

EKOLOGIE MIKROORGANISMŮ

2

Historie, buněčná evoluce,
fylogeneze, diverzita

Historie života

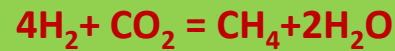
- před 4,5 mld let – formování Země, vznik pevnin a oceánů
- vulkanická a hydrotermální aktivita - velké množství plynů do atmosféry
- vodní pára + dusík, oxid uhličitý, metan, amoniak (stopy – vodík, ox. uhelnatý, kyanid vodíku...)
- prach a popel
- dostatek oxidu uhličitého a metanu - silný skleníkový efekt - chránil Zemi před zmrznutím
- mladé Slunce - 75 % svého současného výkonu
- vys. teploty, intenzivní odpar, nečistoty v ovzduší (prach a popel)- kondenzace vodní páry - prudké deště



- první formy života – anaerobové, termofilové, hypertermofilové (cca 90 „druhů“)
- (izol. cca 1500 kmenů- 10^7 b. *Thermoproteus* /g vroucího vulkanického bahna, 10^8 b. *Methanopyrus* /g černý kuřák , *Pyrolobus fumarii* přežije hodinu v autoklávu ☺ ...)
- **vodík-utilizující chemolitotrofové**, metanogeny, mikrobi disponující disimilatorní minerální redukcí
- hypertermofilní chemolitotrofové většinou používají pro získání energie jako **donor elektronů vodík**
- **síra** slouží často jako **akceptor el.** (Archaea) , dále Fe^{3+} , SO_4^{2-} , NO_3^- , CO_2 , O_2
- kyslík slouží jako akceptor výjimečně – jen pro hyperterm. archaea v mikroaerofilních podmínkách
- hyperterm. bakterie obvykle vyžadují organické látky pro svůj růst (aerobní i anaerobní)



- **biologická produkce metanu** je starobylý proces
- **pouze Archaea** schopna metanogeneze oxidací vodíku a redukcí ox. uhličitého na metan a vodu:



- při kumulaci organického materiálu v prostředí mohou metanogeny produkovat metan z metanolu, formátu nebo acetátu
- chemoautotrofní mikrobi mohou získávat energii také reakcí vodíku s ox.uhličitým, ale produktem je karbohydrát



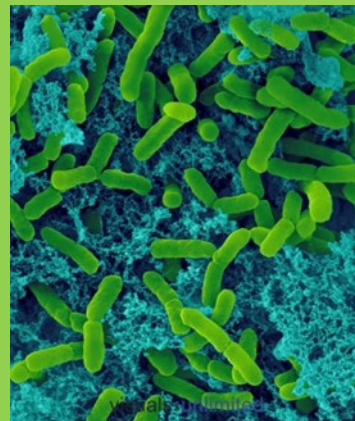
- vodík se uvolňuje do prostředí z hornin (UV záření), radiolýzou vody (alfa vlny)...
- díky rozvoji chemoautotrofů dochází k akumulaci org.látek v prostředí a mohou nastoupit heterotrofní prokaryota - metabolizují org. uhlík



- cca 3 mld let zpět se objevuje **anoxygenní fotosyntéza**, využívá sluneční světlo k aktivaci proteinů podobných **bakteriorhodopsinu**, který pumpuje ionty přes buněčnou membránu
- kyslík nevzniká a do reakce nevstupuje voda
- výsledkem jsou org. sloučeniny
- **anoxigenní fotosyntéza** založená na **bakteriochlorofylu** – purpurové a zelené sírné bakterie (nevstupuje voda, sirovodík jako zdroj elektronů)
- před 2,75 mld migrace mikroorganismů z moře na souš
- sinice (cyanobakterie) schopné oxygenní fotosyntézy začaly vytvářet aerobní prostředí tím, že uvolňovaly kyslík do vody a ten unikal do atmosféryvelká kyslíková událost....



Chromatiaceae

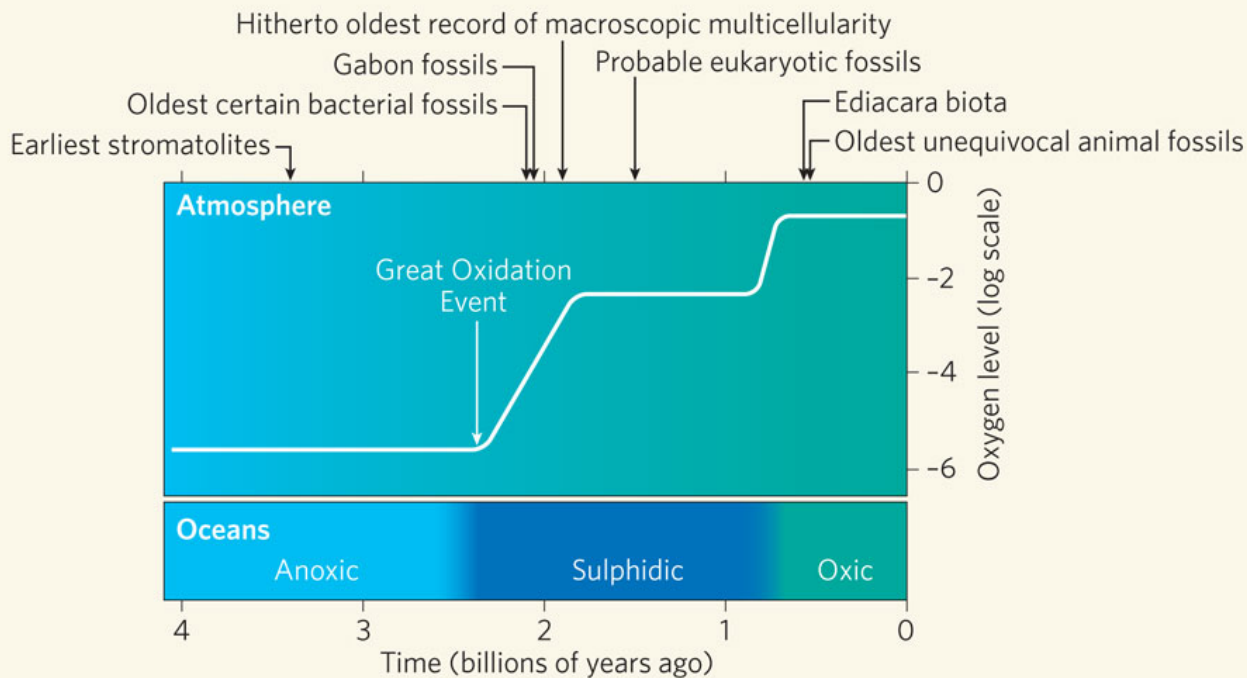


Chlorobiacea



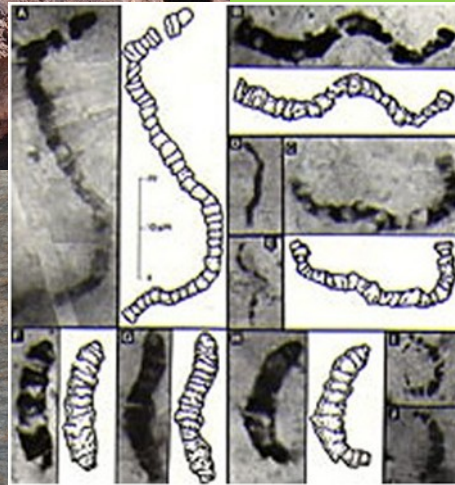
Chlorobium ferrooxidans - like

- kyslík v atmosféře oxidoval redukované sloučeniny síry a železa (FeS, FeS₂)
- tak byly anorganické látky oxidovány abiotickou i mikrobiální cestou
- před 1,7 mld let zvyšující hladina kyslíku - umožnila vznik první eukaryotické buňky
- díky aerobní atmosféře došlo ke vzniku molekul ozonu a k postupnému vytvoření ozonové vrstvy, absorbující UV záření (předtím mohli mikroorganismy žít pouze pod povrchem nebo kameny)



Mikrofosilie

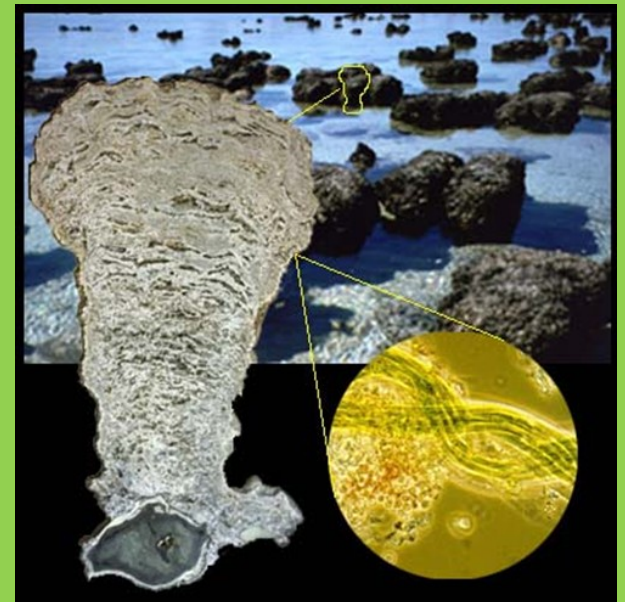
- oproti fosiliím zvířat či rostlin, mikrofosilie velmi vzácné
- údajně nalezeny cca 3,5 mld staré fosilie trichomů cyanobakterií (sporné)
- fosilní stromatolity v Austrálii
- bakterie 3,4 mld let staré v J Africe - *Archaeospheroides barbertonis*
- 1.5 mld *Gleodiniopsis* , Ural
- 1 mld *Palaeolyngbya* , Chabarovsk
- kritika datování arch.mikrofosilií kvůli nejasným biologickým důkazům
- chybí důkazy přítomnosti DNA nebo produktů jejich degradace



Stromatolity

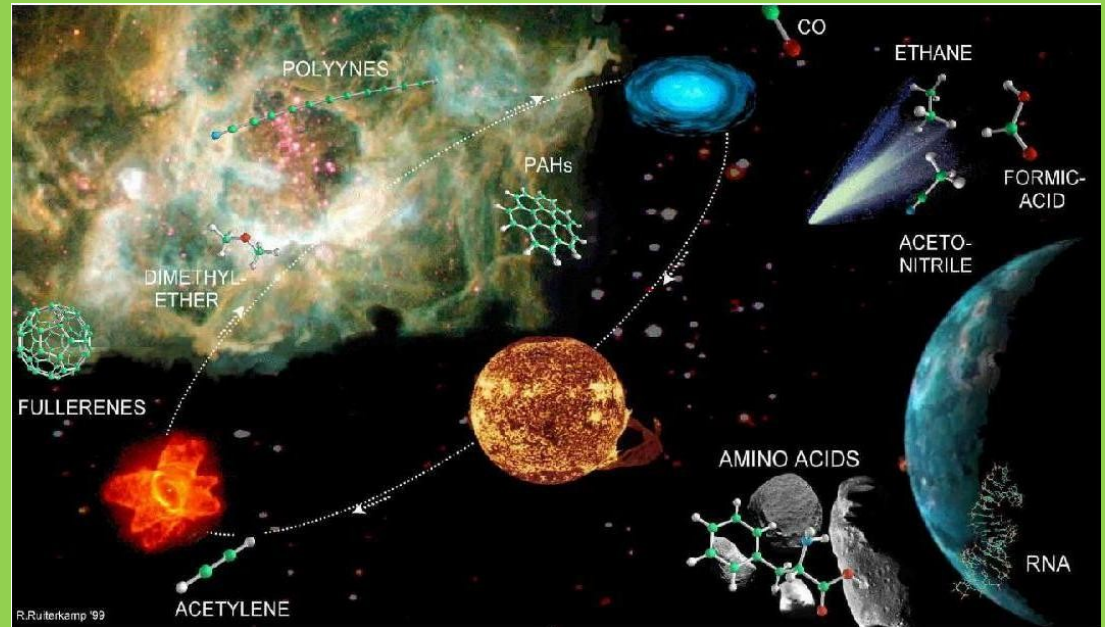
(z řeckého strōma - vrstva, a lithos - kámen)

- je hlízovitá vápnitá biogenní usazenina bochníkovitého až polokulovitého tvaru
- tvořeny povlaky kalu bohatého na vápník, který se vysrážel na povrchu porostů sinic nebo bakterií
- v bezkyslíkatém (nebo málo kyslíkatém) prostředí v mělkých oblastech moří
- zbytky kolonií stromatolitů přežívají až dodnes, např. u pobřeží Austrálie (Shark Bay)
- než se kyslík mohl začít uvolňovat do atmosféry, nejprve v mořích zreagoval s rozpuštěným železem
- vznikla současná ložiska železné rudy, např. právě v Austrálii



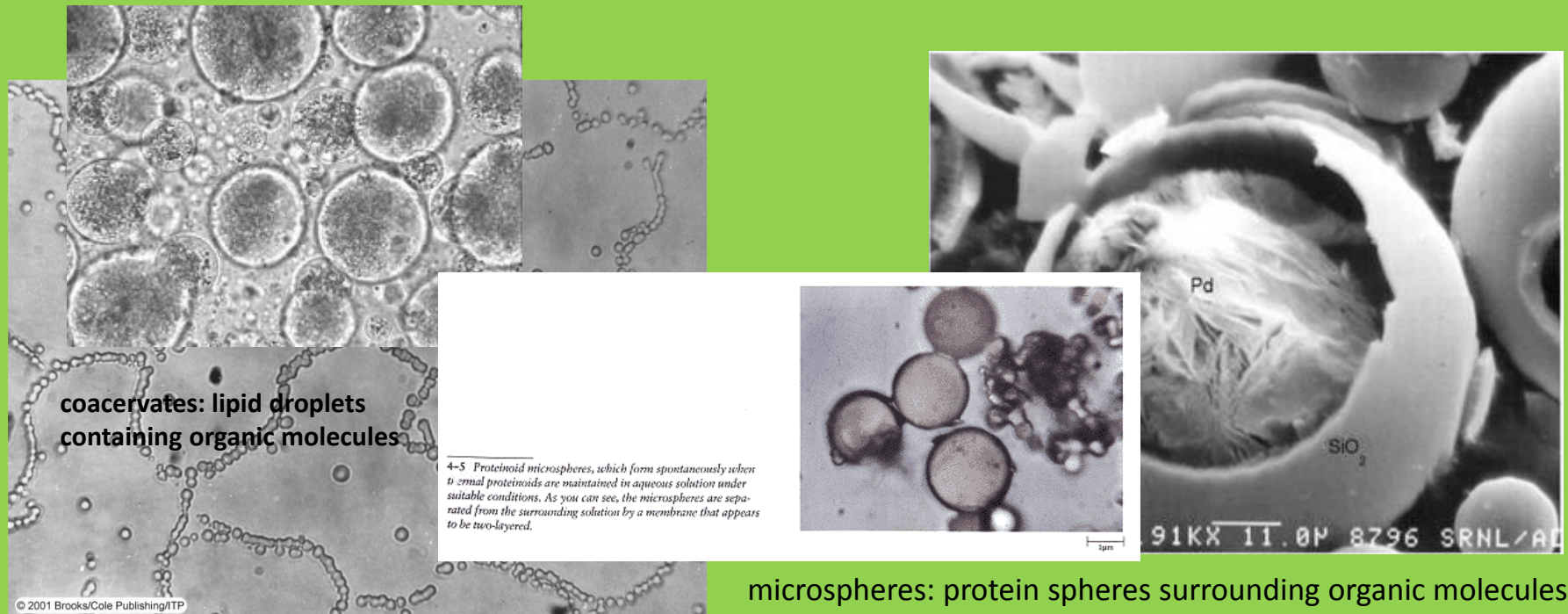
Jak vznikl život?

- stále diskutované téma – jak došlo k přeměně chemických procesů na biologickou jednotku???
- vlivem astrofyzikálních a geochemických aktivit na Zemi se začaly formovat jednoduché org. molekuly (cukry, aminokyseliny, lipidy, porfyriny, nukleotidy, heterocyklické sloučeniny)
- syntéza – různé názory
- Jíl – organické makromolekuly byly produkovány na jílu podobnému materiálu
- mohl katalyzovat polymeraci nukleotidů na RNA
- také katalyzují vznik mastných kyselin vhodných k vytvoření prvotních membrán
- membránové struktury- micely, mikrosféry



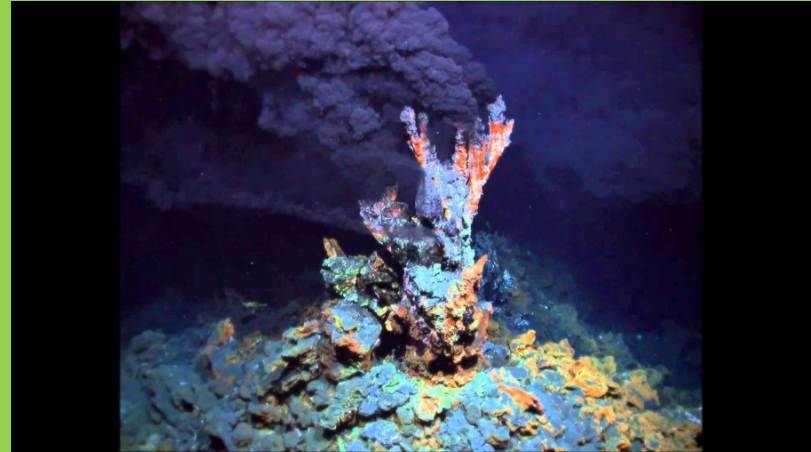
Teorie prebiotické polévky

- jezero na povrchu, z chemických prvků vznikala v rci s vodními parami:
 - metan, amoniak, oxid uhličitý, oxid uhelnatý, oxid siřičitý, kyanovodík aj
 - vliv tepla, UV a elektrických výbojů - rce s vodíkem a vodní párou
 - vytvářely složitější organické molekuly – aminokyseliny, sacharidy, lipidy i nukleotidy
-
- 1952 - Stanley Miller a Harold Urey experiment
 - pokus úspěšný, později však byla celá teorie opuštěna
 - novější výzkumy ukázaly na více neutrální charakter rané atmosféry
 - ne zcela dobře propracovala otázku vzniku a vývoje genetického kódu



Teorie hydrotermálních průduchů

- vliv geochemických procesů na vznik života
- hydrotermální průduchy na mořském dně (cca 2 km)
- v blízkosti středooceánských hřbetů
- velké množství horké zásadité mineralizované vody se mísí s chladnou a mírně kyselou vodou
- minerály se v okolí průduchů sráží
- mohly fungovat jako katalyzátory mnoha reakcí, např. při syntéze aminokyselin



Zvuk černého kuřáka:

<https://www.youtube.com/watch?v=5k9PgJ229>

Tw

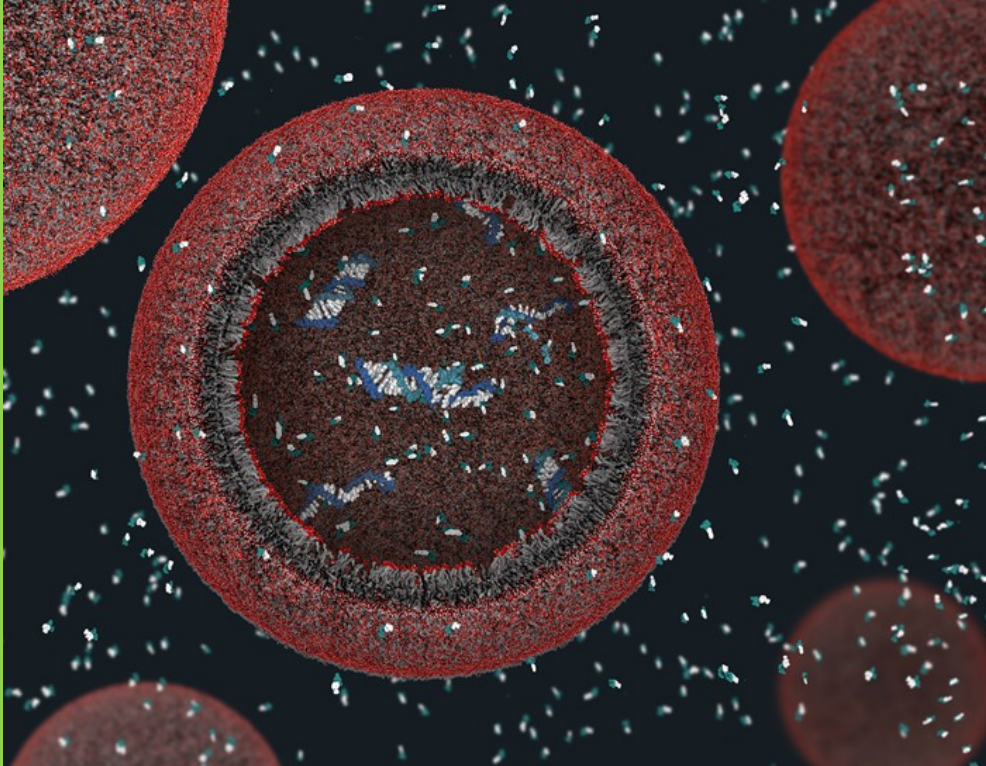
Teorie panspermie

- při nárazu vesmírných těles na zemský povrch by byly jakékoli organismy zničeny
- nově nalézané organické sloučeniny na povrchu meteoritů
- na Zemi se tímto způsobem mohly dostat v alespoň některé základní organické molekuly
- ...ne všechny základní stavební kameny života musely vzniknout přímo na Zemi...?



