivě. Obě populace mají ze soužití prospěch. Jde o asociaci či sdružení nezávazné, kdy obě populace jsou schopny samostatného života nezávisle jedna na druhé ve svém přirozeném prostředí. Příkladem může být degradace cyklohexanu populacemi mikroorganismů rodu *Nocardia* a *Pseudomonas*. Nocardie zásobují pseudomonády degradačními produkty cyklohexanu a pseudomonády nocardie zase biotinem.

Syntrofismus je jednou z forem synergismu, kdy jeden druh mikroorganismu vytváří určitý vitamin, aminokyselinu nebo jiný nutriční faktor, který je nutný či prospěšný pro život a rozmnožování druhého mikroorganismu a naopak. **Dva druhy mikroorganismů si vzájemně pomáhají syntézou nezbytných růstových faktorů.**

Symbióza je vzájemný vztah čili koexistence (soužití) dvou i více organismů. Často se tento pojem využívá v užším smyslu k vystižení vztahu prospěšného pro oba jedince, také se označuje termínem mutualistická symbióza či mutualismus. Příkladem může být vztah mezi ***Azotobacter chroococcum* a celulolytickými bakteriemi**, kdy celulolytické bakterie rozkládají celulosu na glukosu, která je zdrojem energie a uhlíku pro *Azotobacter*, který nedokáže celulosu využít. *Azotobacter* fixuje N_2 a po autolýze buněk obohacuje prostředí o dusík, který využívají celulolytické bakterie. Tento vztah existuje i mezi bakteriemi mléčného kvašení a kvasinkami v **kefírovém zrně**. Mléčné bakterie rozkládají laktosu na glukosu a galaktosu, které kvasinky využívají jako zdroj uhlíku a energie. Kvasinky zase produkují vitaminy skupiny B, které využívají mléčné bakterie.

Kompetice (konkurence) je soupeření o podíl na faktorech (především živiny), které jsou na určitém místě k dispozici. Jde o interaktivní asociace mezi dvěma druhy mikroorganismů (kompetitory). Oba totiž potřebují k existenci stejnou živinu i shodný prostor, ale daná živina je v prostředí jen v omezeném množství. Kompetice je ovlivněna rychlostí růstu a agresivitou organismů. Rozeznáváme kompetici mezidruhovou a vnitrodruhovou. V daném společenství kompetice způsobuje eliminaci méně životaschopných organismů a selekci vitálních, redukuje hustotu jedinců v populacích a může působit při vzniku nových druhů (tzv. speciaci).

Antibióza (antagonismus, amenzalismus) je vztah dvou mikroorganismů, v němž vždy dochází k inhibici. Pokud jsou inhibovány oba, hovoříme o **reciproční antibiíze**. Pokud je inhibován pouze jeden mikroorganismus jedná se o **unilaterální antibiízu**. Jde o častý vztah, který je způsoben rychlým využitím určitých živin, změnou fyzikálně-chemických vlastností (pH, oxidačně-redukčního potenciálu), nahromaděním produktů metabolismu (např. H₂O₂, H₂S, ethanol, antibiotika, organické kyseliny, bakteriociny, bakteriální toxiny nebo mykotoxiny). Například bakterie mléčného kvašení jsou silnými antagonisty hnilobných bakterií, na které působí především poklesem pH vlivem vyprodukovaných kyselin.

Parazitismus je vztah kdy určitý mikroorganismus (parazit) využívá vnitrobuněčných meziproductů metabolismu jiného mikroorganismu (hostitel) a tím jej oslabuje nebo ničí. Rozeznáváme **ektoparazity** žijící na povrchu hostitele a **endoparazity** žijící uvnitř hostitelského organismu. Jde o vztah poměrně vzácný, který se vyskytuje u některých plísní. Např. některá penicilia mohou parazitovat na konidiích *Aspergillus niger* při výrobě kyseliny octové a snižovat její výtěžek (nejde o striktní parazitismus, protože penicilia mohou růst také saprofyticky). Některé saprofytické plísňe (např. *Trichoderma harzianum*) parazitují na patogenních plísních (např. *Fusarium oxysporum* a *Botrytis cinerea*). Tento vztah se jmenuje **mykoparazitismus** a může mít význam v ochraně rostlin. *Bdellovibrio bacteriovorus* parazituje na povrchu gramnegativních bakterií. Za striktní (obligátní) parazity lze považovat bakteriofágy a mykoviry. Mnohem častější je parazitismus mikroorganismů na rostlinách nebo živočiších.

Predace je vztah lovce (predátor) a kořisti, kdy kořist je predátorem zkonzumována. Na mikroskopické úrovni vystupují jako predátoři vůči bakteriím např. myxobakterie, prvoci (protozoa) a některé plísňe. Například bičíkovec rodu *Ochromonas* stravuje nejen celé bakterie, ale také kvasinky i jiné řasy. Rovněž pro nálevníky jsou bakterie důležitým zdrojem výživy.

9.4 Vztahy mezi mikroorganismy a rostlinou

Mikroorganismy se vyskytují na všech nadzemních i podzemních částech rostlin. Mezi nimi a rostlinou se mohou vytvářet různé typy vztahů. Znalosti o těchto vztazích se uplatňují při pěstování rostlin a jejich potravinářském zpracování. Z tohoto hlediska má význam především tzv. **fyloférní (epifytní) mikroflóra**, tj. mikroorganismy vyskytující se na nadzemních částech rostlin. Jejich průměrné počty se pohybují ve stovkách až tisících na jeden gram sušiny rostliny. Vyšší počty mikroorganismů se nacházejí na plodech. Složení a počty fyloférních mikroorganismů jsou ovlivňovány především druhem rostliny, jejími

metabolity, najdeme zde rovněž mnoho druhů mikroorganismů tvořících mikroflóru vzduchu. Fylosférní mikroorganismy dovedou metabolizovat jednoduché uhlíkaté a dusíkaté látky, vyskytují se zde fixátoři dusíku. Součástí fylosférní mikroflóry jsou i fytopatogenní mikroorganismy a příležitostní parazité. Vyskytují se zde ale i mikroorganismy, které potlačují činnost patogenů, např. *Pseudomonas fluorescens*. Činnosti některých mikroorganismů přítomných ve fylosféře můžeme využít při konzervaci zeleniny. Jedná se o bakterie mléčného kvašení.

Podstatně více mikroorganismů se nachází na kořenech rostlin a v jejich bezprostřední blízkosti v tzv. **rhizosféře**. Tyto mikroorganismy se označují jako rhizosférní a jejich počty se v průměru pohybují v milionech až desítkách miliard na jeden gram kořenů či půdy. Počty mikroorganismů v rhizosféře bývají obvykle podstatně vyšší než počty mikroorganismů v půdě bez kořenů. **Rhizosférní mikroorganismy** v mnoha směrech ovlivňují růst a zdraví rostlin a kvalitu rostlinných produktů. Mikroorganismy v rhizosféře produkují celou řadu biologicky aktivních látek, např. vitaminů, které stimulují růst rostlin a podporují jejich zdraví. Plísně vyskytující se v rhizosféře mohou svými toxiny potlačovat škodlivé bakterie, např. *Trichoderma viride* produkuje antibiotikum viridin. Naopak některé plísně produkují mykotoxiny, které se mohou dostat z půdy až do plodů, jak to bylo zjištěno u patulinu produkovaného plísní *Penicillium claviforme*. Tato plíseň se často vyskytuje v rhizosféře jabloní pěstovaných v sadech, kde se používá mnoho pesticidů.

V rhizosféře se ustavují také symbiotické vztahy mezi mikroorganismy a kořeny rostlin. Ze zemědělského hlediska jsou významné především dva typy symbiózy, a to symbióza bobovitých rostlin s bakteriemi rodu *Rhizobium* a *Bradyrhizobium* a mykorhiza, tj. symbióza půdních mikroskopických hub (např. rod. *Glomus*) s kořeny rostlin.