Jak vznikla první buňka

- před vznikem života se v prostředí pravděpodobně kumulovaly org.látky
- Koch a Silver (2005) - preobické vezikulum
- obsahující nukl. kyselinu uvnitř, zajišťující iontovou výměnu přes membránu tvořenou lipidy
- bez požadavku na metabolické enzymy, ATP, ribozomy, proteiny, DNA



- model protobuňky s průměrem 100 nm
- povrchová membrána, tvořená molekulami mastných kyselin
- umožňuje živinám a nukleotidům přecházet do bunky a podílet se na neenzymatickém kopírování DNA uvnitř bunky
- po vytvoření nového vlákna DNA je neprůchodná – DNA proto zůstává v protobuňce
- podle koncentrace a pH okolí se micely můžou spájet a vytvářet 2-vrstvé membránové plochy – tvoří kulovité objekty - váčky, vezikula

RIBOZYM

- autokatalytická molekula ssRNA s sebereplikační schopností, funkce enzymu
- první živé systémy na Zemi "nahé" samoreplikující se molekuly RNA bez membrány
- RNA zajišťovala současně přenos genetické informace i katalýzu biochemických reakcí
- energie získávána nejspíš oxidací anorg. látek ($\text{H}_2\text{S} + \text{FeS} = \text{FeS}_2 + \text{H}_2$) mohla poskytnout potenciál pro různé reakce včetně iontového přenosu přes membránu
- vezikula se vyvinula v buňku až po získání DNA, proteinů, ribozomů, enzymů, ATP...
- primární přítomnost RNA ve vezikulu mohla být užitečná, protože RNA nese el.náboj a může nespécificky vázat proteiny a malé org.molekuly
- záměna DNA za RNA moudrá, stabilnější
- čas nutný pro rozvoj první buňky byl značný, pak nabírá rychlost evoluce na akceleraci (diverzita a složitost eukaryot vs. o 2/3 kratší délka existence na Zemi oproti prokaryotům)
- hypotéza RNA světa



Hypotéza RNA světa

1989- Nobelova cena za objevení ribozymů T. R. Cech a S. Altmann
- padla teorie, že biologickými katalyzátory jsou pouze proteinové enzymy



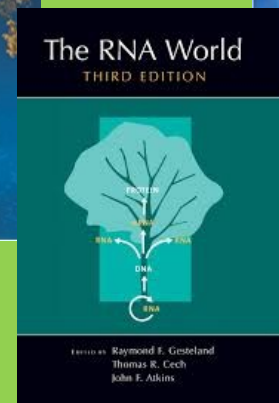
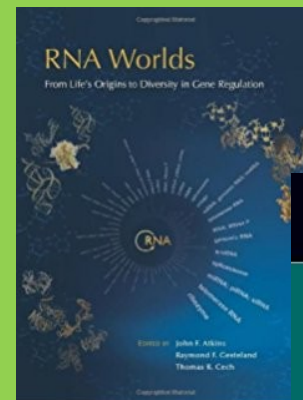
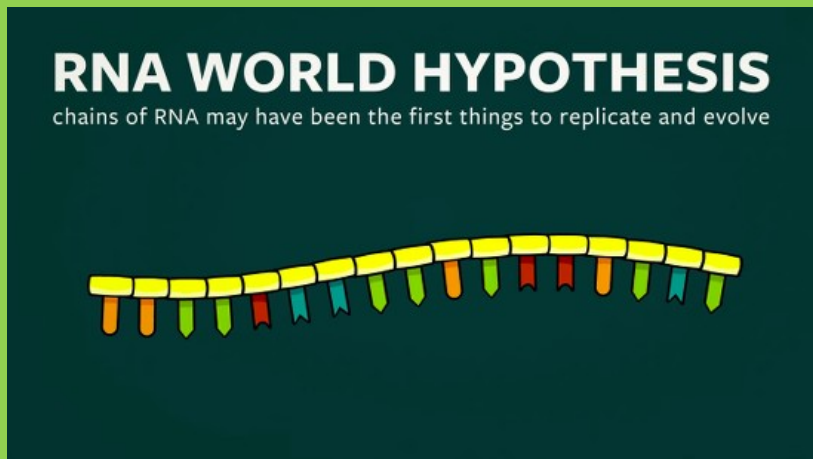
Walter Gilbert 1986

RNA svět - hypotéza která předpokládá, že v určité etapě vývoje života na Zemi molekuly RNA sloužily jako hlavní biologické katalyzátory a zároveň byly schopné přenášet genetickou informaci

- reaguje na problematický způsob vzniku živých organismů vzhledem k jejich genetickému kódu
- replikaci organismů zajišťuje molekula DNA - předává informaci proteinům (enzymům), ale bez jejich existence a katalýzy sama nemůže vznikat a replikovat se
- DNA a proteiny proto mohou při přenosu informace fungovat pouze společně, není možné říci, co se vyvinulo dřív
- přímý vznik živé buňky s takto složitým systémem replikace je ve smyslu moderní vědecké abiogeneze nemyšlitelný
- řešení problému se proto hledalo s předpokladem, že dnešnímu životu předcházely organismy s jednodušším replikačním systémem
- systém přenosu informací v prvních živých organismech by tak mohl být založen pouze na RNA, která by v sobě spojovala vlastnosti nukleové kyseliny i proteinů
- tento způsob navrhli nezávisle na sobě v 60. letech Carl Woese, Francis Crick aj.

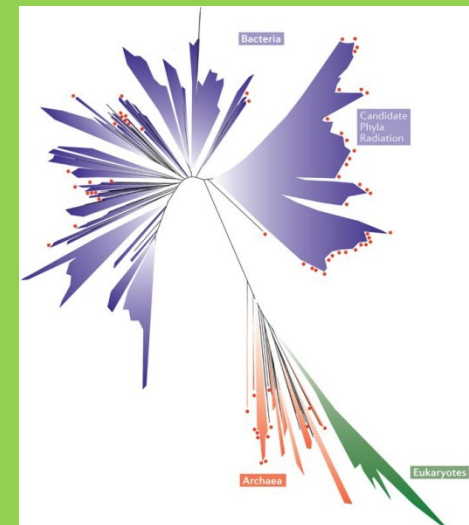
Achillova pata RNA světa

- chybí jakékoliv nálezy prvotních organismů v geologickém záznamu
- mnohé úspěšné laboratorní experimenty odhalily zatím jen zlomky možných reakcí
- nejsou známy ani žádné organismy, které by mohly v RNA světě fungovat – metabolismus zcela odlišný
- nejasnosti o vzniku molekul RNA v prebiotickém světě - syntéza v tehdejší prostředí velmi komplikovaná
- velmi malá stabilita molekul ribonukleové kyseliny - existence nechráněných molekul téměř vyloučená - rychlý rozklad vlivem silného UV



Buněčná evoluce

- první buňky obsahující DNA a protein syntetizující materiály uvnitř membrány získaly schopnost dědičnosti vlastností a tvorby nového fenotypu
- druhy mikroorganismů se schopností přizpůsobit se prostředí v něm mohly přežít a reprodukovat se a tím vytvářet nové formy
- evoluce vedoucí k různým formám a životním stylům byla formována díky selektivnímu tlaku životního prostředí
- genet. variabilita byla zajištěna vlivem mutací a horizontálním přenosem genů
- pro oddělení Bacteria a Archaea nebyla nalezena odpovídající událost v historii Země
- i přes značné rozdíly, mnoho procesů a biomolekul sdílí tyto skupiny spolu
- je s podivem, že po 2 mld let vývoje se prokaryota rozdělila pouze na dvě linie...což již zřejmě neplatí – *Candidate Phyla Radiation*?

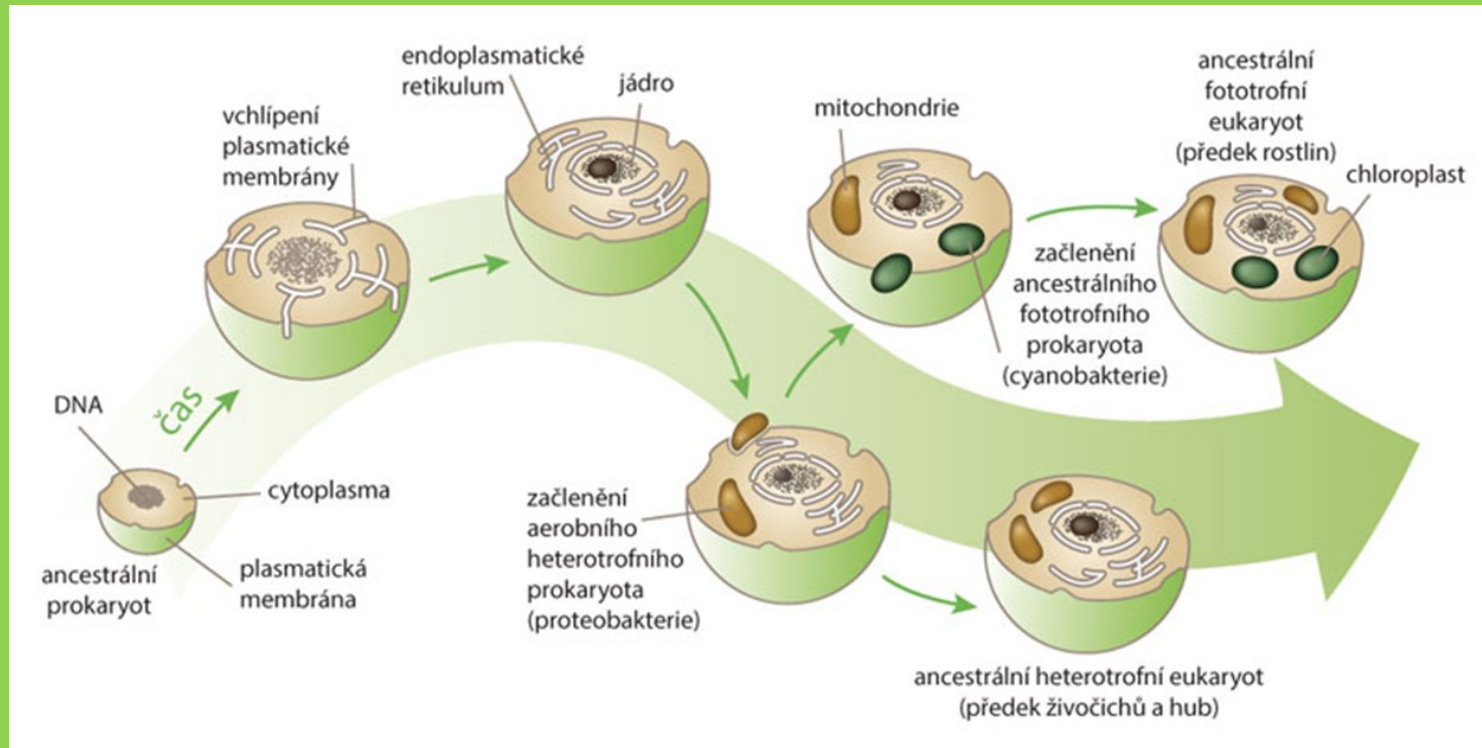


Vznik eukaryontní buňky - teorie

- eukaryotická buňka má množství typických rysů, jako je buněčné jádro, endomembránový systém, lineární chromozomy a mRNA

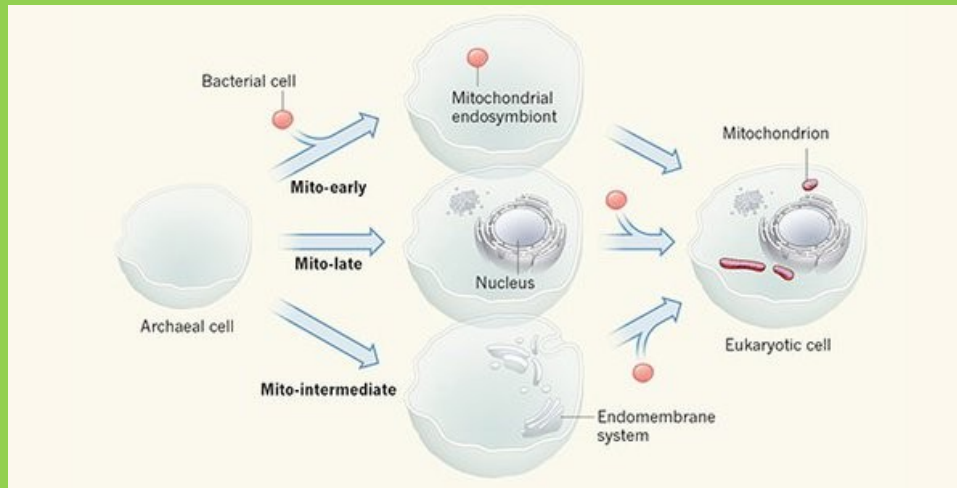
Endosymbiotická teorie

- tvrdí, že mitochondrie vznikly pohlcením Rickettsií jinou buňkou a mitochondrie jsou potomci těchto bakterií
- většina současných vědců však toto extremistické pojetí neuznává, protože bičík neobsahuje vlastní DNA a jeho stavba se zásadně liší od prokaryotního bičíku



Teorie genomové fúze

- archaeum pohltilo bakteriálního symbionty, z nichž se vyvinula mitochondrie
- horizontálním přenosem genetické informace z mitochondrie do genomu archeonu se vysvětlují znaky eukaryot i bakteriálního původu
- další geny bakteriálního původu by teoreticky mohla eukaryotická buňka získat i z potravy, pokud se živila bakteriálními buňkami



Syntrofická hypotéza

- předpokládá, že motivací ke vzniku eukaryotické buňky byl metabolismus vodíku
- výměna produktů metabolismu mezi několika druhy (tedy právě tzv. syntrofie)
- buňky bakterií se přiložily těsně k buněčné membráně archeí a splynuly
- archeální cytoplazmatická membrána se pak stala jadernou membránou nové eukaryotické buňky
- cytoplazmatická membrána bakterií pak buněčnou membránou eukaryot

Hypotézy založené na síře

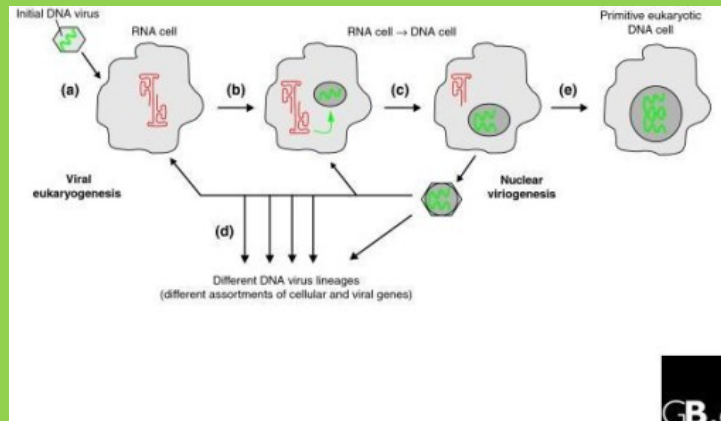
- navrhují společenství archeí a bakterií založená na síře
- spirochéty přijímaly sirovodík produkovaný archea a metabolizovaly ho
- postupně se vyvinuly v bičík
- nebyl zatím nalezen téměř žádný důkaz, vyjma skutečnosti, že podobná společenství existují v přírodě

Hypotéza Neomura

- fagotrofičká hypotéza považuje archea i eukaryota za potomky aktinobakterie, která prošla značným vývojem a později endosymbioticky získala mitochondrie
- nedostatkem těchto teorií je fakt, že v současnosti neznáme žádné eukaryotické organismy s primární absencí mitochondrií, ačkoliv je tyto teorie předpokládají

Tři viry, tři domény

- 2005 - P. Forterre
- vznik všech domén včetně té eukaryotické přičítá virům
- RNA svět – vezikula byly infikovány několika viry které vynalezly DNA
- následně se tato DNA stala jejich hlavním genetickým materiálem
- neexistují doklady, jedná se o spekulativní hypotézu, ale nedá se odmítnout jako nesprávná



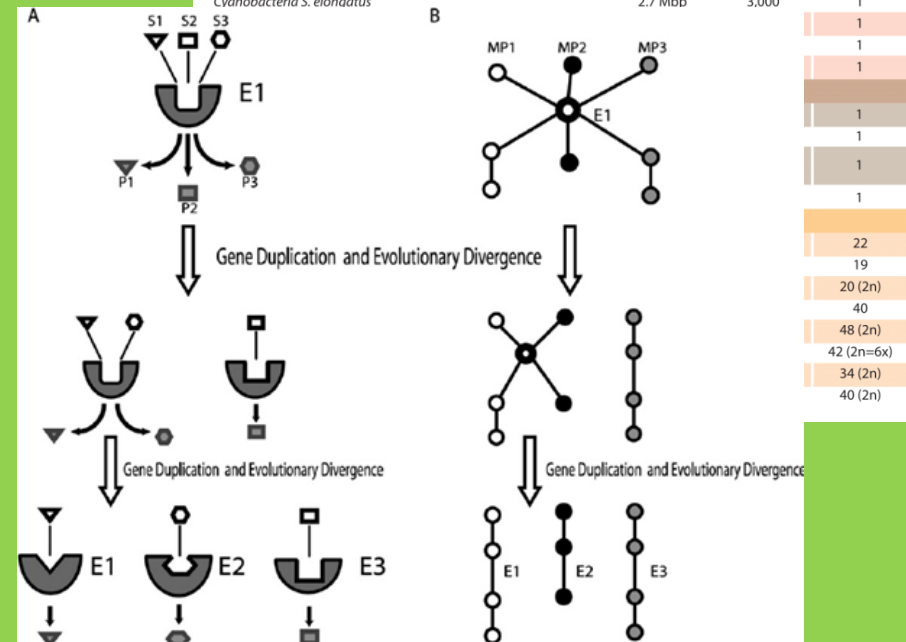
Evoluce metabolismu

- prvotní buňky ve srovnání měly málo genů, žádnou genovou regulaci ani mobilní genetické elementy
- vysvětlení expanze genomu z několika set na několik tisíc genů

Patchwork hypotéza

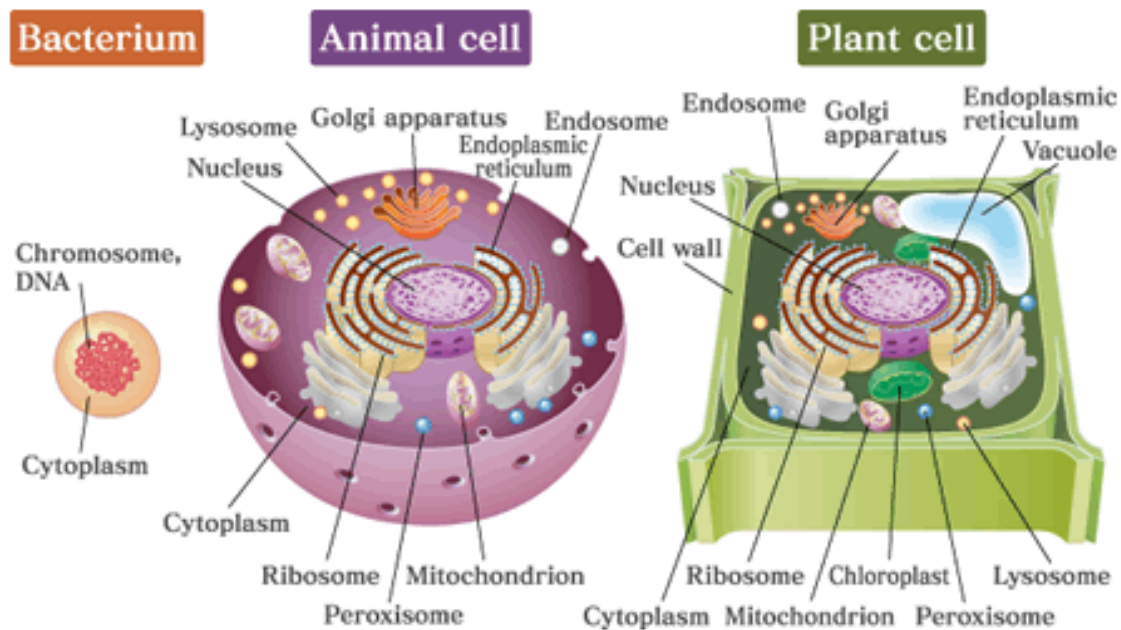
- předpokládá zdvojení genů, které kódují enzymy s nízkou specifitou (schopné katalyzovat různé reakce)
- vlivem selekčního tlaku prostředí vyvinuly v geny kódující enzymy s vyšší specifitou
- buňky s efektivním metabolismem byly selektovány
- horizontální přenos genů a fúze prokaryotických buněk hrála významnou roli v evoluci
- postupné nahrazování abiotických geochemických cyklů vyústilo v současnou podobu koloběhu prvků na Zemi

organism	genome size (base pairs)	protein coding genes	number of chromosomes
model organisms			
model bacteria <i>E. coli</i>	4.6 Mbp	4,300	1
budding yeast <i>S. cerevisiae</i>	12 Mbp	6,600	16
fission yeast <i>S. pombe</i>	13 Mbp	4,800	3
amoeba <i>D. discoideum</i>	34 Mbp	13,000	6
nematode <i>C. elegans</i>	100 Mbp	20,000	12 (2n)
fruit fly <i>D. melanogaster</i>	140 Mbp	14,000	8 (2n)
model plant <i>A. thaliana</i>	140 Mbp	27,000	10 (2n)
moss <i>P. patens</i>	510 Mbp	28,000	27
mouse <i>M. musculus</i>	2.8 Gbp	20,000	40 (2n)
human <i>H. sapiens</i>	3.2 Gbp	21,000	46 (2n)
viruses			
hepatitis D virus (smallest known animal RNA virus)	1.7 Kb	1	ssRNA
HIV-1	9.7 kbp	9	2 ssRNA (2n)
influenza A	14 kbp	11	8 ssRNA
bacteriophage λ	49 kbp	66	1 dsDNA
<i>Pandoravirus salinus</i> (largest known viral genome)	2.8 Mbp	2500	1 dsDNA
organelles			
mitochondria - <i>H. sapiens</i>	16.8 kbp	13 (+22 tRNA +2 rRNA)	1
mitochondria - <i>S. cerevisiae</i>	86 kbp	8	1
chloroplast - <i>A. thaliana</i>	150 kbp	100	1
bacteria			
<i>C. ruddii</i> (smallest genome of an endosymbiont bacteria)	160 kbp	182	1
<i>M. genitalium</i> (smallest genome of a free living bacteria)	580 kbp	470	1
<i>H. pylori</i>	1.7 Mbp	1,600	1
<i>Cyanobacteria S. elonatus</i>	2.7 Mbp	3,000	1