Symbióza bobovitých rostlin s bakteriemi rodu *Rhizobium*. Podstatou této symbiózy je, že bakterie poutají vzdušný dusík (redukují vzdušný N_2 nedostupný pro rostliny na NH_3 , který rostliny využijí), rostliny bakteriím poskytují zdroj energie (produkty fotosyntézy), aby fixaci dusíku mohly uskutečnit. Rhizobia infikují bobovité rostliny tak, že penetrují dovnitř kořenových vlásků a tam vytvářejí infekční vlákno, jež pak migruje dále směrem do cytoplazmy buněk jemných kořínků, kde vznikají ztlustlé buňky nepravidelného tvaru v podobě písmene Y, X, T apod. označované jako bakteroidy. Na kořínkách se tvoří nádorky - hlízky (odtud také označení hlízkové bakterie) vyplněné těmito bakteriemi. Bakteroidy se již nemnoží, ale fixují vzdušný dusík. Rhizobia přítomná volně v půdě dusík sama nefixují. Množství dusíku touto symbiózou fixované dosahuje u bobovitých rostlin cca 30 - 340 kg/ha za rok. To znamená, že tyto rostliny není třeba hnojit minerálním dusíkem.

Znamená to nejen ekonomickou úsporu, ale také zdravější produkt (luštěniny z organického zemědělství). V agrotechnice lze využít preparáty, které obsahují tyto bakterie a dodat je do půdy.

Termínem **mykorhiza** (z řeckého *mycés* – houby, *rhizó* – kořen) označujeme specifický symbiotický vztah, který se utváří mezi kořeny vyšších rostlin a půdními houbami. Tento vztah je většinou symbiotický; pokud ale jeden z partnerů získá převahu, může se změnit na parazitický.

Mykorhizní houby pocházejí především ze třídy *Basidiomycetes*, *Ascomycetes* a *Zygomycetes*. Jejich rozvoj v kořenech rostlin je omezen pouze na rhizodermis a primární kořenovou kůru.

Je to vztah v přírodě velmi rozšířený, najdeme ho u 90 % všech cévnatých rostlin. Ze zemědělských plodin se mykorhiza netvoří u brukvovitých rostlin (čeleď *Brassicaceae*). Symbióza spočívá v tom, že houba získává od rostliny sacharidy jako zdroj energie a současně zvětšuje celkovou absorpční plochu (kapacitu) kořenů rostliny. Houby tedy zlepšují výživu rostlin (především fosforem), chrání rostlinu před některými stresovými faktory (nedostatek vody, patogeny, toxické sloučeniny), produkcí určitých látek podporují růst rostlin. Rozeznáváme tři základní typy mykorhizy:

- **Ektotrofní mykorhiza** při níž houba na kořincích vytváří obal z hyf, které mohou velmi mělce pronikat do kořínků, omezují se však jen na mezibuněčné prostory. Houbový plášť zabraňuje tvorbě kořenových vlásků, avšak mnohonásobně zvětšuje aktivní povrch kořenů. Rostlina přijímá vodu a živiny pomocí houbových hyf. Vyskytuje se u jehličnanů, buku, dubu, břízy a dalších dřevin.
- **Endotrofní mykorhiza** nevytváří houbový plášť a funkce kořenových vlásků je zachována. U zemědělských plodin se vyskytuje tzv. **vezikulo-arbuskulární mykorhiza** (VAM). Vlákná hub pronikají do buněk nebo mezibuněčných prostor kořínků, kde tvoří **měchýřky (vezikuly)**, které mají zásobní funkci anebo keříčkovité útvary **arbuskuly**, představující metabolicky aktivní orgán houby umožňující oboustranný přenos živin. Tento typ mykorhizy je značně rozšířen u prakticky významných druhů rostlin (např. hrách, soja, jahodník, vinná réva, jablono).
- **Ektoendotrofní mykorhiza** je přechodný typ, kdy na povrchu kořínků je vytvořen houbový plášť, ale hyfy současně pronikají do kořínků. Vytváří se u semenáčků jehličnanů.

V zemědělské praxi lze využít preparáty s mykorhizními houbami resp. jejich spory, kterými se obalují semena nebo se aplikují do půdy či ke kořenům.

9.5 Vztahy mezi mikroorganismy a živočichy

Rovněž u živočichů se vytváří důležité vztahy s mikroorganismy. Existence každého živočicha je spjata a existencí a látkovou výměnou mikrobiálního společenstva, které se utváří bezprostředně po narození, v průběhu života podléhá různým změnám a nakonec se podílí i na rozkladu jeho těla.

Obrovské počty druhově pestré mikroflóry najdeme u člověka a zvířat v trávicím traktu. Zatímco dutina ústní, slepé a tlusté střevo jsou mikroorganismy bohatě osídleny, tenké střevo jich obsahuje málo a žaludek ještě méně.

Význam mikroorganismů v trávicím traktu člověka spočívá v tom, že se stávají součástí obranných mechanismů. Znemožňují škodlivým mikroorganismům osídlit trávicí trakt. Syntetizují také důležité vitaminy (B₆, B₁₂, K aj.). Na oplátku od makroorganismu přijímají živiny.

Trávicí trakt můžeme rozdělit na tři histologicky odlišné oblasti – sliznici žaludku, tenkého a tlustého střeva. **Gastrointestinální trakt (GIT)** má nejčetnější mikrobiální osídlení ze všech částí lidského těla.

V dutině ústní, kterou začíná trávicí soustava, se nachází velmi bohatá mikroflóra, jejíž složení i množství je individuální. Převládají zde mikroorganismy se sacharolytickou schopností, převládá však štěpení jednoduchých cukrů nad štěpením škrobů. Mění se v průběhu dne, s věkem, stravou, kvalitou a hygienou chrupu. Běžně se vyskytují streptokoky (na sliznici tváře *Streptococcus salivarius* a na povrchu zubní skloviny *Streptococcus mutans*, u 20 – 40 % osob se v hrdle nachází *Streptococcus pneumoniae*), neisserie (*Neisseria meningitidis*), laktobacily, korynebakterie, někdy hemofily (*Haemophilus influenzae*), stafylokoky, enterobakterie i některé viry (např. adenoviry).

V žaludku se uplatňuje především výrazně kyselé prostředí dané HCl. Žaludeční šťáva si udržuje baktericidní aktivitu při pH 4 a nižším. Není však pochyb o tom, že acidorezistentní mikroorganismy mohou procházet žaludkem do dalších částí zažívacího traktu. Při zvýšení pH žaludeční šťávy narůstá počet bakterií v žaludku – normální nález se pohybuje kolem 10⁴ bakterií v jednom mililitru. Jde převážně o mikroflóru z hltanu, jejíž množství při poklesu kyselosti žaludeční šťávy vzrůstá. Může se vyskytnout *Helicobacter pylori* způsobující žaludeční vředy.

Dvanáctník a tenké střevo obsahují jen velmi malá množství mikroorganismů. Je to způsobeno peristaltikou a žlučí. Distálním směrem mikroflóry přibývá a na konci tenkého střeva dosahuje až 10⁸. Jde především o enterobakterie, enterokoky a laktobacily.

Tlusté střevo je bohaté na mikroflóru a obsahuje až 10^{11} bakterií na gram stolice. Více než 90 % tvoří anaerobní mikroorganismy (např. bifidobakterie, klostridia, peptostreptokoky atd.) z fakultativně anaerobních bakterií jsou to bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae*, především *E. coli*, která tvoří asi 1 % ze všech mikroorganismů v tlustém střevě. Dále jsou to enterokoky (*Enterococcus faecalis* a *E. faecium*) a stafylokoky. Jiné druhy se nalézají ojediněle a jejich vyšší výskyt je známkou dysmikrobie, obvykle při podávání antibiotik. Jejich vlivem dochází k porušení kolonizace normální mikroflóry, což podporuje množení patogenních druhů.

U přežvýkavců nacházíme vysoké počty mikroorganismů v bachoru, kde zajišťují trávení rostlinných krmiv, především celulosy (savci nemají příslušné enzymy). **Bachor skotu** funguje v podstatě jako fermentor o objemu cca 100 l. Je zde optimální prostředí pro růst a činnost striktně anaerobních bakterií: pH 5,5 – 7,0, stálá vyšší teplota (39 °C) a redoxpotenciál v rozmezí -360 mV až -420 mV.