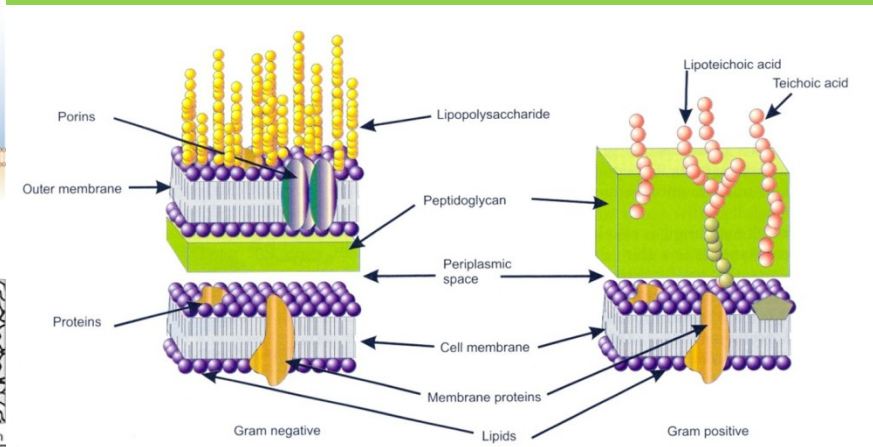
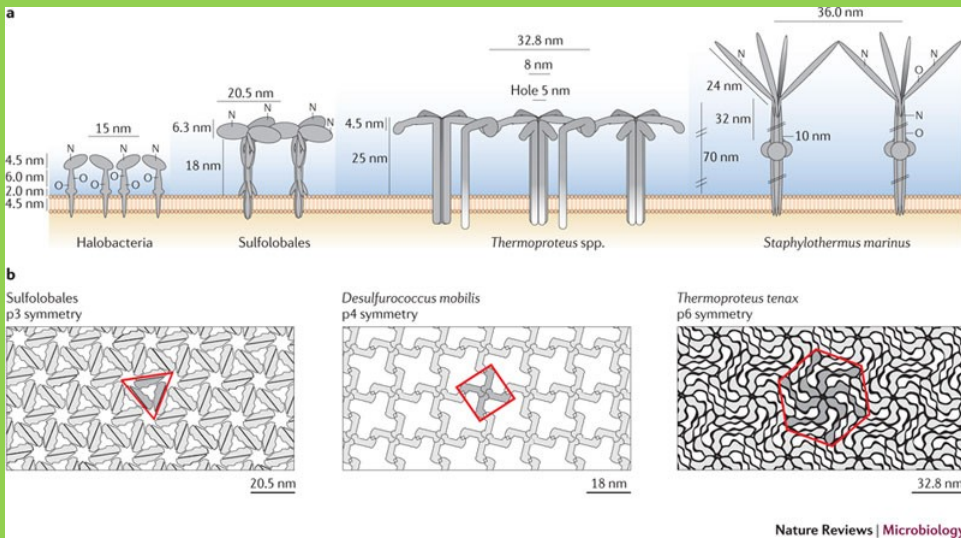
Charakteristiky mikrobiálního života

- podstata života je podobná u mikro- i makroorganismů (prokaryot i eukaryot)
- mikroorganismy jsou jednobuněčné, vyšší organismy mnohobuněčné, tvořené tkáněmi



Struktura a evoluce buněčného tvaru

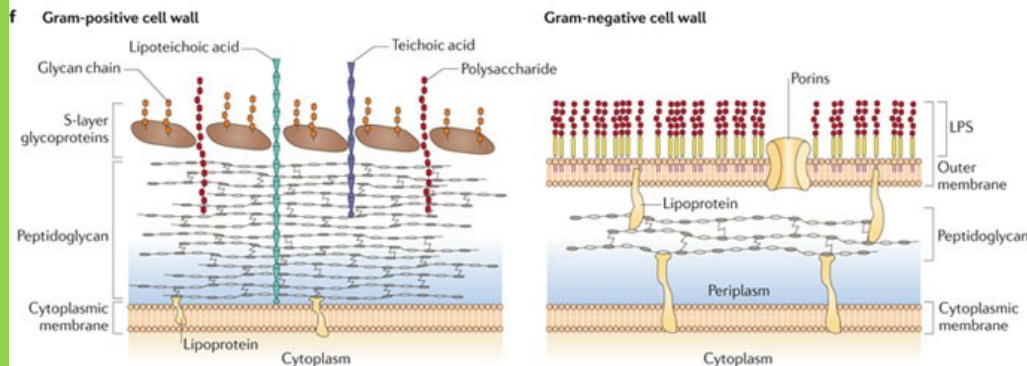
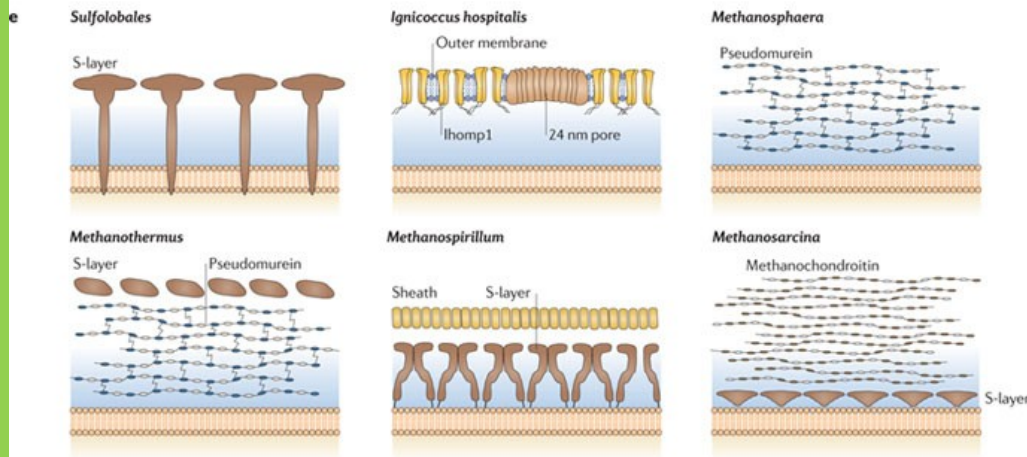
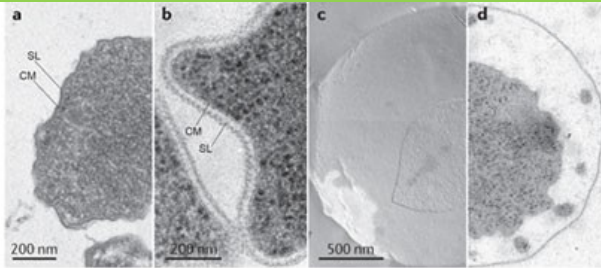
- precizní uspořádání mikrobiálních buněk, struktura je děděna na potomky
- strukturální organizace reflektuje postavení molekul v membránách, ribozomech, proteinech atd.
- S vrstva – mozaika glykoproteinů na povrchu bakterií a archaeí
- plasmatická membrána – lipidy (hydrofobní bariéra), proteiny (transport přes membránu, metabolismus, komunikace mezi cytoplasmou a prostředím)
- buněčná stěna – zabraňuje osmotickému vlivu, udržuje tvar
- peptidoglykan (cukernatý polymer navázaný na peptidy) jen u bakterií



Archaea

Bacteria

Rozdíly buněčné stěny mezi Bacteria a Archaea

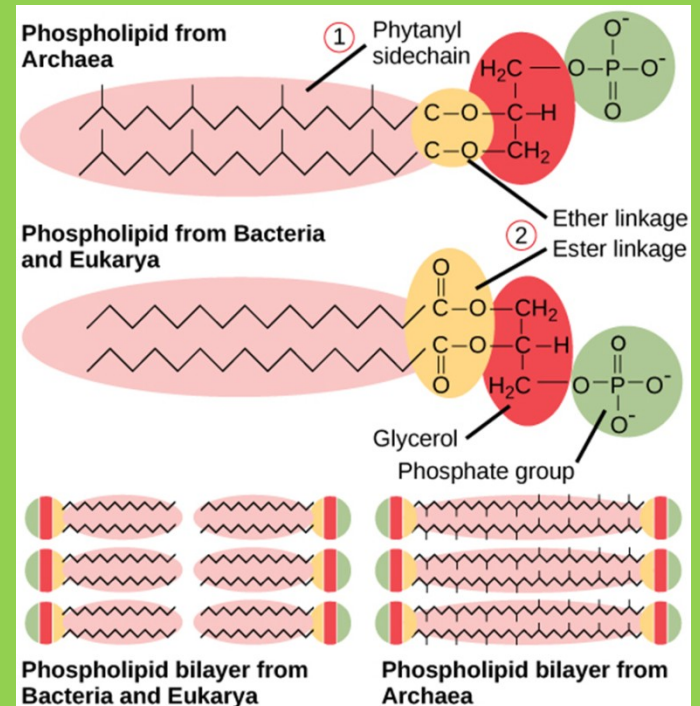


Nature Reviews | Microbiology

Archaea

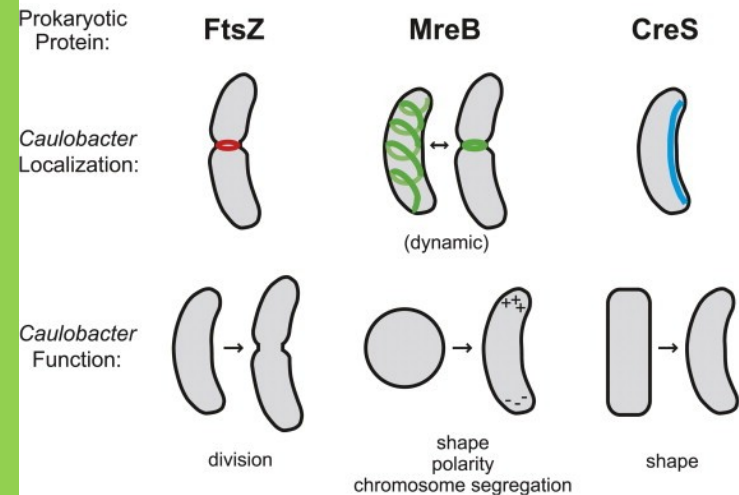
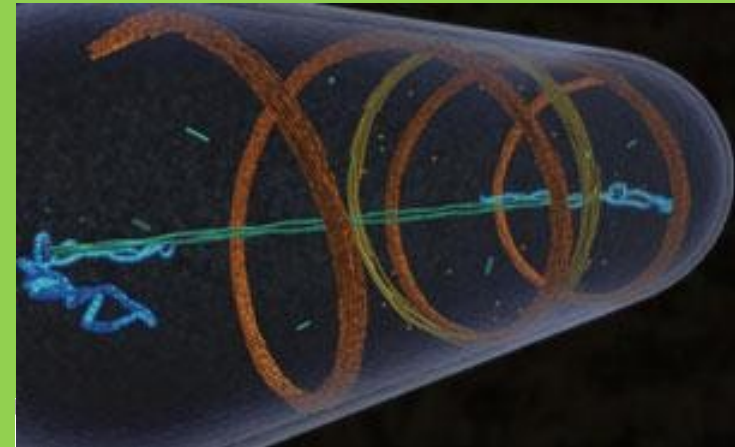
- eterové vazby (stabilnější)
- BS – obv. neobsahuje peptidoglykan
- výjimka - *Methanobacteriales* (pseudopeptidoglykan - pseudomurein)
Thermoplasmatales, Ferroplasma (absence BS)

Bacteria – esterové vazby
- peptidoglykan



- tvary mikroorganismů – univerzální napříč skupinami – koky, tyčky, vibria, vlákna
- morfologie výsledkem evoluce – adaptace na prostředí- různé tvary pomáhají bakteriím najít zdroj potravy, přilnout k povrchu, pohybovat, útek před predátory aj.

- nalezeny specif. proteiny formující tvar prokaryot i dělení
- dělení – série proteinů lokalizována na vnitřní straně buň. stěny, před binárním dělením se polymerizují do tvaru kruhu (**Ftsz ring**) uprostřed buňky
- nalezeny u bakterií, archaea a podobné i u chloroplastů a mitochondrie u eukaryot
- **MreB** protein – zajišťují tvar tyčky, bez něho vznik koků (pravděpodobně evol. prvotní)
- vibrio tvar – *Caulobacter crescentus* - MreB protein a **crescentin**



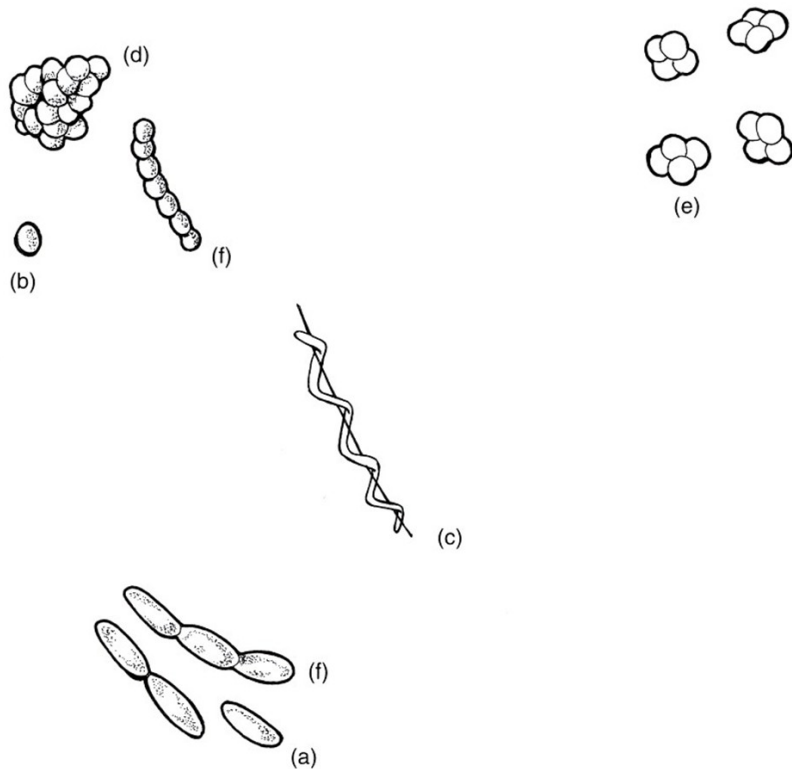
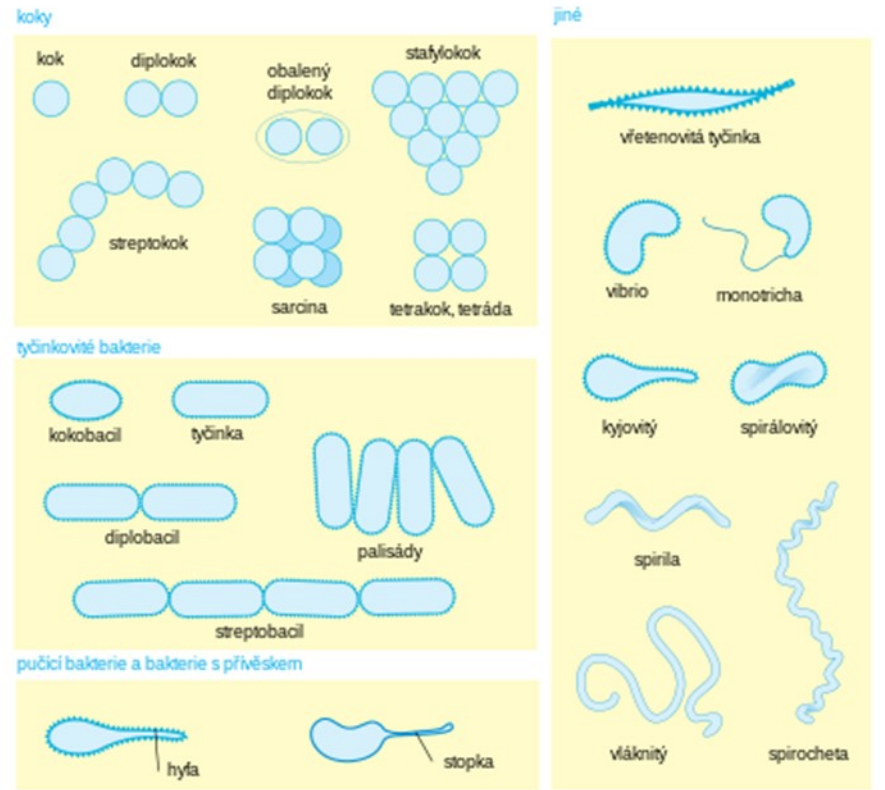
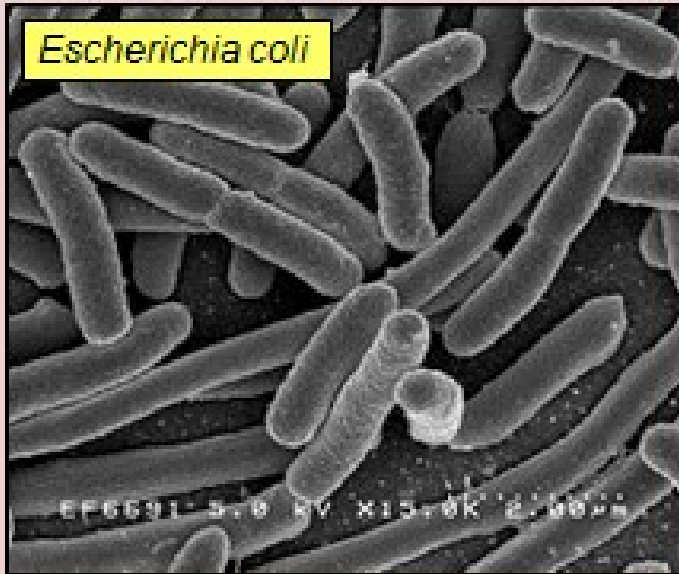


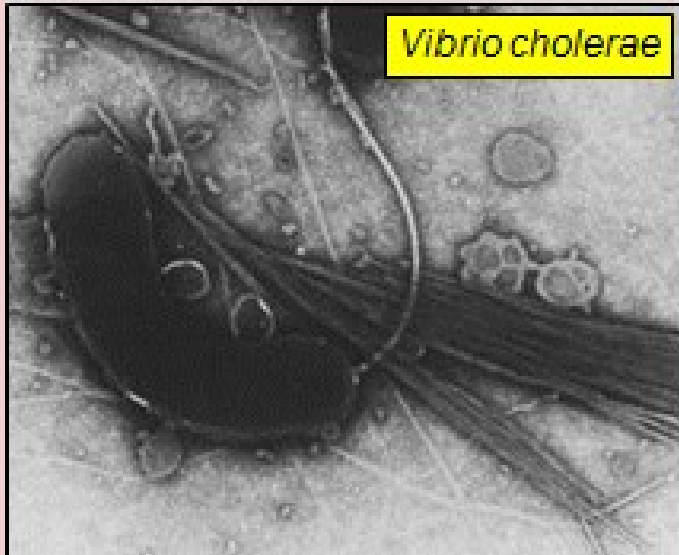
FIGURE 3.3 Bacterial shapes and growth patterns. Basic bacterial shapes consist of bacillus (a), coccus (b), and spirillum (c). Due to the lack of separation of bacterial cells after reproduction, basic patterns of growth result. These patterns include colonies (d), tetrads (e), and chains (f).