Počet bakterií v 1 ml bachorové tekutiny dosahuje 10^{10} – 10^{11} , tj. až stovky miliard. Kromě bakterií hostí bachor ještě značný počet prvoků: ti se bakteriemi živí a tím vytvářejí pozitivní tlak na jejich rozmnožování. Počty bakterií se proto v bachorové tekutině příliš nemění. Mezi bakteriemi převládají **celulolytické**, přítomny jsou však i bakterie rozkládající jiné rostlinné polysacharidy (hemicelulosy). Produktem rozkladu za anaerobních podmínek jsou **organické kyseliny** (mj. propionová, máselná, octová) a **plyny** (CO_2 , methan). Organické kyseliny se dostávají přes stěnu bachoru do krevního řečiště a zapojují se do metabolismu zvířete (jsou především zdrojem energie). Kromě toho bakterie v bachoru syntetizují vitaminy, mj. vitamin K a vitaminy řady B, které příznivě ovlivňují zdravotní stav zvířete.

Uvádí se, že v bachoru se nachází jeden z nejkompletnějších mikrobiálních ekosystémů, v němž se pozitivně uplatňují vztahy jak uvnitř společenstva mikroorganismů, tak vztahy mezi mikroorganismy a hostitelem.

10 GENETIKA MIKROORGANISMŮ

Mikroorganismy se řídí stejnými zákony dědičnosti jako vyšší organismy, avšak v některých vlastnostech se od nich odlišují. Liší se především **větší proměnlivostí**, která je způsobena hlavně tím, že většina mikroorganismů se vegetativně rozmnožuje v haploidní fázi, zatímco tělo vyšších organismů se skládá z diploidních buněk a haploidní jádro mají jen gamety. Proto se u mikroorganismů projevují i recesivní změny genetického materiálu, které se u diploidní buňky nemohou projevit. Kromě toho velmi **krátká generační doba**

mikroorganismů vede k rychlé selekci některých mutantů mající za následek pronikavou změnu velkých populací.

Dědičnost a řízená proměnlivost mikroorganismů má dnes v praxi široké uplatnění, neboť se získávají **mutanty a hybridy**, které jsou z průmyslového hlediska mnohem vhodnější než původně využívané kmeny, nebo dokonce otevírají možnosti využití nových technologií. Negativní dopad změny genetického materiálu mikroorganismů se v praxi projevuje selekcí mutantů **rezistentních** k antibiotikům, desinfekčním látkám či selekcí mutantů s nevhodnými technologickými vlastnostmi.

Nositelem dědičnosti mikroorganismů a některých virů je dvouřetězcová DNA. Genetická informace je dána přesným pořadím purinových a pyrimidinových bazí v genetickém materiálu. Ke změně genetické informace dochází mutacemi a výměnou genetického materiálu mezi buňkami. (Následující text vychází z publikací Šilhánková, 2002 a Cempírková et al. 1997)

10.1 Mutace

Náhodné změny genotypu nazýváme **mutace**. U mikroorganismů rozeznáváme **spontánní (samovolné) mutace**, které vznikají bez známých vnějších příčin jako důsledek náhodných chyb při replikaci DNA. Pravděpodobnost jejich výskytu je nízká. Druhým typem jsou **indukované mutace**, které vznikly po působení chemického nebo fyzikálního mutagenu na DNA. Podle rozsahu změny genetického materiálu dělíme mutace na **genové, chromozomové a genomové**.

Genové (bodové) mutace

Většinou se mění **jediná baze** dvouřetězcové DNA, ale při její replikaci se proti změněné bazi napojí její příslušná párovací baze a tak dojde **ke změně páru bazí**. Bodové mutace mají několik podob. **Tranzice** je výměna jedné purinové baze za jinou a výměna jedné pyrimidinové baze za jinou. **Transverze** je výměna jedné purinové baze za pyrimidinovou a naopak. Mutageny jsou analogy purinových a pyrimidinových bazí, alkylační činidla, hydroxylamin. Dalšími typy mutací jsou **inzerce** - vsunutí nové baze a **delece** - ztráta jedné baze z řetězce DNA. Fenotypovým projevem je tzv. **mutace beze smyslu (nonsens-mutace)**, objeví se kodon, který nekoduje aminokyselinu a syntéza bílkoviny se přeruší, vznikne jen krátký peptidový řetězec. U mutace s **chybným smyslem (missense-mutace)** vzniklé tranzicí nebo transverzí se tvoří bílkovina, lišící se od standardní bílkoviny jedinou aminokyselinou, ale obvykle mívá zachovanou původní aktivitu.

Chromozomové mutace

Jsou provázené změnou několika genů, které vzniknou zlomem chromozomu, nebo chromozomů a chybným znovuspojením. Řadíme sem **koncové deficiencie, interkalární delece, inverze, translokace, duplikace** atd. Vyskytují se jen u eukaryot. Působí rušivě při meioze, kdy vznikají spory. Mutagenem je rentgenové nebo γ záření.

Genomové mutace

Spočívají ve změně počtu chromozomů. Početní změny celistvých chromozomových sad se označují jako **polyploidie**. V jádře je až 6 sad chromozomů. Setkáváme se s ní u kvasinek. Jako **aneuploidie** se označuje ztráta nebo nadbytečná přítomnost některých jednotlivých chromozomů v jaderné sadě. Genomové mutace vznikají u eukaryot **působením mitotických jedů** během mitozy diploidních jader.

Podle funkce genů, které byly mutací poškozeny rozezáváme:

- **Morfologické mutanty** – např. mutanty tvořící výrazně protáhlé buňky, nebo mající změněný vzhled kolonií.
- **Fyziologické mutanty** – např. změna citlivosti k antibiotikům, teplotě, rezistence k desinfekčním prostředkům, ztráta schopnosti sporulace atd.
- **Biochemické mutanty** – např. výživové (auxotrofní) mutanty, které ztratily schopnost syntetizovat určitou aminokyselinu, vitamin atd. a vyžadují ji jako růstový faktor.

V podstatě jsou morfologické a fyziologické mutanty **mutanty biochemickými**, protože jejich nový fenotyp je výsledkem určité změny metabolismu.

10.2 Změny genotypu způsobené výměnou genetického materiálu

Změna genotypu je taktéž způsobena výměnou genetického materiálu při tzv. rekombinacích, k nimž dochází při pohlavním rozmnožování, při parasexuálních procesech, přenosem genetického materiálu pomocí speciálních vektorů, velmi vzácně při mitotickém dělení jádra.

10.2.1 Pohlavní rozmnožování jako zdroj změn genetického materiálu

Pohlavní rozmnožování je obrovským zdrojem proměnlivosti mikroorganismů, neboť při křížení dvou jedinců, jenž se liší ve dvou genech, vznikají spory se čtyřmi různými genotypy. Při křížení dvou jedinců, jenž se liší třemi geny, vzniká osm různých genotypů. Náhodným spájením vzniklých spor nebo jejich vegetativního potomstva se opět tvoří různé kombinace, z nichž jen jedna má stejný genotyp jako původní hybrid. Aby však mohly

rekombinanty vzniknout, musí křížící se kmeny obsahovat zmutované geny, což znamená, že již předtím muselo dojít k mutaci a selekci mutantů. **Křížení (hybridizace)** se používá při charakterizaci mutantů, při šlechtění průmyslových kmenů kvasinek.

10.2.2 Parasexuální cyklus mikroskopických hub

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

10.2.3 Rekombinace bakterií

U bakterií mohou rekombinace vzniknout **konjugací, transformací** nebo **transdukci**.

Konjugace čili spájení buněk bakterií, při kterém dochází k jednosměrnému přechodu genetického materiálu z jedné buňky do druhé. Konjugace umožňuje získat ze dvou kmenů bakterie jedince, kteří obsahují některé geny jednoho rodiče a jiné druhého rodiče, čehož se využívá při šlechtění bakteriálních kmenů. Při konjugaci se odvine jeden řetězec DNA z chromozomu **donorové buňky** označované F^+ , protože obsahuje **konjugativní plazmid F-faktor**, a přechází do **recipientní buňky** F^- (neobsahuje F-faktor). Vedle chromozomální DNA přechází do F^- buňky při konjugaci také F-faktor a buňka se mění na F^+ , která může konjugovat s další F^- buňkou.