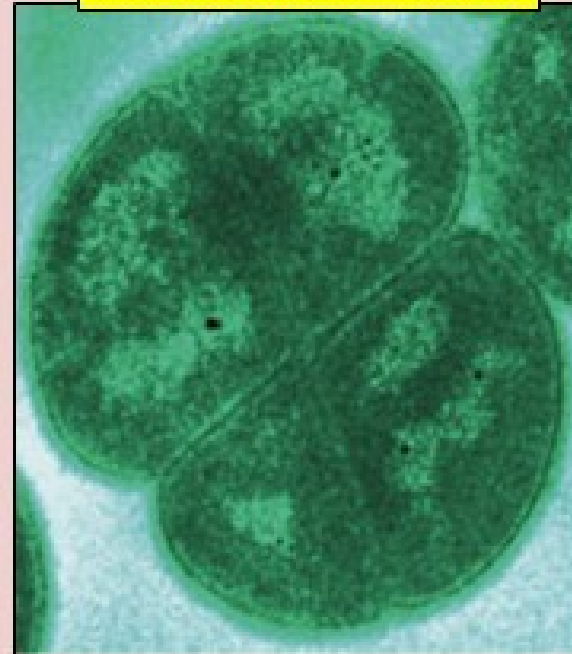
Escherichia coli



Vibrio cholerae



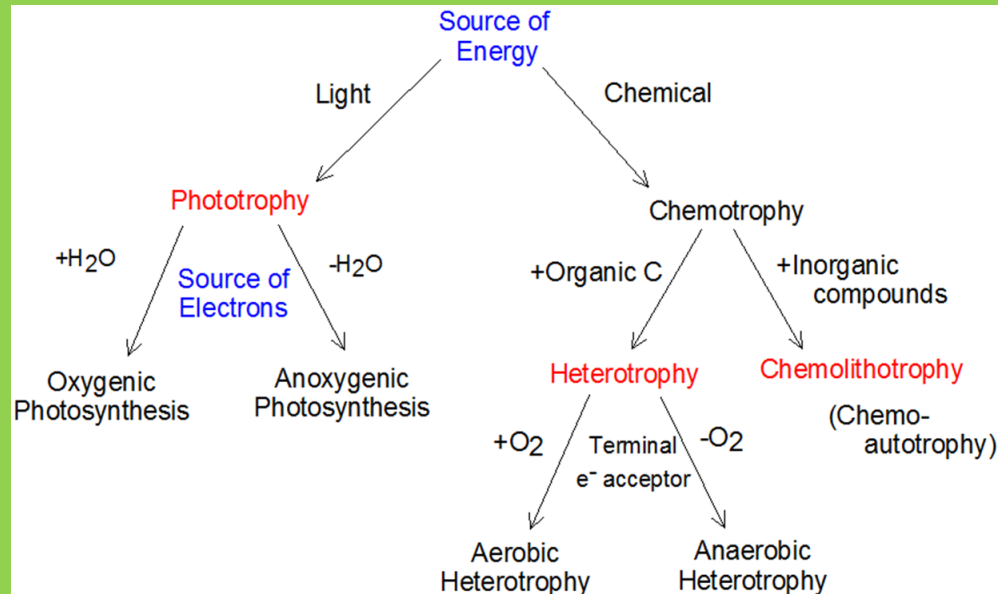
Deinococcus radiodurans

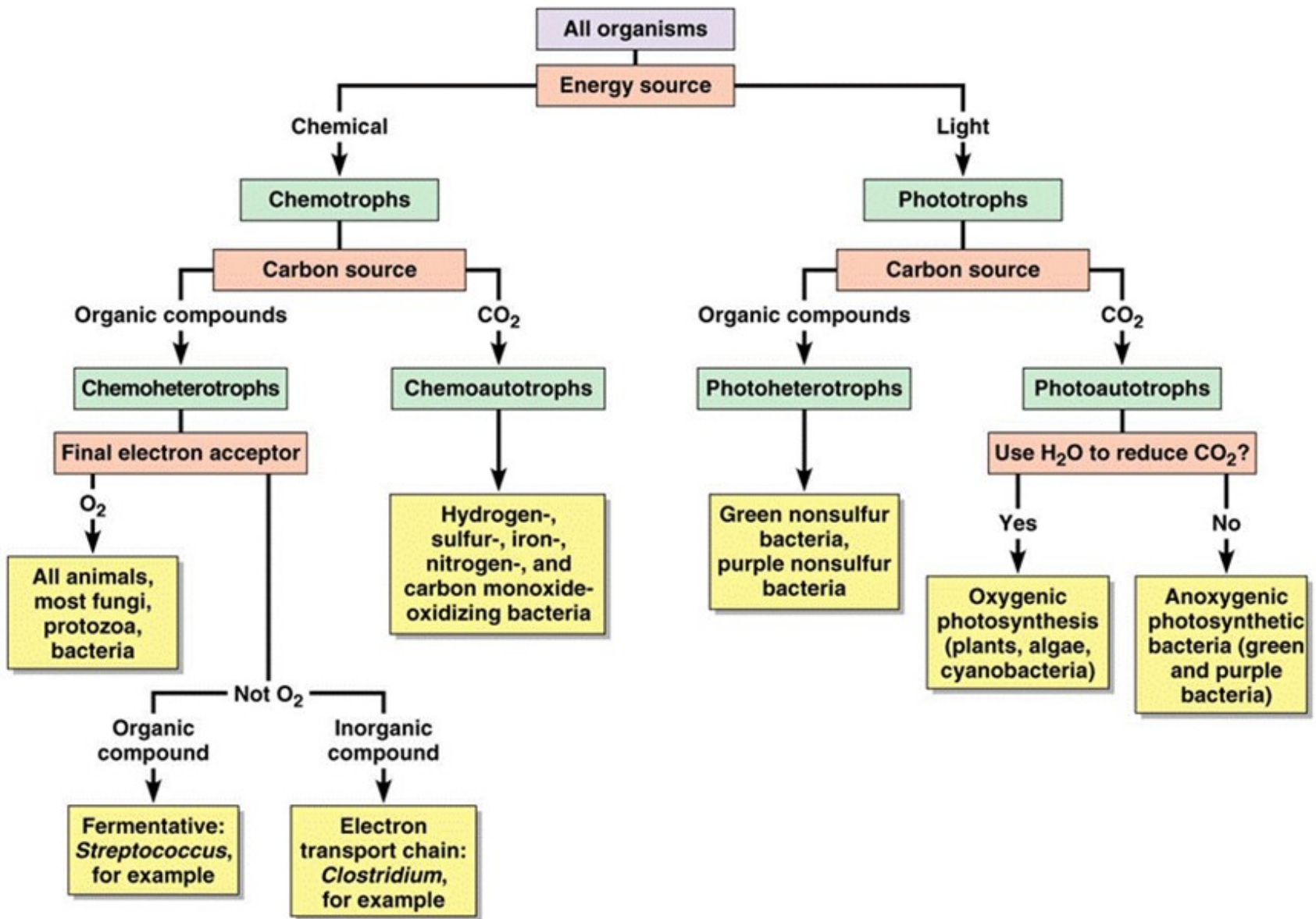


Metabolismus a zisk energie

- mikrobi mohou využívat jako zdroj energie org.látky, minerály nebo sluneční záření (fotony)
- solární energii mohou využívat pouze formy žijící na povrchu Země
- charakteristika živého systému – energie - proud elektronů předávaný donorem elektronů akceptorovi elektronů – red.ox.reakce (z elektroneg. do elektropoz. soustavy)
- redukované org. látky a anorganické sloučeniny se pro zisk energie pro metabolické procesy uplatňují v anaerobním i aerobním prostředí
- energie v buňce je spotřebována na transport iontů, ATP, transport živin, pohyb...
- elektronový transport je univerzální systém který využívají všechny formy života – cytochromy, chinony
- některé biochemické sloučeniny v přírodě mají tuto část hydrochinonu nebo chinonu ve své struktuře, například Koenzym Q, proteiny se sírou/ železem v centru
- variabilita typů el.transportu odlišuje (kromě přítomnosti mitochondrií) prokaryota od eukaryot

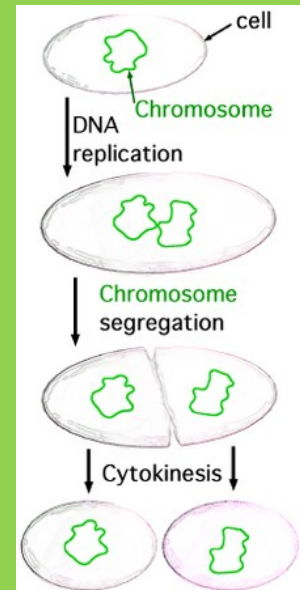
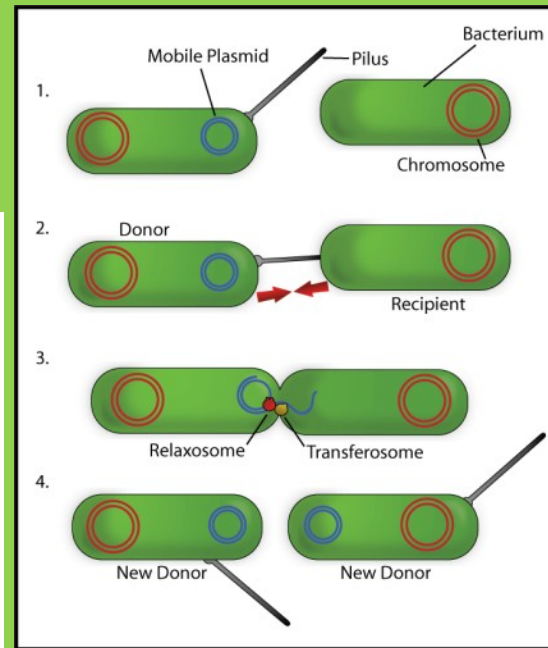
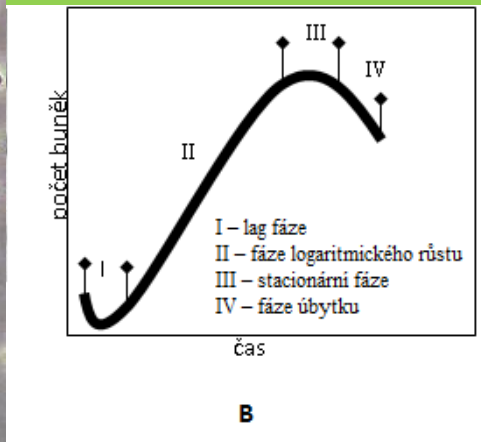
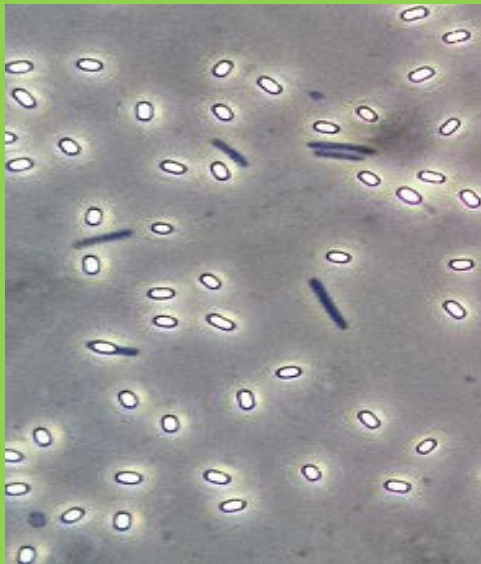
- nejlepší akceptor elektronů pro dýchání – kyslík
(soustava kyslík-voda má nejvyšší redox.potenc., vys. E výtěžek , může přijímat el. z různých zdrojů)
- org.l. mají nejnižší red-ox
(dochází k oxidaci H v nich obsaženého, elektrony přenášeny proteiny dýchacího řetězce)
- Rozdíl E mezi ox.org.l a redukcí kyslíku je nejlepší dostupný zdroj E – proto nejčastěji využíván v aerobním prostředí
- Evol. pův. dýchání v bezkyslíkatém prostředí – pak místo kyslíku slouží jako akceptor jiné látky – dusičnany, sírany, ox.uhličitý....nebo org.látky





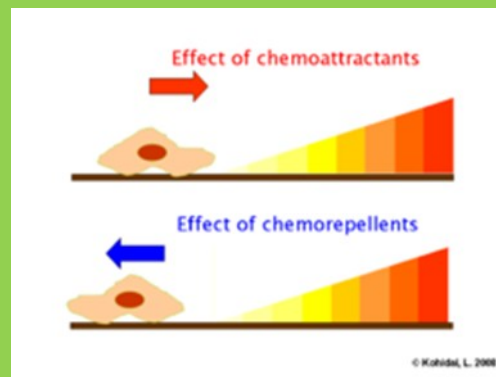
Růst a reprodukce

- cílem metabolismu je poskytnout mikroorganismu dostatek biosyntetického materiálu a k zajištění podmínek umožňujících reprodukci
- pro jednobuněčné organismy se používá termín růst pro zvyšování počtu jednotlivých buněk (binární dělení, růstová křivka)
- ve stabilním přirozeném prostředí se prokaryota obvykle nachází ve stacionární fázi
- asexualita vs. horizontální přenos genů – mix genetického poolu
- tvorba spor

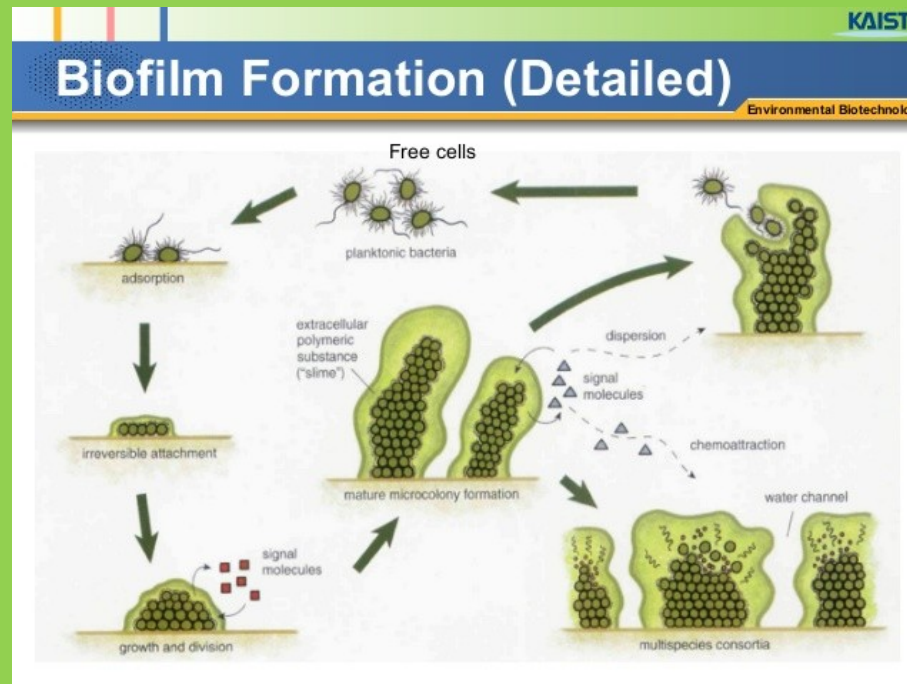


Adaptace jako odpověď na stimul prostředí

- pro mikroorganismy je žádoucí odpovídat na změny v prostředí tak, aby jejich růst a fyziol. procesy byly udržovány kolem optimálních podmínek
- při fyzikálních nebo chemických extrémech jsou selektivně favorizováni buněčné linie s genomem který jim umožňuje v extrému růst
- Ph, teplota, sůl, permanentní environmentální změny...
- fixování těchto genů v populaci vyúsťuje ke vzniku nového druhu se specifickými vlastnostmi
- změny v přírodě bývají obvykle přechodné (spíš stimuly kratšího trvání, ale relativně časté)
- stresová odpověď mikroorganismů na různé stimuly - teplota, tox. kovy, vysušení, přítomnost kyslíku...
- chemotaxe regulována komplexem senzorů , pohyb směrem od/k ne/žádoucího zdroje



- mikrobi mají schopnost přenášet fyzikální i chemické signály k zjištění vhodné odpovědi
- mnoho metabolických přeměn v mikroorganismu jsou v podstatě odpovědí na změnu chem. prostředí
- schopnost indukce/represe gen. exprese během několika minut umožní syntézu pouze těch enzymů nutnou pro katabolismus nebo syntézu
- mohou regulovat expresi genů tak rychle jako dochází k chem. změnám okolí
- vysoce regulovaná syntéza potřebných enzymů minimalizuje energ. nároky a umožňuje perzistenci prokaryot v čase i konkurenci eukaryotům

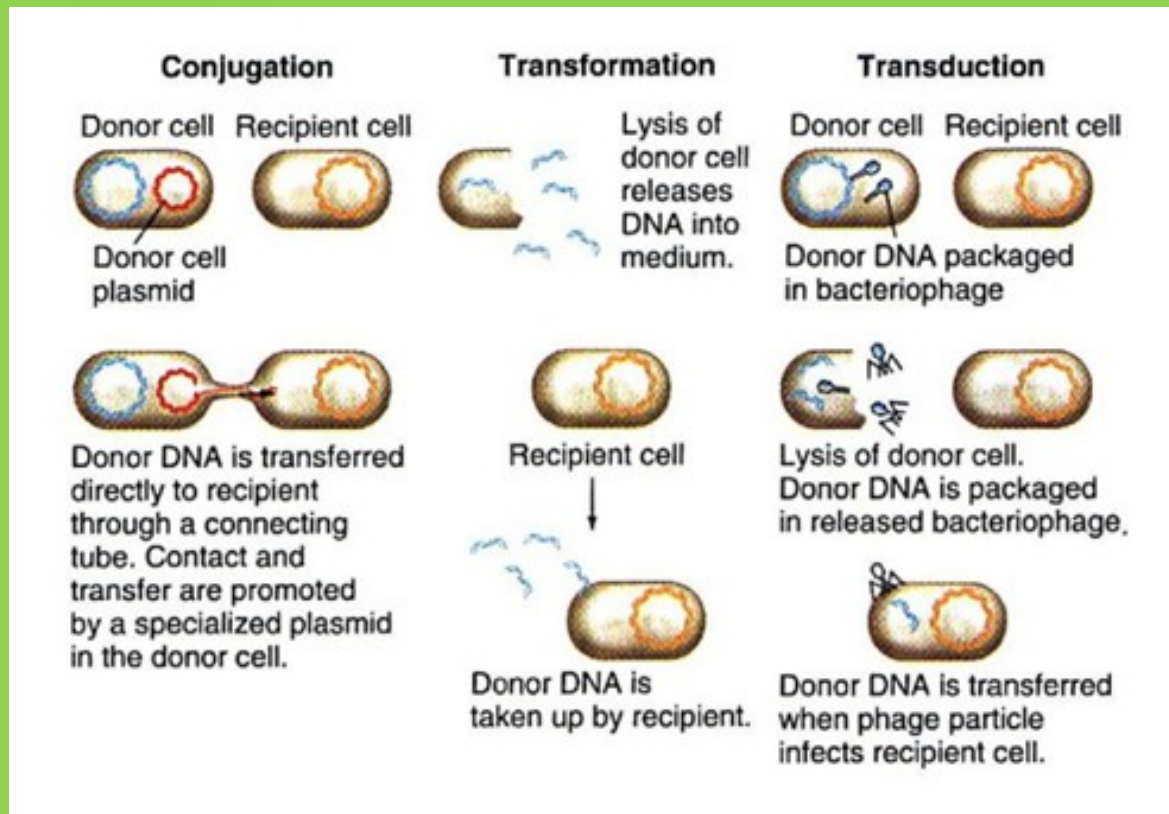


Klasifikace a diverzita mikroorganismů

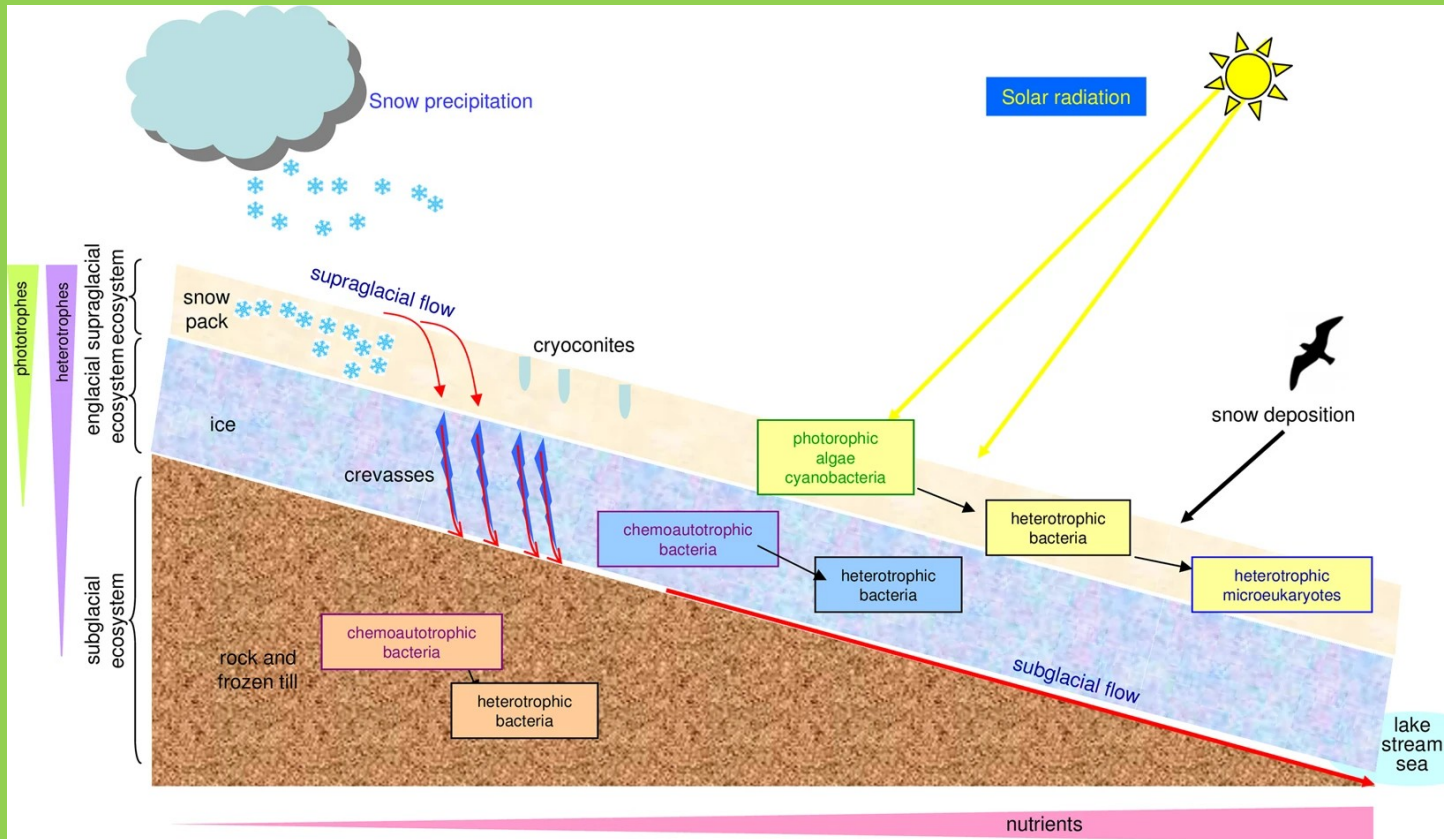
- mikrobi – kosmopolité
 - mikrobiální svět – bakterie, archaea, řasy, protozoa, houby, viry
 - sofistikované metody ke zjištění diverzity mikrobů
 - od 70-tých let rapidní nárůst informací o diverzitě mikroorganismů
 - historicky je mikrobiologie spojována s výzkumem nemocí
 - v rámci podmořského výzkumu dochází k objevení úžasného světa mikrobů v okolí horkých podmořských průduchů – extrémofilové
- ↓
- specializují se na prostředí, kde by ostatní organismy mohly přežít jen stěží
 - vroucí voda v sopečných jezerech, nejvyšší vrstvy atmosféry a podobně
 - některé druhy bakterií jsou dle výzkumů schopny přežít i ve vesmíru, tedy ve vakuu a o teplotě -270 °C

Klasifikace prokaryot

- problém – klasifikace „druhu“ vyšších organismů založena sex.reprodukcí
- mikroby – asexuální, výměna DNA – konjugace, transdukce, transformace
- proto se pro zařazení do systému využívala charakteristika fenotypu, případně funkčních skupin (metabolismus)



- molekulární přístup založen na studiu diverzity pomocí podobnosti 16S rRNA
- mol. taxonomie je založena na poměru DNA-DNA reasociace genomu a stejném poměru G-C bází (obv. 97% podobnost = stejný druh)
- klasifikace p. funkční skupiny



VZNIK A VÝVOJ PROKARYOT

4,5 mld. let – vznik planety Země

3,5 mld. let – první prokaryotní buňky (důkazem usazené stromatolity, první bakterie: heterotrofní, anaerobní, termofilní)

3,0 mld. let – anoxygenní fotosyntéza

2,5 mld. let – oxygenní fotosyntéza (ozón = ochrana před UV, to rozvoj života na souši)