Transformace je proces, při kterém nedochází ke kontaktu buněk, ale přenos genů se uskutečňuje prostřednictvím chemicky izolované DNA nebo jejích úseků. Ty se přichytí na buněčnou stěnu přijímající buňky, aktivně pronikají do buňky a rekombinují se s DNA přijímající buňky. Transformace se využívá při genových manipulacích v genovém inženýrství.

Transdukce je přenesení jednoho až tří genů z jedné bakteriální buňky do druhé prostřednictvím bakteriofága. Fág musí být schopen přejít z virulentní fáze, v níž se rozloží genom donorové buňky do mírné fáze, ve které infikuje recipientní buňku a současně jí předá část genomu donorové buňky. Jsou popisovány tři typy transdukce **generální** (obecná),

abortivní (přenesená část chromozomu se nazabuduje do chromozomu recipientní buňky a nereplikuje se, je ovlivněna jen recipientní buňka, vlastnosti se nedědí), **specializovaná** (přenos pouze určitých genů).

10.2.4 Fúze protoplastů

Možností jak lze získat nové hybridy a rekombinanty je fúze protoplastů. Využíváme ji u mikroorganismů, u kterých není možné spájení buněk pohlavním nebo parasexuálním způsobem. Tento způsob **nelze použít u gramnegativních buněk**, jelikož nelze získat pravé protoplasty bez zbytků buněčné stěny. Z grampozitivních bakterií se připravují protoplasty enzymatickou hydrolýzou polysacharidů buněčné stěny. K hydrolýze se používá lysozym, enzym z trávicího traktu slimáků nebo speciální bakteriální či houbové enzymy.

10.3 Extrachromozomální (mimochromozomální) dědičnost mikroorganismů

Geny, které jsou součástí mimojaderné čili **plazmidové DNA bakterií** nebo **kvasinek**, nebo **mitochondriální DNA kvasinek a mikromycet** ovládají některé vlastnosti mikroorganismů. Pro extrachromozomální geny je charakteristické, že ovládají **vlastnosti, které nejsou pro život buňky nezbytně nutné** a někdy mohou být i závislé na chromozomech. Za určitých podmínek se mohou stát součástí chromozomu (jak je tomu u bakterií) nebo mohou být pod částečnou kontrolou genů jádra (jak je tomu u mitochondriální dědičnosti eukaryotických mikroorganismů).

Bakteriální plazmidy jsou např. **F-faktor**, jenž nese geny nutné pro konjugaci a geny ovládající syntézu a tvar fimbrií, další konjugační faktor je **RTF-faktor** (resistance transfer factor, faktor přenosu rezistence) přenášející rezistenci k antibiotikům nebo desinfekčním prostředkům, skládá se ze sedmi genů a je součástí **R-faktoru**, který kromě RTF části nese ještě jednotlivé geny, zodpovědné za rezistenci k jednotlivým antibiotikům. Přenáší rezistenci nejen mezi kmeny téhož druhu ale i mezi příbuznými rody. Některé geny jsou schopny migrovat z jednoho plazmidu do druhého a z plazmidu do chromozomu a naopak. Označujeme je jako **transpozomy** („skákající geny“) replikují se jako součást chromozomů nebo plazmidu. Další jsou např. **bakteriocinové plazmidy** nesoucí informaci pro syntézu bakteriocinů, **plazmidy virulence** umožňující bakteriím úspěšně kolonizovat hostitelský organismus, **plazmidy degradační** umožňující bakteriím degradovat některé neobvyklé substance. Lze konstruovat **umělé plazmidy** v rámci genového inženýrství. Plazmidy byly objeveny i u některých kvasinek, např. u *Saccharomyces cerevisiae* se nazývá **2 μ DNA**

(podle délky molekuly DNA) a používá se v genovém inženýrství podobně jako **1,6 μ m DNA** u rodu *Kluyveromyces*.

Mitochondriální dědičnost je nejvíce prostudována u kvasinek. Hlavními znaky jsou **mitotické segregace a nemendelovské segregční proměny při meioze**. Příčinou je fakt, že mitochondrie i mitochondriální DNA (mtDNA) se vyskytují v haploidní buňce v několika kopiích. Nejčastější mutací je ztráta schopnosti dýchání čili schopnosti spotřebovávat plynný kyslík a využívat necukerné zdroje energie (ethanol, laktát, glycerol). Mutanty získávají energii pouze fermentací cukrů, množí se pomalu a tvoří malé kolonie nazývané petity (petit francouzsky. = malý). Jedná se o deleční mutanty, jimž chybí úsek mtDNA. Známe i bodové mutace mitochondriálních genů.

POUŽITÁ LITERATURA

- AMBROŽ, Z. (1986): Mikrobiologie (obecná část). VŠZ v Brně, 100 s.
- CEMPÍRKOVÁ, R., LUKÁŠOVÁ, J., HEJLOVÁ, Š. (1997): Mikrobiologie potravin, JU ZF České Budějovice, 165 s. ISBN: 80-7040-254-7
- CLARK, T. A., MONCALVO, J-M. (2005): Fungal phylogeny based on complete mitochondrial genome sequences. In: Deshmukh, S. K., Rai, M. K. (eds) Biodiversity of fungi. Their role in human life. Sci. Publ. Enfield, USA. ISBN: 1-57808-368-0, s. 15 – 32.
- GÖPFERTO VÁ, D., JANO VSKÁ, D., DOHNAL, K., MELICHERČÍKOVÁ, V. (2002): Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena. Pro střední a vyšší odborné zdravotnické školy. Triton, Praha, 148 s. ISBN: 80-7254-223-0
- GÖRNER, F., VALÍK, Ľ. (2004): Aplikovaná mikrobiológia požívatín. Malé centrum Bratislava, 528 s. ISBN: 80-967064-9-7
- JANDEROVÁ, B., BENDO VÁ, O. (1999): Úvod do biologie kvasinek. Karolinum, Praha, 108 s. ISBN: 80-7184-990-1
- 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 prostredí človeka. Mendelova univerzita v Brně, 78 s. ISBN: 978-80-7375-943-8
- KLABAN, V. (2005): Ilustrovaný mikrobiologický slovník. Galén, Praha. 654 s. ISBN 80-7262-341-9
- 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): Vlákňité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví človeka. NCO NZO, Brno, 349 s. ISBN: 80-7013-395-3
- MARENDIAK, D., KOPČANOVÁ, Ľ, 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>

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

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

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

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

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

TANČINOVÁ, D., MAKOVÁ, J., FELŠŮCIOVÁ, 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.

VACÍK, J., BARTHOVÁ, J., PACÁK, J., STRAUCH, B., SVOBODOVÁ, M., ZEMÁNEK, F. (1995): Přehled středoškolské chemie, SPN, Praha, 368 s. ISBN: 80-85937-08-5

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

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

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

<http://cs.wikipedia.org/wiki/Bi%C4%8D%C3%ADk#mediaviewer/Soubor:Flagella.png>

http://cs.wikipedia.org/wiki/Ty%C4%8Dinky_%28bakterie%29#mediaviewer/Soubor:Bacterial_morphology_diagram_cs.svg

http://cs.wikipedia.org/wiki/Citr%C3%A1tov%C3%BD_cyklus#mediaviewer/Soubor:Citric_acid_cycle_with_aconitate_2_cs.svg

<http://ziva.avcr.cz/2012-3/mikrobialni-biofilmy-1-vsudypritomny-a-pritom-malo-znamy-fenomen.html>

Autor	Ing. Libor Kalhotka, Ph.D. prof. RNDr. Marta Tesařová, CSc.
Název titulu	POTRAVINÁŘSKÁ MIKROBIOLOGIE PRO ZAHRADNICKOU FAKULTU Díl 1. Obecná část
Vydavatel	Mendelova univerzita v Brně Zemědělská 1, 613 00 Brno
Vydání	První, 2014
Náklad	200 ks
Počet stran	117
Tisk	ASTRON studio CZ, a.s.; Veselská 699, 199 00 Praha 9 Neprošlo jazykovou úpravou.
ISBN	978-80-7509-015-7
ISBN	978-80-7509-017-1 (soubor)
ISBN	978-80-7509-016-4 (II. díl)

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

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



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