2,0 mld. let – aerobní respirace (efektivnější produkce energie)

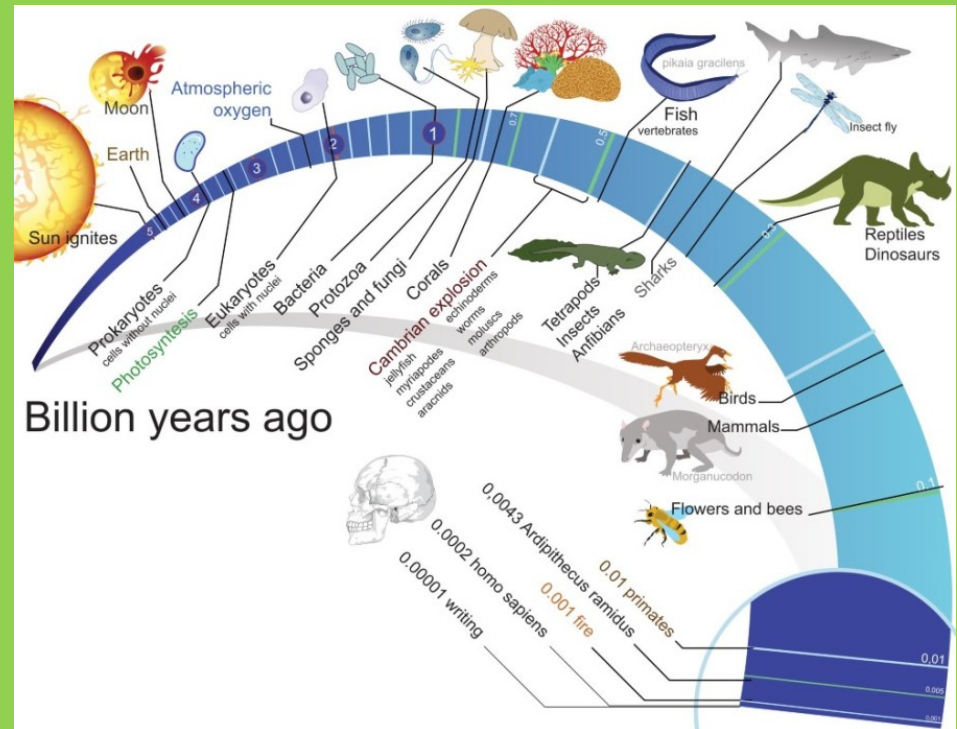
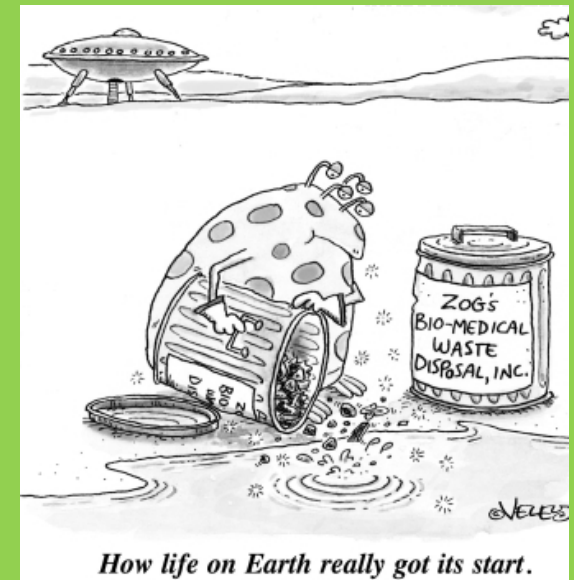
1,5 mld. let – první eukaryotické buňky (endosymbióza)

0,6 mld. let – mnohobuněčnost

0,5 mil. let – člověk

rozdělení na základě:

1. typu buněčné stěny
2. fylogenetických vztahů
3. funkčních skupin
4. adaptace na přírodní podmínky



Stromy života

na počátku taxonomie se rozlišovaly dvě říše:

- rostliny (Plantae)
- živočichové (Animalia)

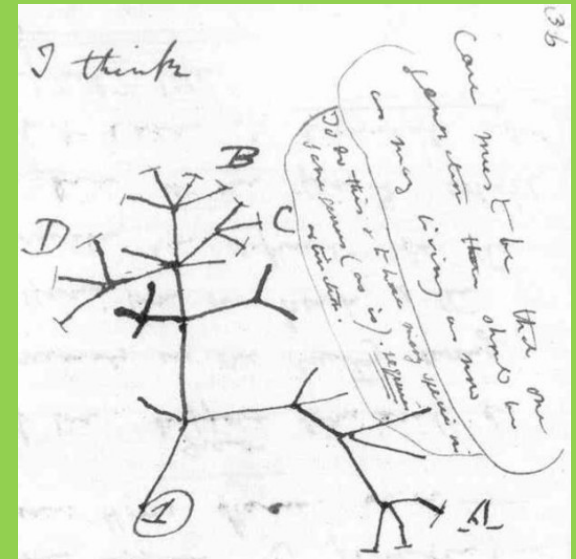
Klasické starší rozdělení organismů je do pěti říší:

- prokaryotní (Monera)
- prvoci (Protozoa)
- rostliny (Plantae)
- houby (Fungi)
- živočichové (Animalia)

současnost: 3 domény

- Archaea, dříve Archaeobacteria (Woese and Fox)
- Bacteria, dříve Eubacteria
- Eukarya, Eukaryota
- ...*Candidate Phyla Radiation*???

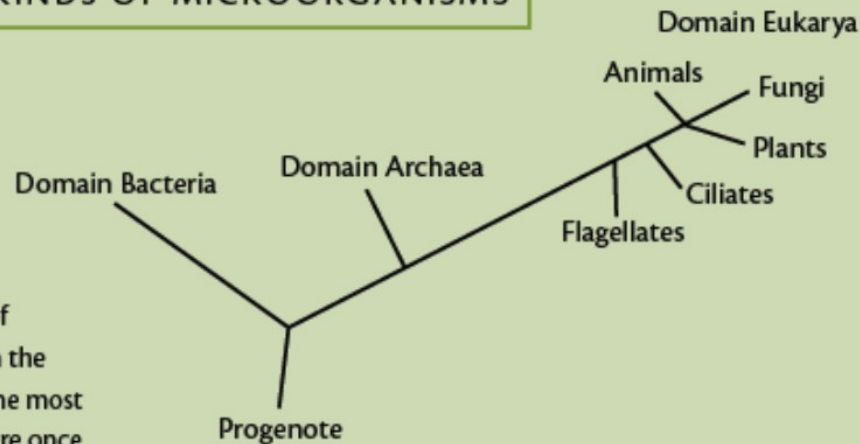
- od r. 2010 se mluví (zatím hypoteticky) o čtvrté doméně, tvoří ji (nebo pozůstatek po ní) skupina jaderně-cytoplazmatických virů s velkou DNA virů, např. rodu Mimivirus

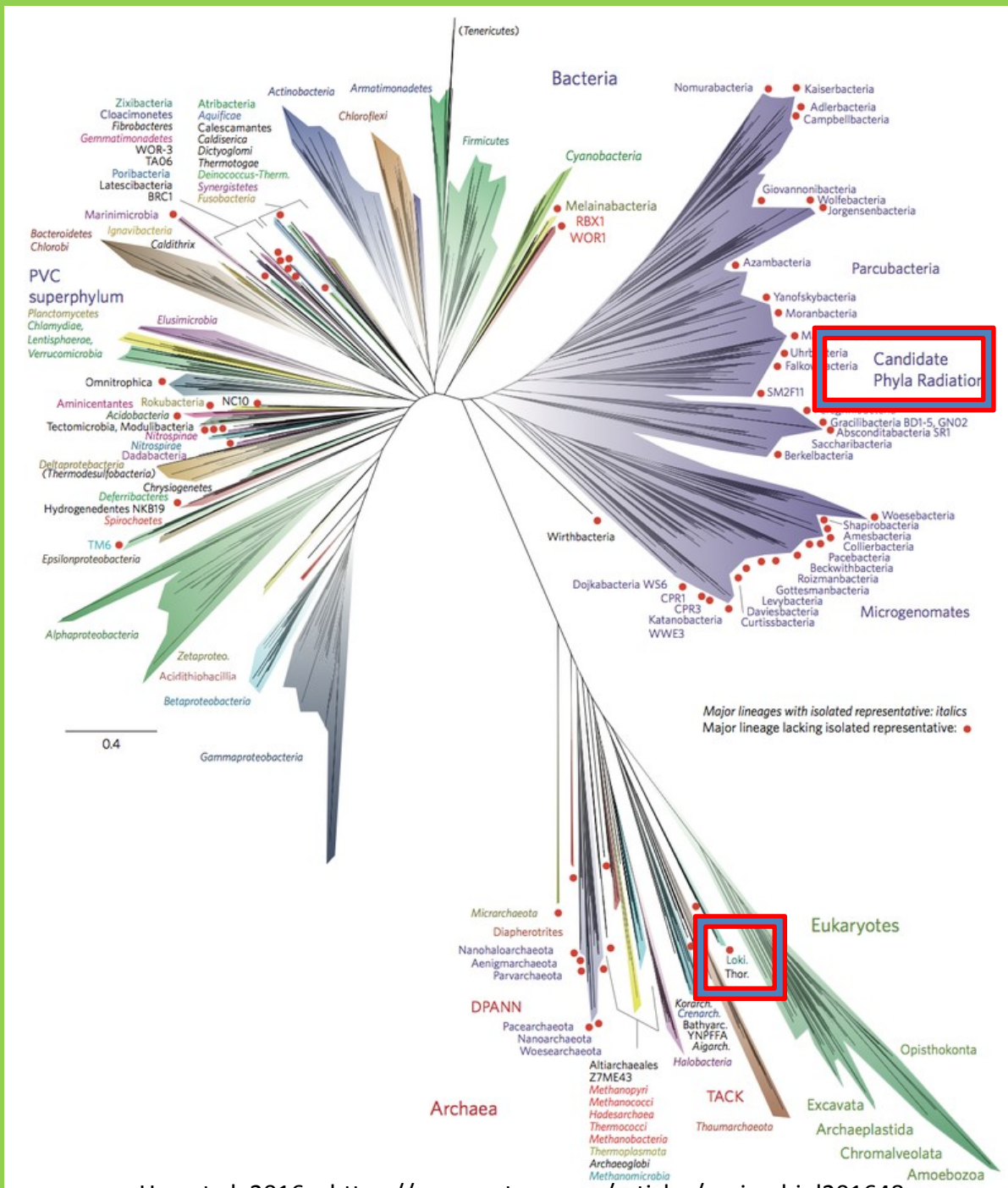


BOX 1. THE KINDS OF MICROORGANISMS

Microorganisms include members of many branches of the tree of life, from the most primitive to the most advanced. What were once simply called "bacteria" have been separated into two distinct domains,

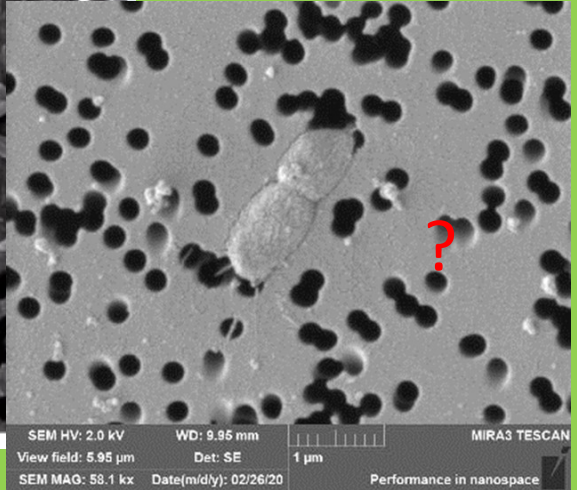
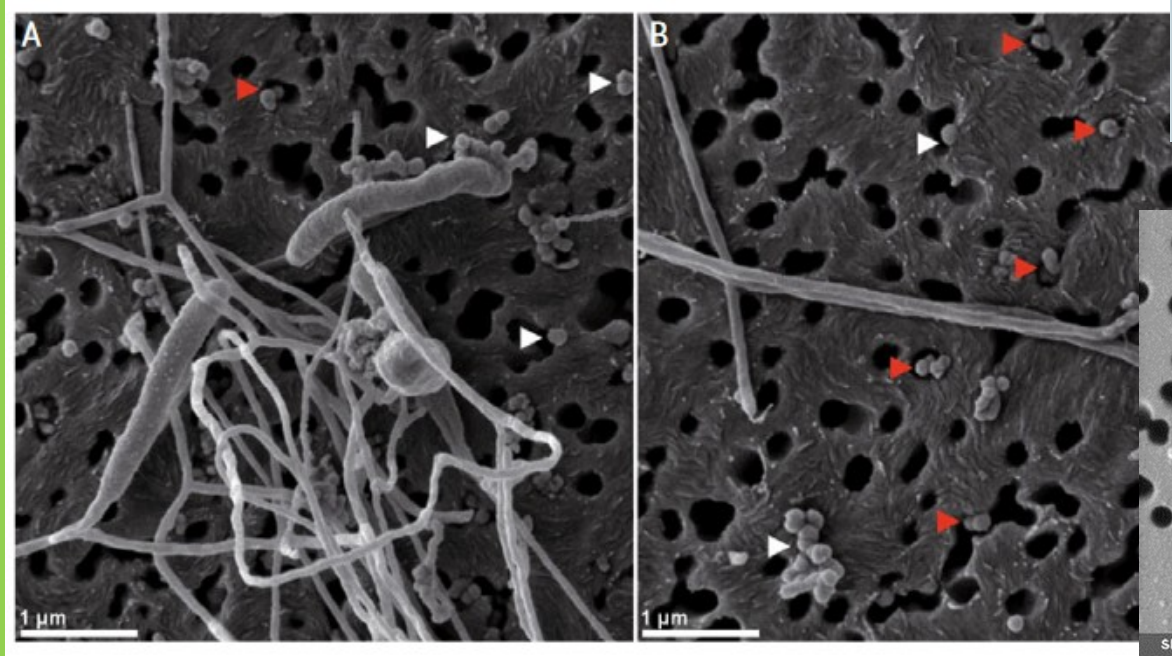
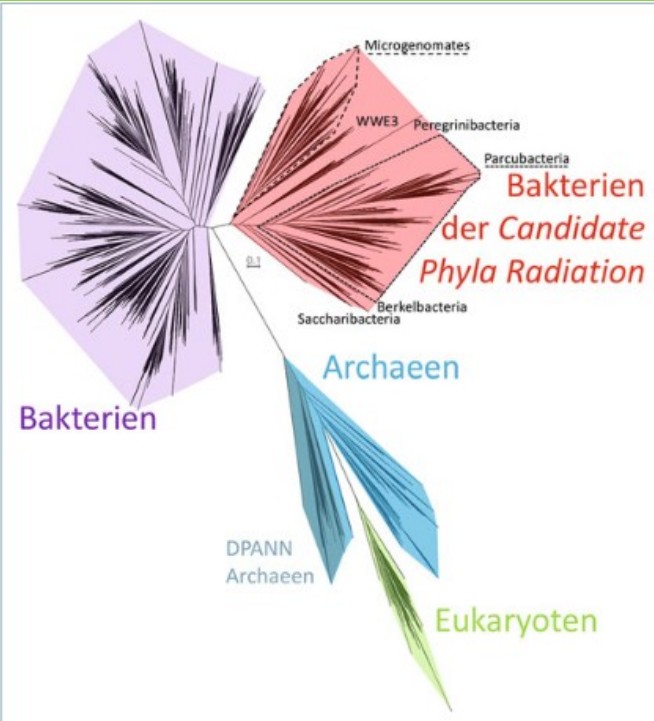
Bacteria and Archaea, initially on the basis of differences in their ribosomal RNA (Woese and Fox, 1977). Archaea look superficially much like bacteria, but their basic biochemistry is very different, in some ways more like that of higher organisms (Domain Eukarya), while in other ways it is unique. This is reflected in their position on the Tree of Life. Some archaea are "extremophiles," living in very hot water and environments that are very salty, acidic, or alkaline. Others live in extreme cold, in anaerobic mud, or in our anaerobic gut, where they outnumber the living cells in our bodies. Protozoa (flagellates and ciliates) and fungi are in the Domain Eukarya along with animals and most of what we call plants.

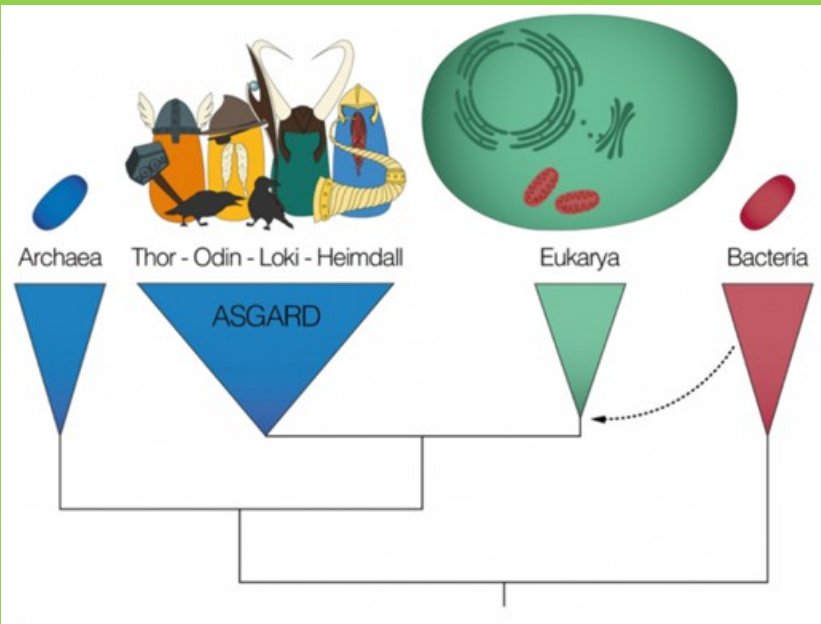




Candidate phyla radiation (CPR)

- kandidát na superphylum
- nekultivovatelné bakterie
- reprezentuje víc než 15% bakt.diverzity
- více než 70 kmenů
- malý genom
- postrádá některé hlavní metab. cesty i ribosomální proteiny
- obligátní symbionti???



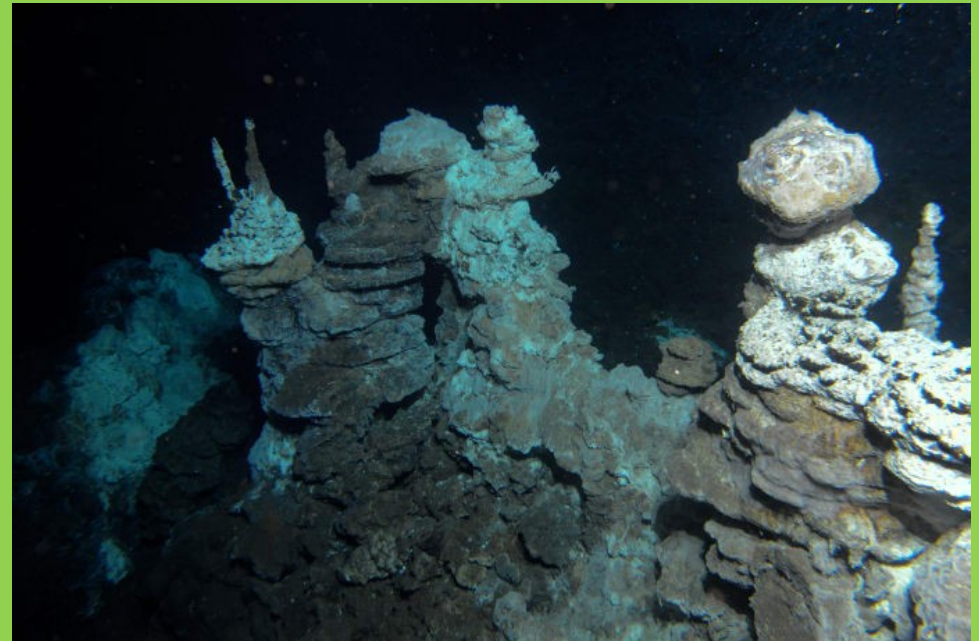


2008 – Lokiho hrad

- 5 komínů, teplota 300 °C
- hromada sulfidových minerálů o průměru asi 250 m a 90 m na výšku
- unikátní mikroorganismy Lokiarchaeota
- mnohem blíže k Eukaryotům než se čekalo

https://www.youtube.com/watch?v=d_yqE7VIAyw

<https://www.youtube.com/watch?v=xywO4j7k2g8>



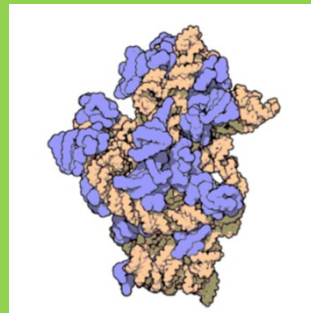
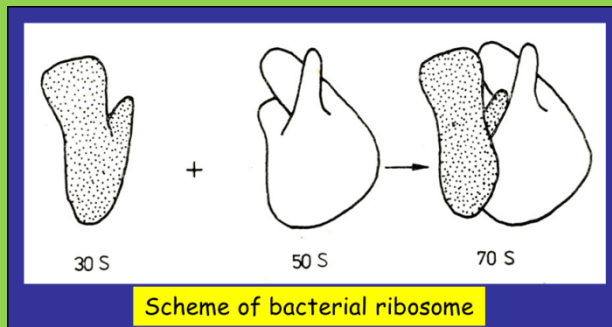
Sekvenace „SSU“

- 1977 Woese and Fox – na základě sekvenace ssu navrhuji Archaea jako jednu ze tří linií stromu života
- 1999 – uvedeno v praxi
- 16S a 18S SSU geny nejčastěji používaný marker napříč různým prostředím
- univerzální, konzervativní, snadná sekvenace
- odhaluje nekultivovatelné organismy -většina!!!
- expanze odhalené diverzity

Table 1.1 Comparison of ribosomal RNA (rRNA) composition of prokaryotes and eukaryotes

	Prokaryotes	Eukaryotes
Overall size	70S	80S
Small subunit	30S subunit 16S rRNA (1500)	40S subunit 18S rRNA (2300)
Large subunit	50S subunit 5S rRNA (120) 23S rRNA (2900)	60XS subunit 5S rRNA (120) 5.8S rRNA (160) 28S rRNA (4200)

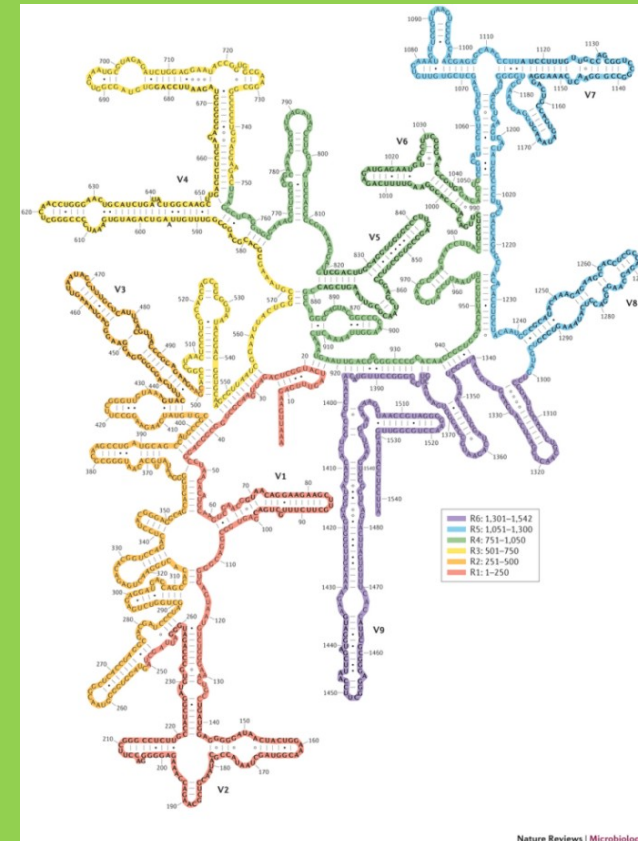
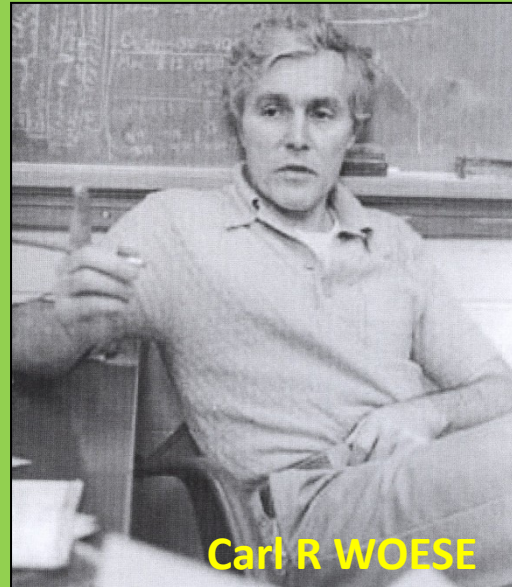
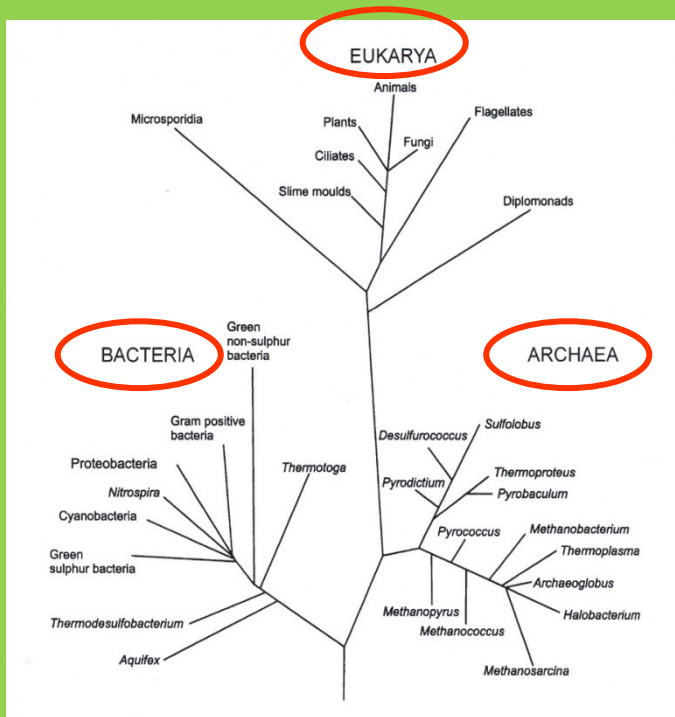
Number of bases in parenthesis. Modified after Madigan *et al.* (2003).



Atomová struktura 30S ribozomální podjednotky *Thermus thermophilus*, které je 16S rRNA součástí - proteiny jsou modré, oranžově SS RNA.

CR WOESE 1977

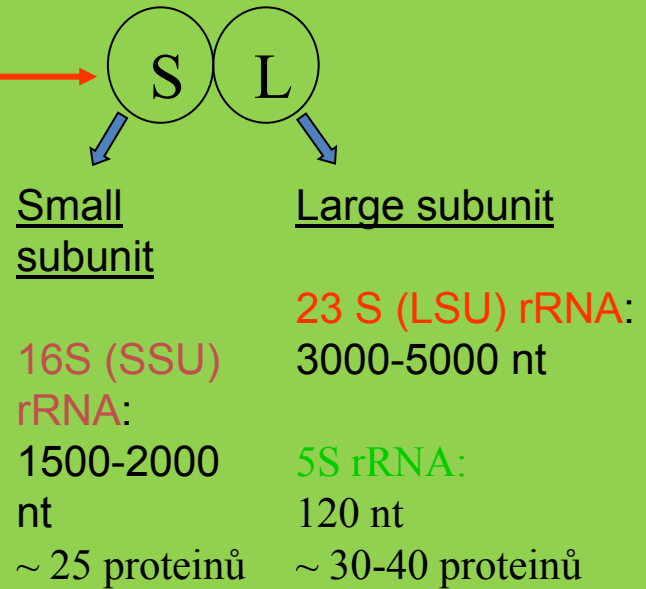
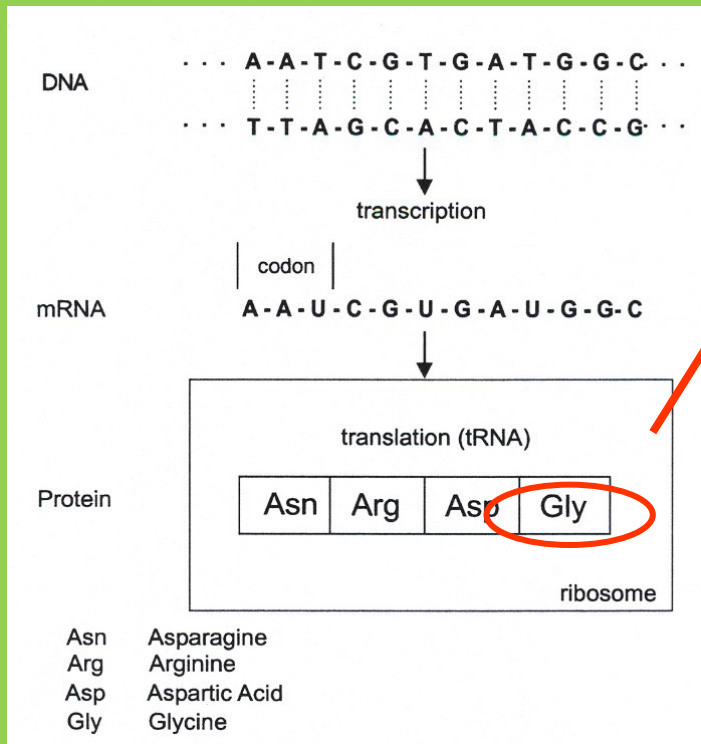
„ fylogenetický strom založený na sekvencích molekul rRNA“



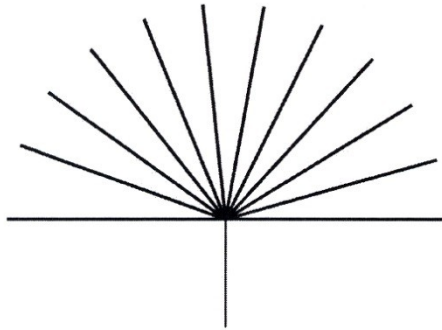
→ 5S rRNA – příliš malý počet počet nukleotidů (~ 120)... → 16 (18)S rRNA

Ribozomální RNA (rRNA)

- a) přítomnost ve všech organismech
- b) syntéza proteinů
- c) vysoce konzervativní úseky

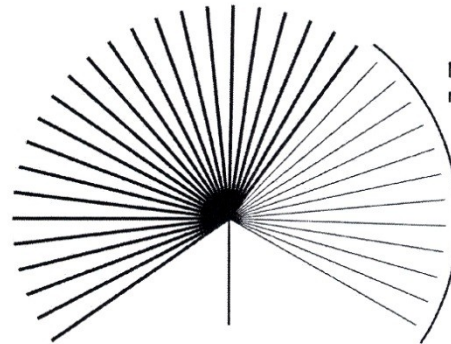


Bacterial Diversity



1987

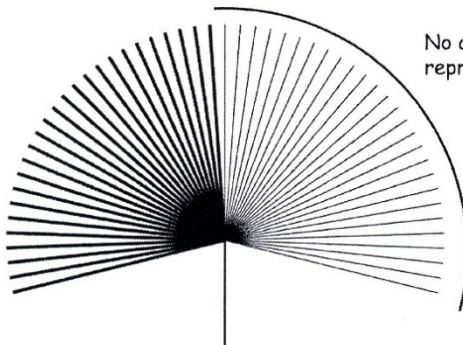
(12 divisions; 12 cultured/ 0 candidate)



1997

(36 divisions; 24 cultured/ 12 candidate)

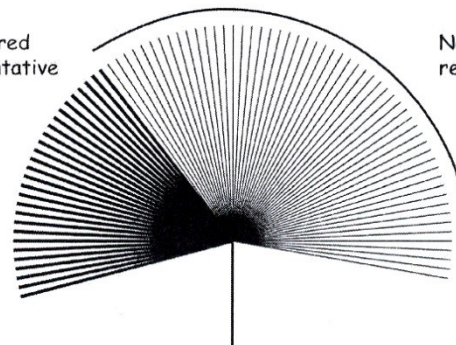
No cultured
representative



2003

(53 divisions; 26 cultured/ 27 candidate)

No cultured
representative



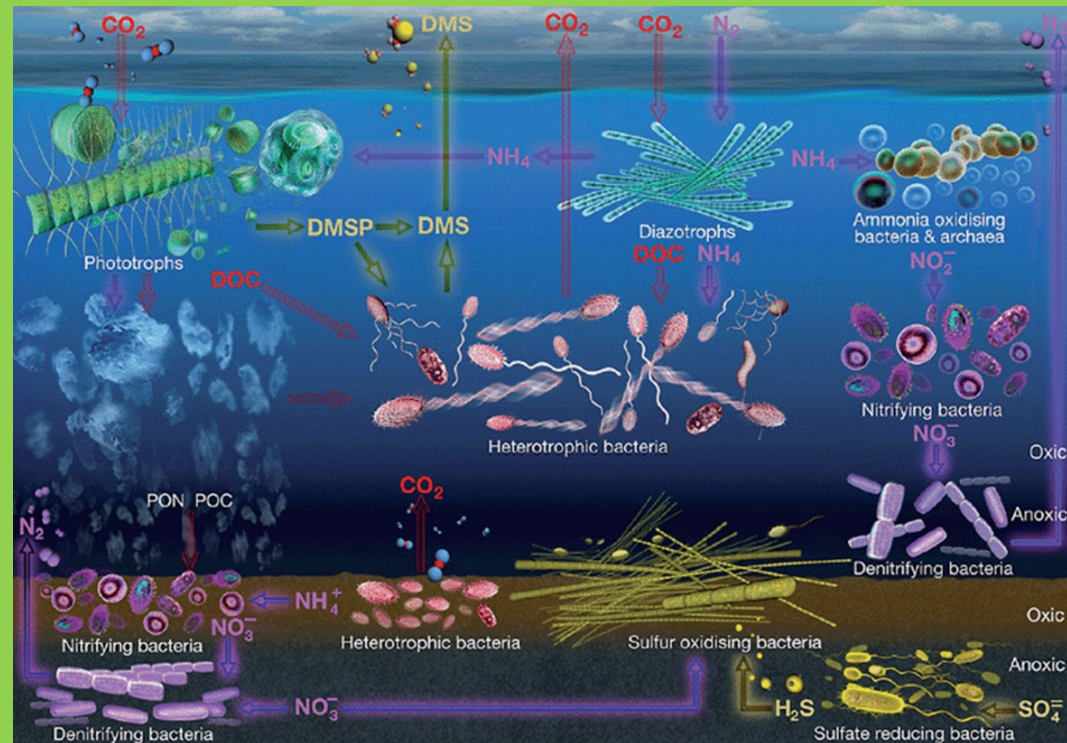
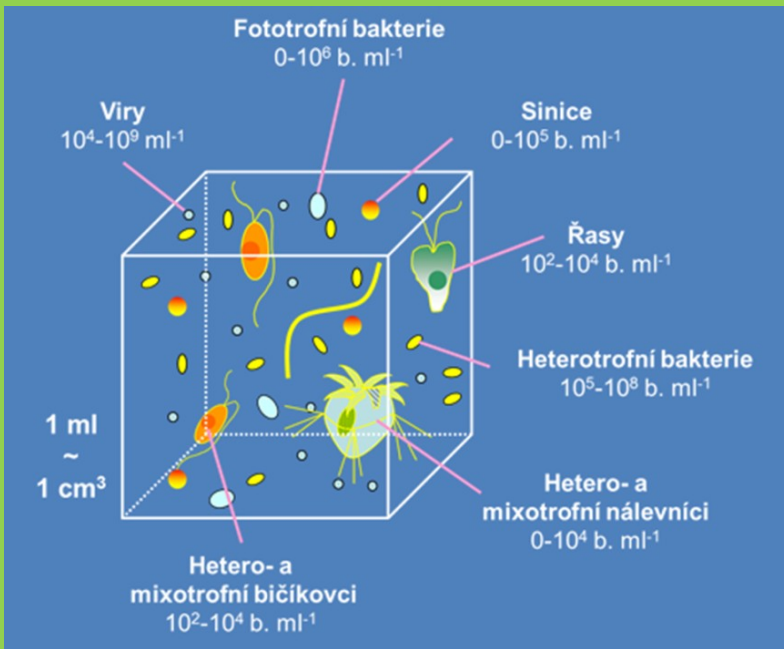
2004

(~80 divisions; 26 cultured/ ~54 candidate)

No cultured
representative

Diverzita bakterií

- bakterie jsou nejrozšířenější skupinou organismů na světě
- se odhaduje, že na Zemi žije asi 5×10^{30} (jedinců) bakterií
- celkový počet druhů se dá jen tušit, odhady sahají od 10^7 k 10^9 druhů
- bakterie je možné nalézt v půdě, vodě, ovzduší i jakožto symbionty uvnitř a na povrchu mnohobuněčných organismů
- 40 mil b./ g půdy, 1 mil b. /ml sladké vody



Rozdělení podle typu buněčné stěny

1. Gram **negativní**: dominantní skupina sladkých vod i oceánů
2. Gram **pozitivní**: více časté v půdě (i sladké vody- *Actinobacteria*)

Gram je způsob barvení pojmenované po dánském fyziologovi H. C. J. Gram (1853-1938)

→ používá se spíše v klasické mikrobiologii, nikoli v mikrobiální ekologii

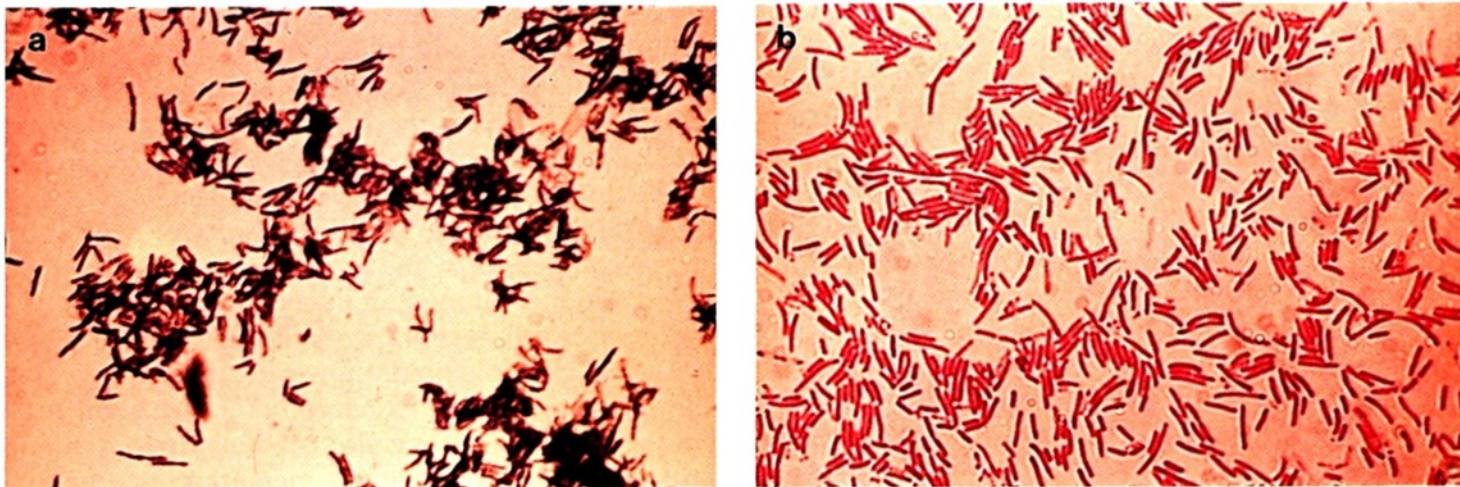


FIGURE 2.13 Typical gram-positive (blue) and gram-negative (red) bacteria identified by the Gram stain.

G⁺ = modro-fialová barva (crystal violet) G⁻ = červená barva (safranin)

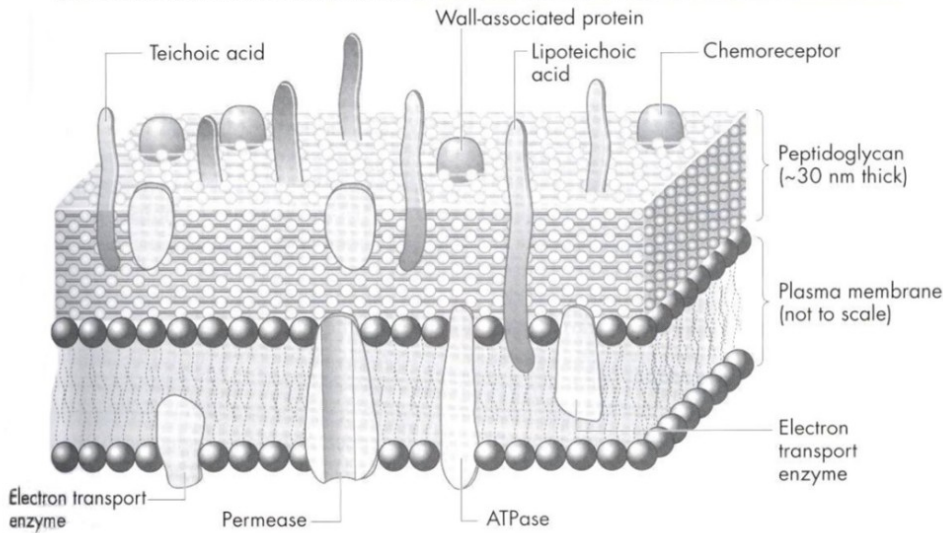
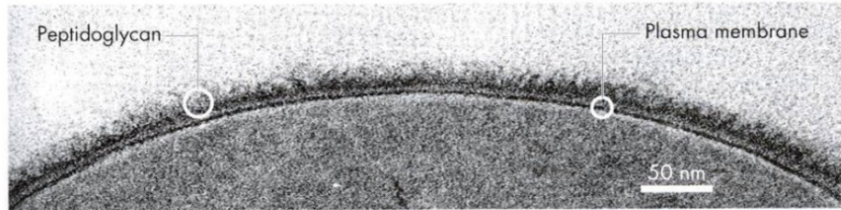


Figure 3.2 (A) A TEM image of a *Bacillus subtilis* cell wall (courtesy of Terry Beveridge). (B) Representation of the overall structure of a Gram-positive bacterium.

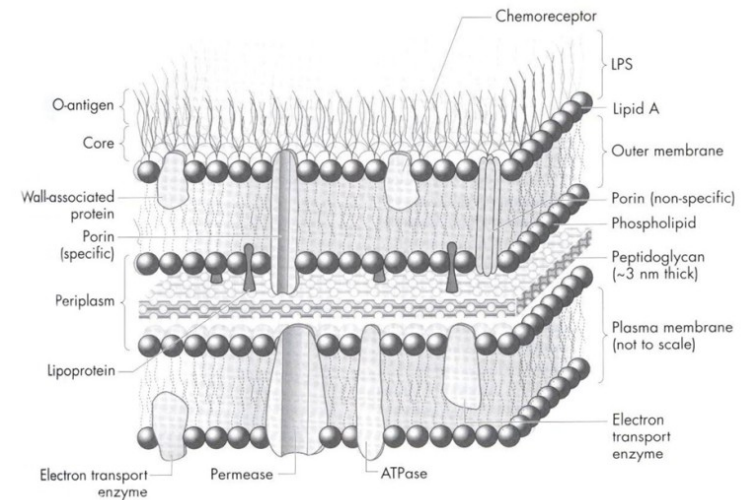
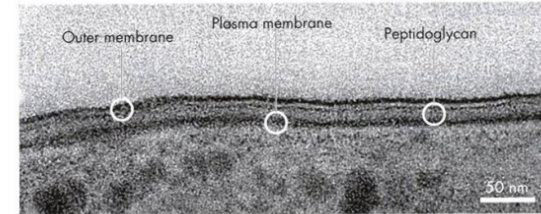


Figure 3.3 (A) A TEM image of a *Synechococcus* PCC7942 cell wall (courtesy of Maria Dittich and Martin Obst). (B) Representation of the overall structure of a Gram-negative bacterium.

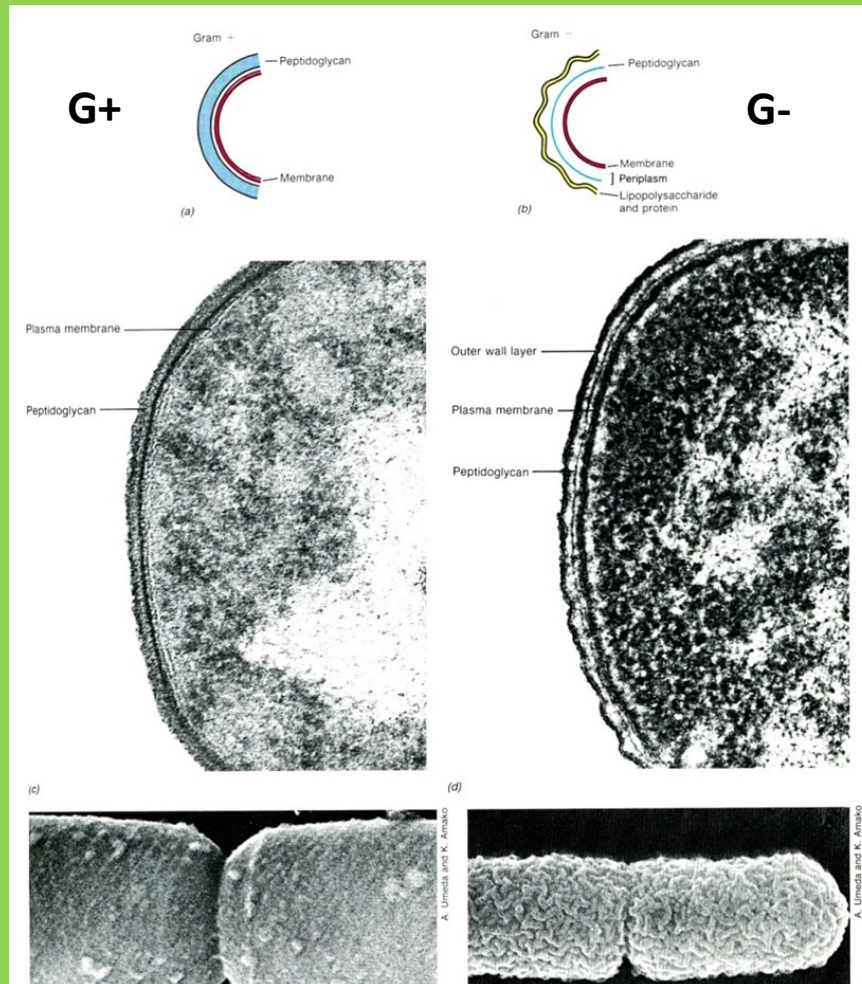
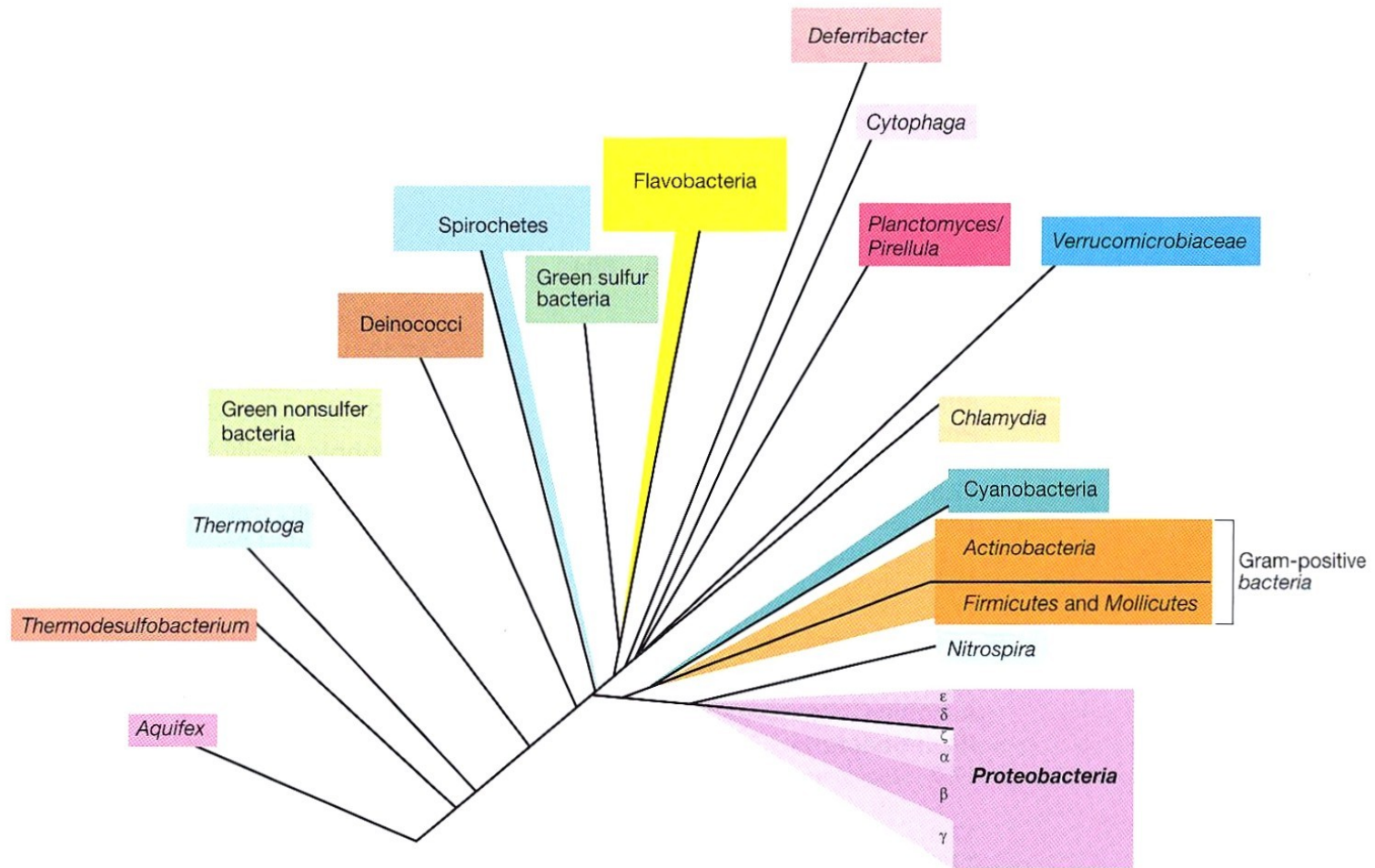


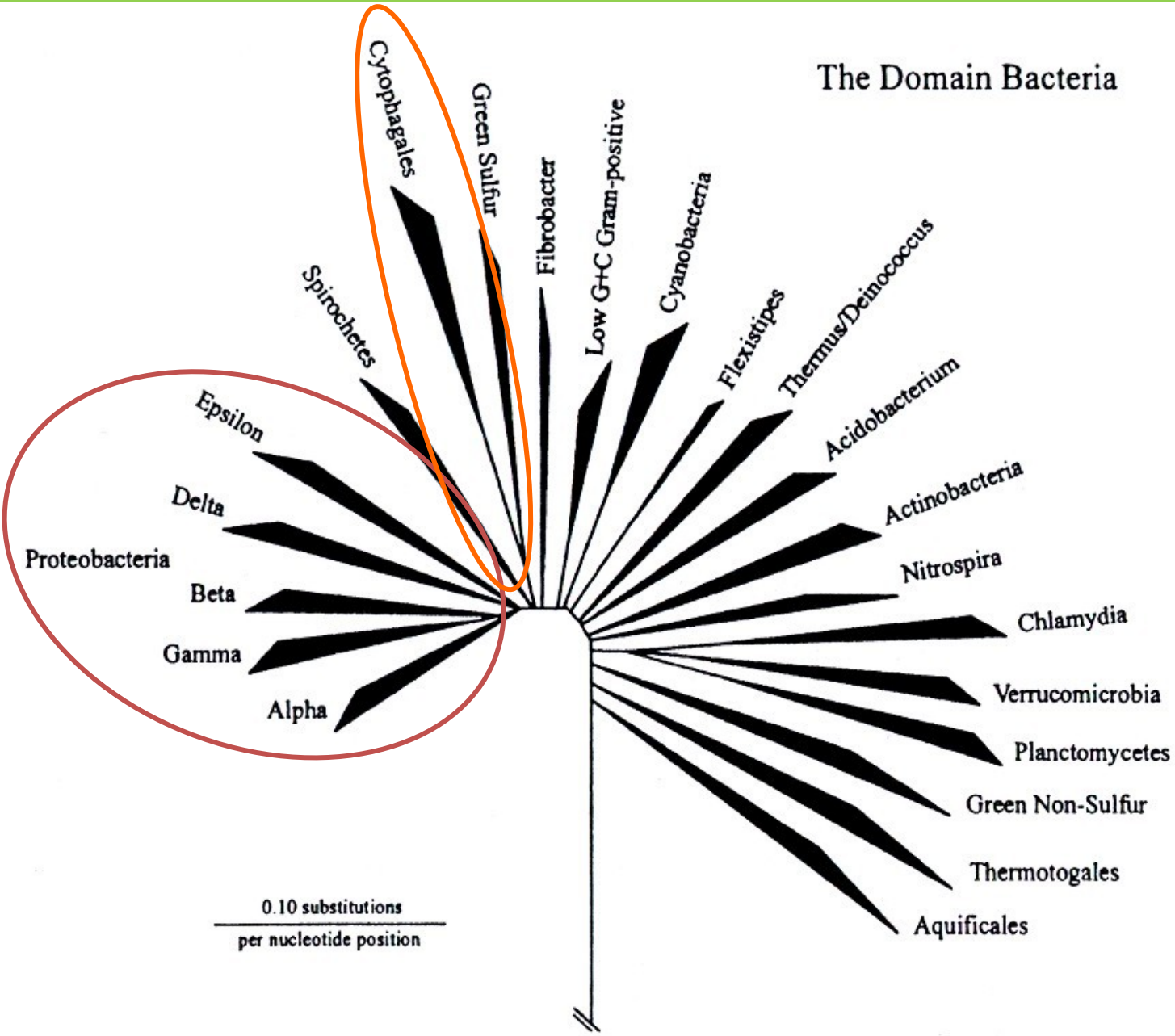
TABLE 3.1 Significant Differences Between Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria

Characteristic	Gram-Negative Bacteria	Gram-Positive Bacteria
Lipids	Much lipopolysaccharide	Very little
Peptidoglycan	Thin layer	Thick layer
Outer membrane	Present	Absent



Evoluce domény Bacteria založená na analýzách 16S rRNA genů vedla k odlišení cca 80 kmenů., včetně kmenů známých pouze z environmentálních sekvencí. Největší kmen, který zahrnuje všechny známé formy mikrobiální fyziologie a patří sem zároveň většina známých bakterií z oblasti medicíny, průmyslu a zemědělství jsou *Proteobacteria* (podle Madigan et al. 2012).

The Domain Bacteria



Alphaproteobacteria

- zahrnují řadu oligotrofů
- symbioticky rostlin i zvířat (r. Rhizobium)
- nebezpečné patogeny (Rickettsiaceae)
- Methylobacterium

Betaproteobacteria

- dominantní složka sladkovodního prostředí
- metabolická diverzita – aerobní, chemolitotrofní, fototrofní
- tendence utilizovat substráty vznikající anaerob. dekompozicí
- patogeny (Neisseriaceae gonorrhoea)

Gammaproteobacteria

- dominantní složky mořské vody a sedimentů
- fenotypově rozmanití zástupci
- foto- i nefotosyntetizující, aero- i anaerobní, hetero- i fototrofní

Deltaproteobacteria

- fenotypově rozmanití zástupci
- chemoorganotrofní b., bakter. predátoři (mixotrofie)
- sulfátové a sulfur- redukující b.

Epsilonproteobacteria

- často mikroaerofilové s bičíkem
- symbionti a paraziti tráv. traktu
- hydroterm. vývěry

Campylobacterales - e.g. Helicobacter

Zetaproteobacteria

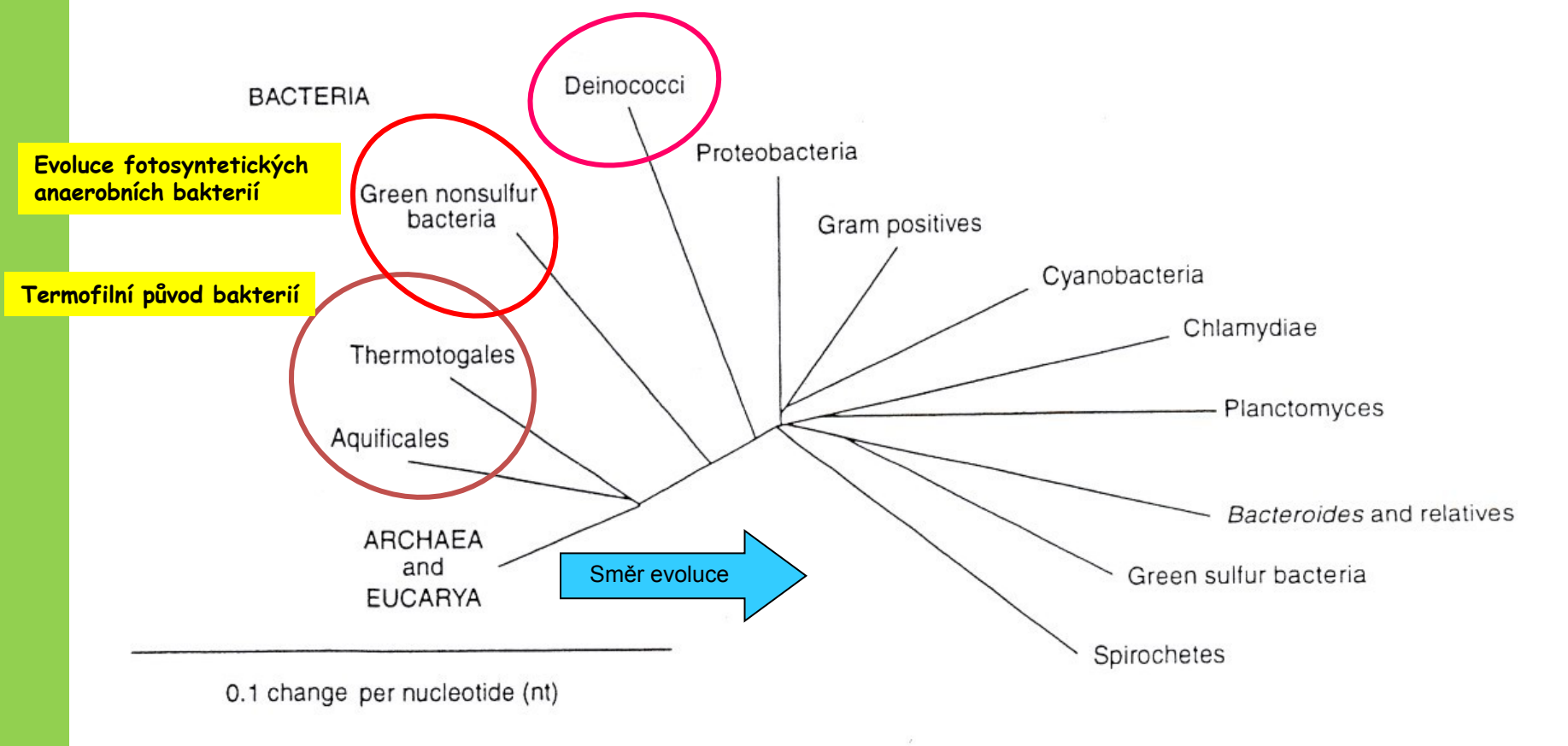
Caulobacterales - e.g. Caulobacter
Rhizobiales - e.g. Rhizobia
Rhodospirillales - e.g. Acetobacter
Rickettsiales - e.g. Rickettsia
Sphingomonadales e.g. Sphingomonas

Burkholderiales
Hydrogenophilales
Methylophilales
Neisseriales - e.g. Neisseria
Nitrosomonadales

Aeromonadales - e.g. Aeromonas
Alteromonadales - e.g. Pseudoalteromonas
Chromatiales - purple sulfur bacteria
Enterobacteriales - e.g. Escherichia
Legionellales - e.g. Legionella
Methylococcales
Pasteurellales - e.g. Haemophilus
Pseudomonadales - e.g. Pseudomonas
Thiotrichales - e.g. Thiomargarita
Vibrionales - e.g. Vibrio
Xanthomonadales - e.g. Xanthomonas

Bdellovibrionales - e.g. Bdellovibrio
Desulfobacterales
Desulfovibrionales
Desulfurellales
Desulfarcales
Desulfuromonadales - e.g. Geobacter
Myxococcales - Myxobacteria
Syntrophobacterales

Vysoká rezistence k záření

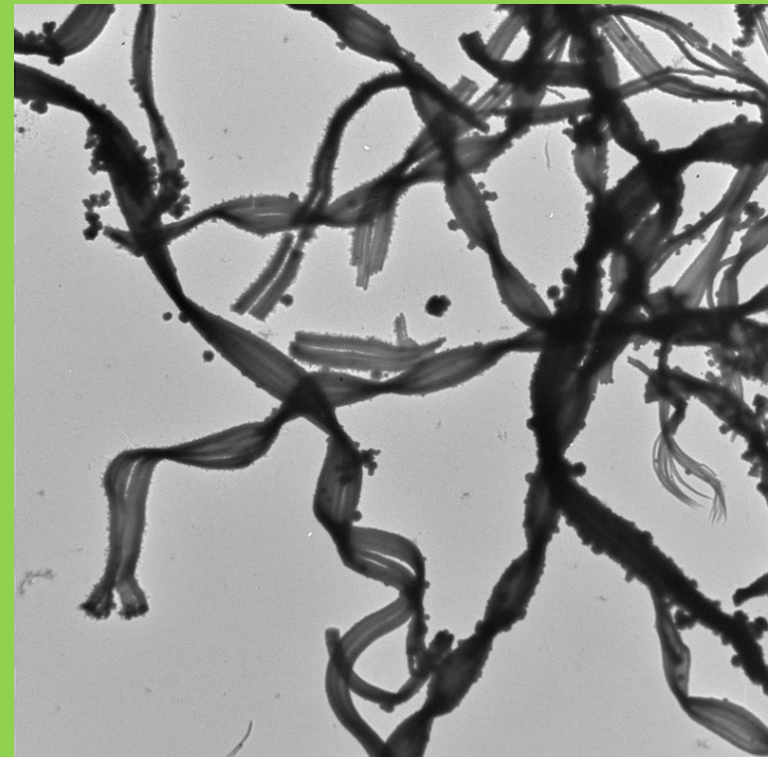
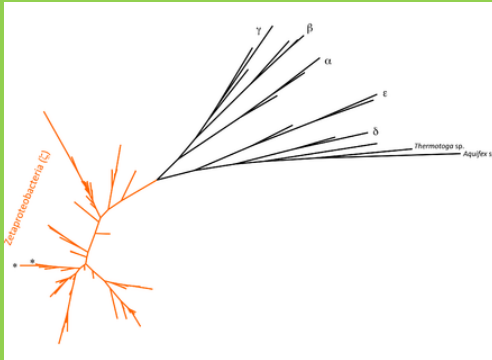


V evoluci Bacteria vzniklo minimálně 12 rodokmenů (říší) rozmanitých fotosyntetických, chemoautotrofních a heterotrofních forem

Zetaproteobacteria

2007 - objev *Mariprofundus ferrooxydans*

- neutrofilní, chemolitotrofní – oxiduje železo, gram neg. bakterie
- izolováno ze společenstva hydrotermálních průduchů podmořské sopky
- okolí bohaté na železo

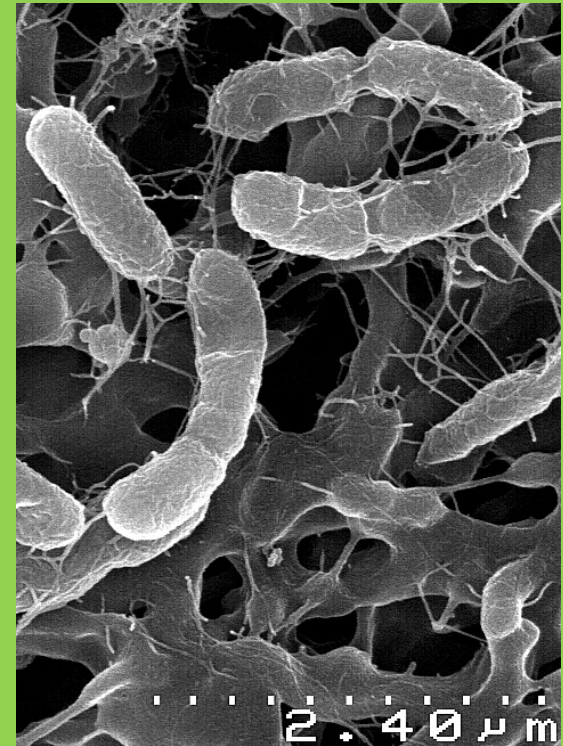


PV1C6j.tif
PV-1 culture 9/14/06
Print Mag: 7990x @ 7.0 in
12:02 10/05/06

2 microns
HV=80kV
Direct Mag: 2790x
X: Y:

Aquificales aneb někdo to rád horké

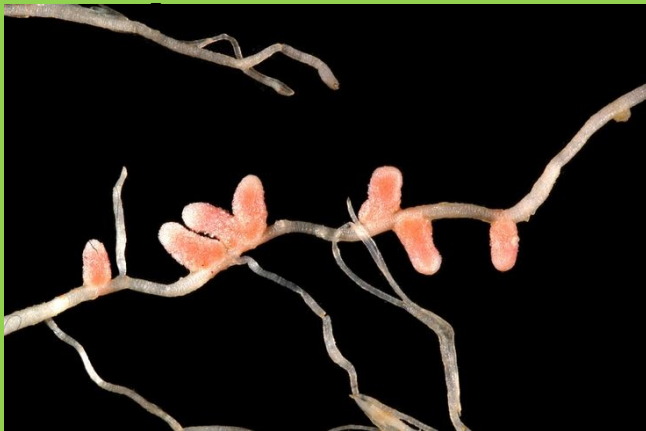
- *Aquifex* - vřídla, sirné nádrže či hlubokomořské komíny (prostředí jinak typické pro archaea) autotrofové, konkrétně chemolitoautotrofové
- energii získávají oxidací vodíku, síry nebo thiosulfátu pomocí kyslíku nebo dusičnanu



Bakterie fixující dusík

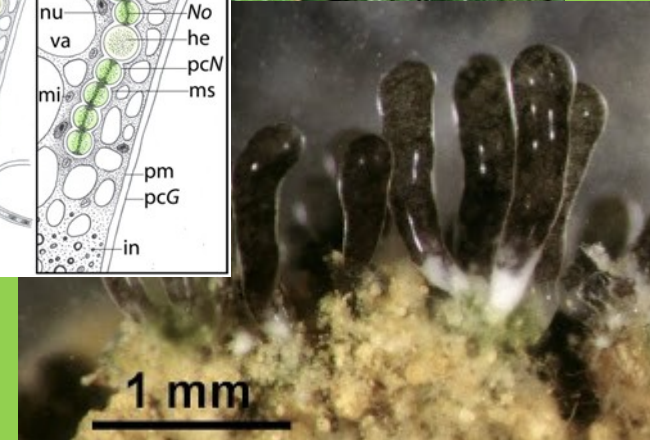
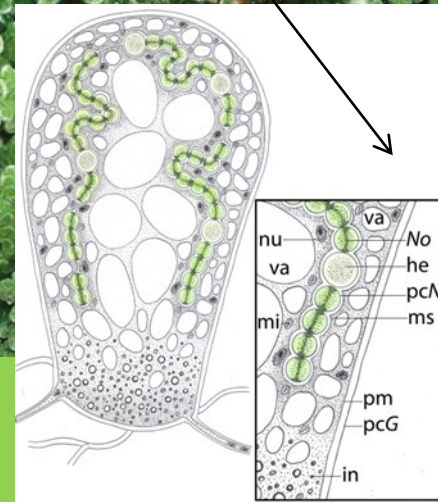
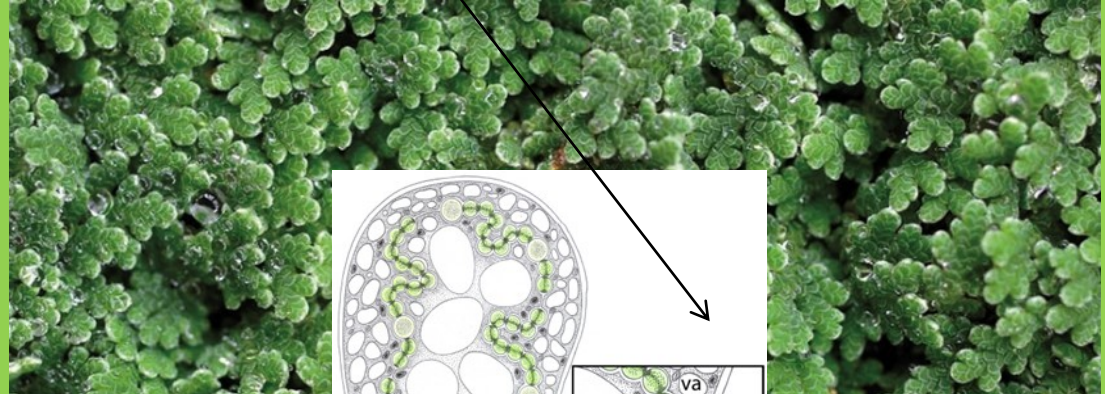
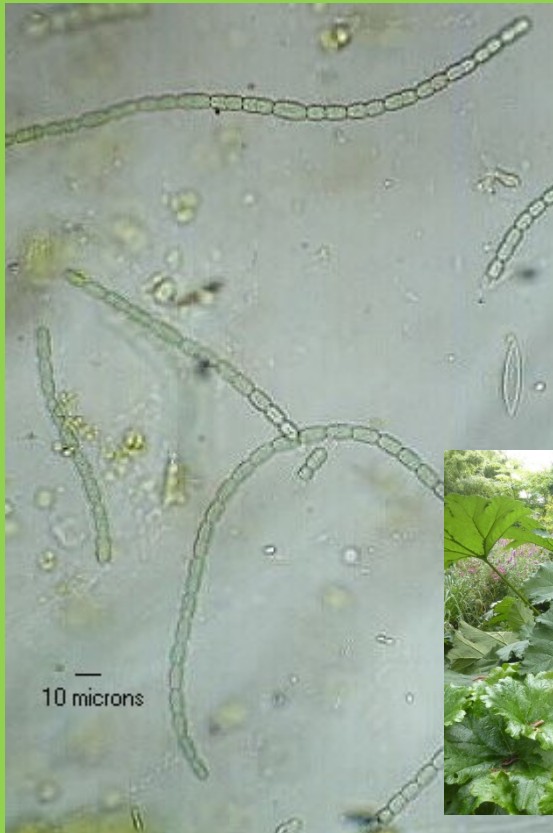
- zásadní role v ekosystému, energeticky náročný proces
- dusík využíván pro růst řadou organismů (vč. mikroorg.)
- diverzita od sinic přes *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Chromatiales*, *Chlorobiales* (zel.sir.b.) po spirochety...
- enzymatický komplex- nitrogenáza
- volně nebo v symbióze s eukaryoty, kterým poskytuje dusík – rostliny, živočichové, houby
- př. spirochety– extra i intracelulární symbióza s termity
- sinice a houby – lišejníky (*Nostoc* v symbióze má více heterocyst než volně žijící)

- hospodářský význam – klíčový pro rozvoj zemědělství, obrovský ekonomický dopad
- min. 44 druhů luštěnin má symbiozu s N-fixátory
- podíl na koloběhu prvků, kosmopolitní rozšíření...



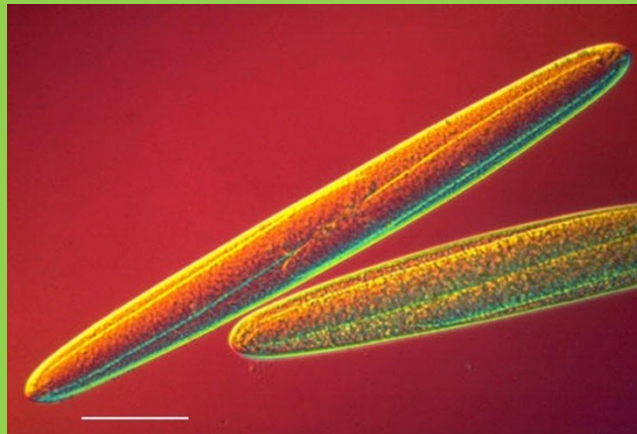
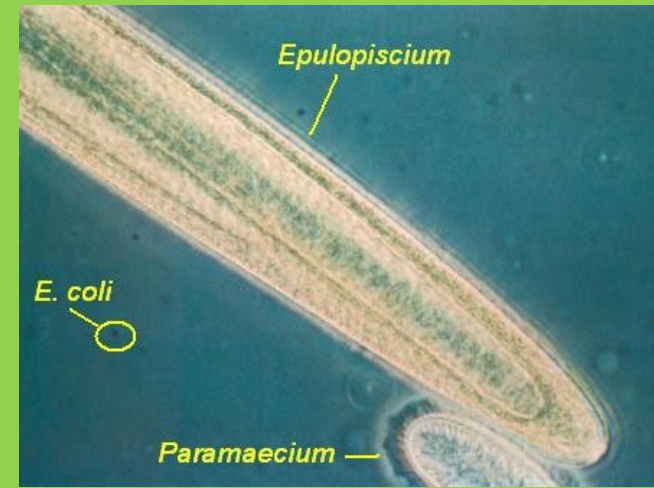
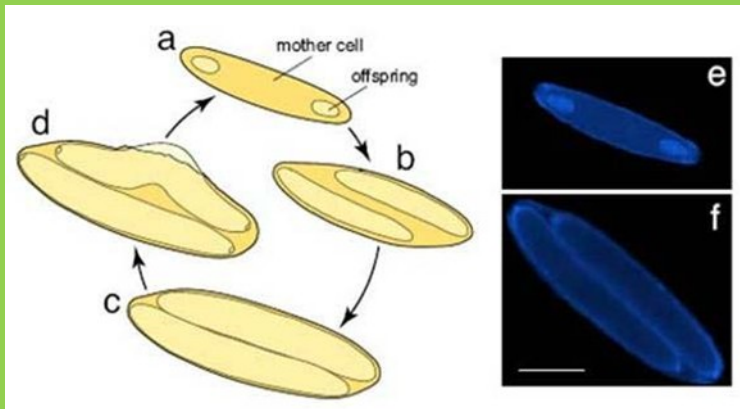
Jednořadka (Nostoc)

- fixuje dusík
- sinic, kulovité nebo beztvaré kolonie složené z vláken v rosolovitém obalu
- tvoří akinety
- vlhké skály, dna jezer a kaluží, vzácně i ve slané vodě
- také žije symbioticky uvnitř tkání rostlin (*Azolla*, hlevík, *Gunnera*, cykasy...)
- arbuskulární mykorrhizy s houbou *Geosiphon pyriformis*



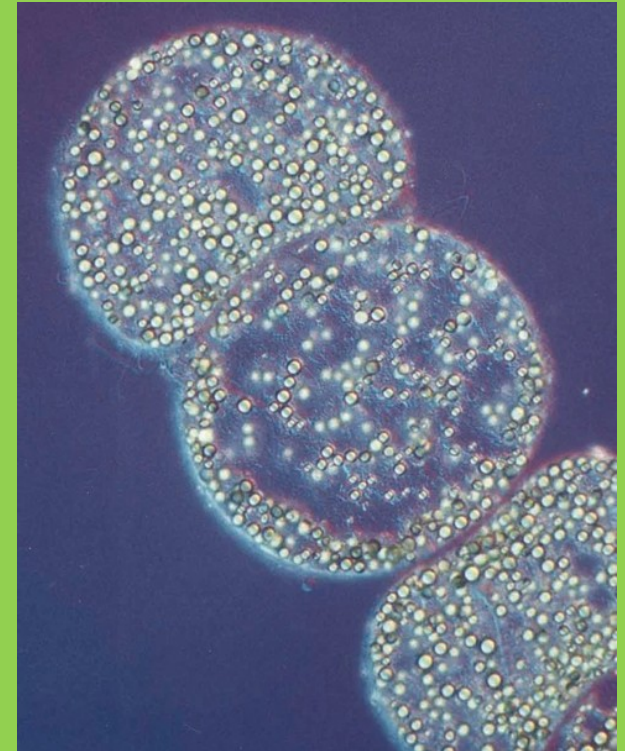
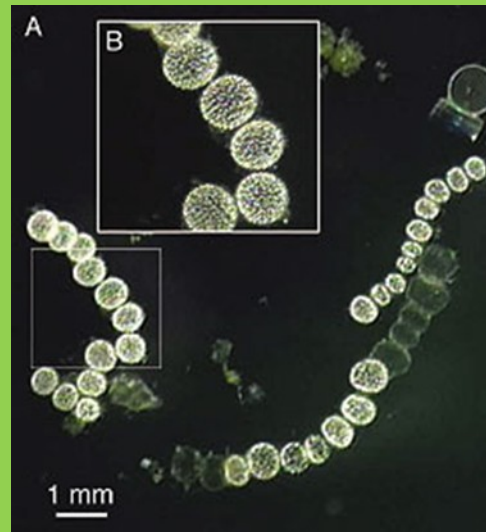
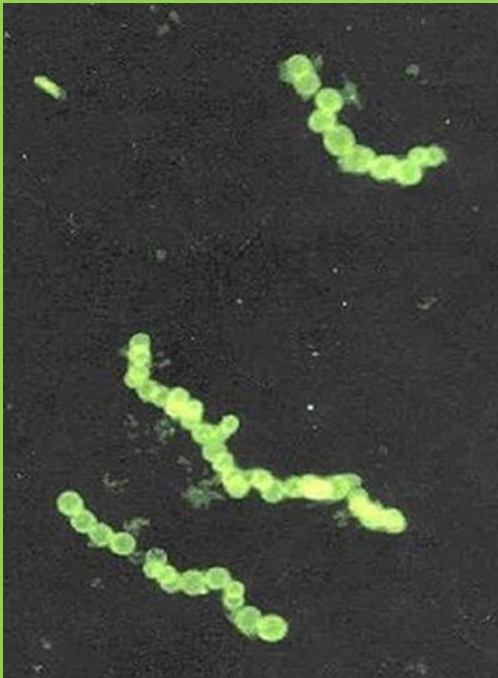
Epulopiscium fishelsoni

- je grampozitivní bakterie z kmene *Firmicutes*
- symbiotický vztah s rybami z čeledi *Acanthuridae* (bodlokovití, ryby „čističi“)
- 200–700 μm na délku a asi 80 μm v průměru
- extrémní polyploidie
- forma viviparie
- 1-12 buněk rostou uvnitř rodičovské b., dokud se nerozpadnou
- reprodukuje se také binárním dělením a tvorbou spor



Thiomargarita namibiensis neboli Sírová perla Namibie

- G- proteobakterie
- sedimenty kontinentálního šelfu
- největší bakterií, která kdy byla objevena (1999)
- schopna používat dusík jako akceptor v transportním řetězci elektronů
- oxiduje sírovodík (H_2S) na elementární síru (S)
- sírová bakterie zadržující dusičnany pro případ nedostatku - jako balon = velikost
- „Perla“ - zrnka síry v ní odrážejí světlo
- spojení síry a dusičnanů by mohlo mít zvláštní význam pro životní cykly na Zemi
- mohou být fakultativně anaerobní – možná reakce s kyslíkem



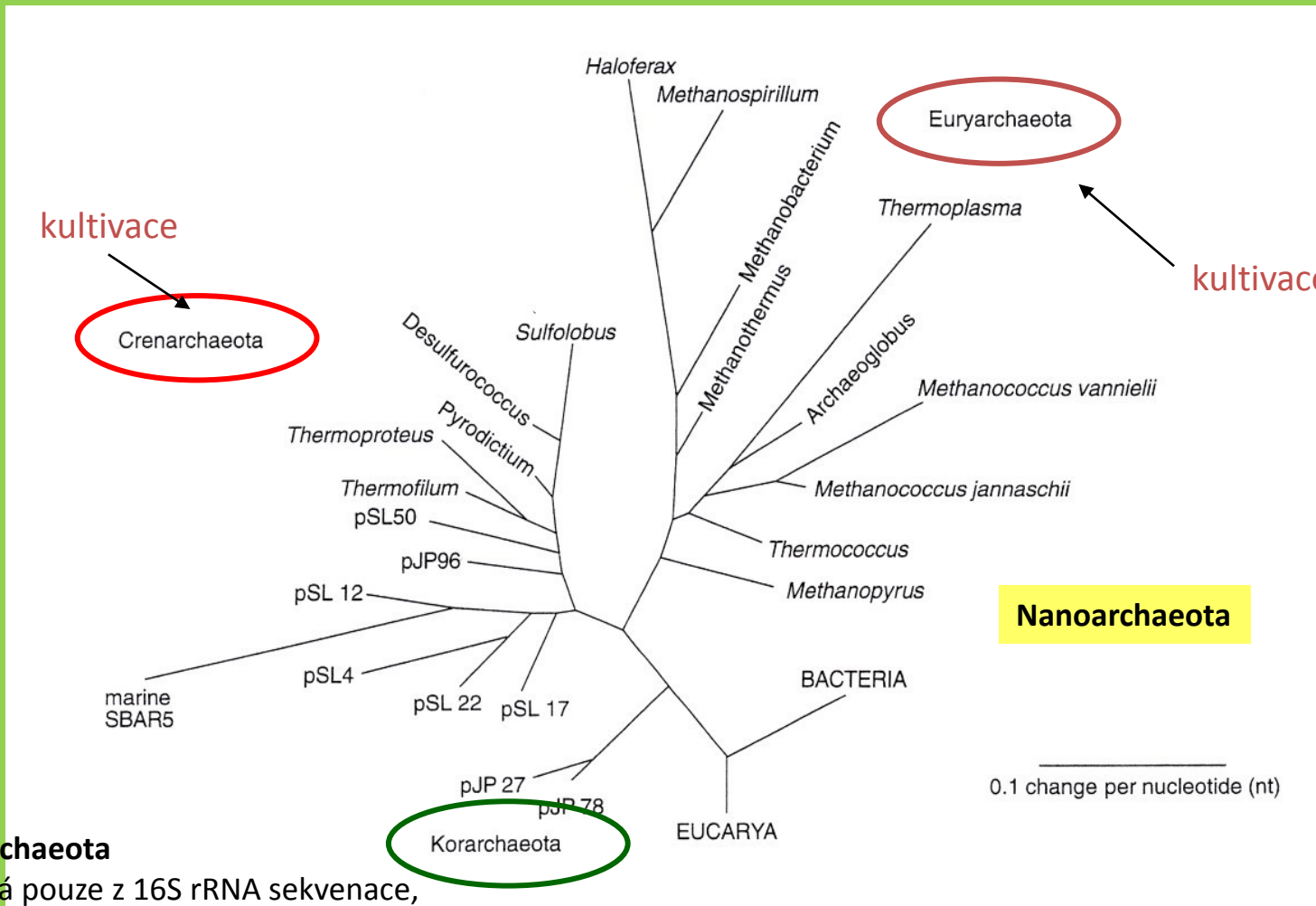
Diverzita Archaea

- v 70. letech – 2 známé kmeny, kultivovatelné, pouze extremofilové a metanogeny
- od 90. let – exploze dat díky sekvenaci, archaea téměř všude
- nekultivovatelnost = minimální informace o metabolismu a životnímu stylu
- častý typ metabolismus založený na vodíku
- některé ekotypy mohou být i chemoorganotrofní a hrají důležitou roli v koloběhu dusíku a uhlíku
- známá spojitost s onemocněním dásní
- dobře prozkoumané jsou metanogeny, hypertermofilové, halofilní archaea

Evoluce Archea – Crenarchaeota, Euryarchaeota, Korarchaeota a Nanoarchaeota

Crenarchaeota (eocytes) – extremotermofilové
nejvíce zastoupená archaea v moři, gram negativní barvení

Euryarchaeota – methanogeny,
halofilové, extrémní termofilové



kultivace

Crenarchaeota

kultivace

Nanoarchaeota

Nanoarchaeota
nejmenší známé
archaea –
hypertermofilní
symbiont

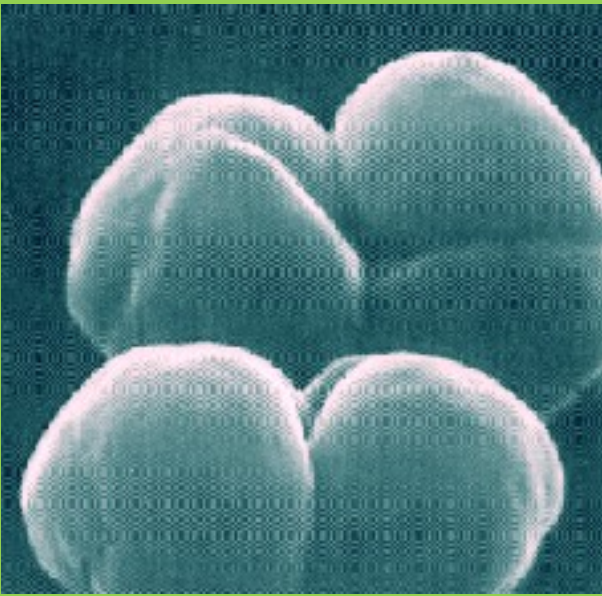
0.1 change per nucleotide (nt)

podle Barns et al. 1996

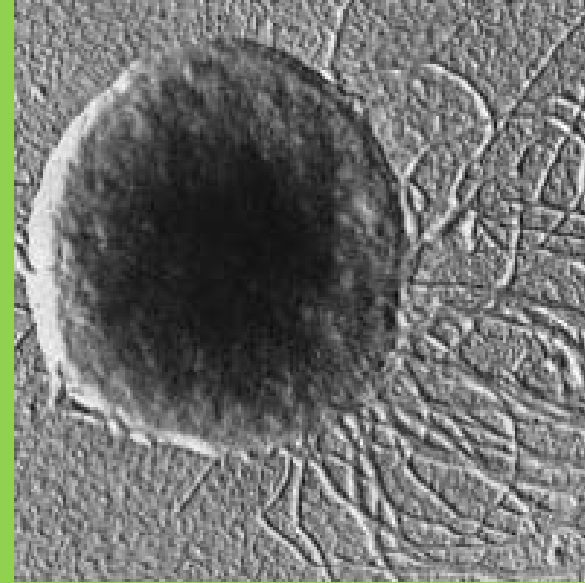
Korarchaeota

známá pouze z 16S rRNA sekvenace,
hydrotermální průduchy, extratermofilové
metabolické procesy neznámé

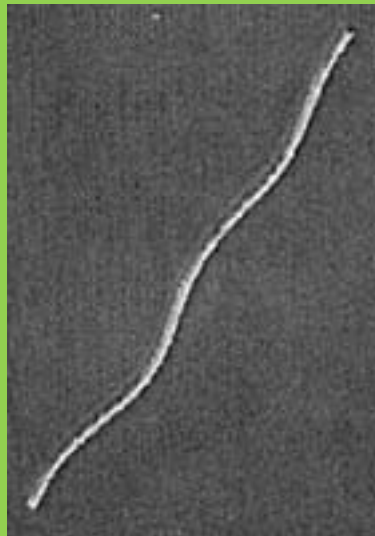
ARCHAEA – tvary buněk



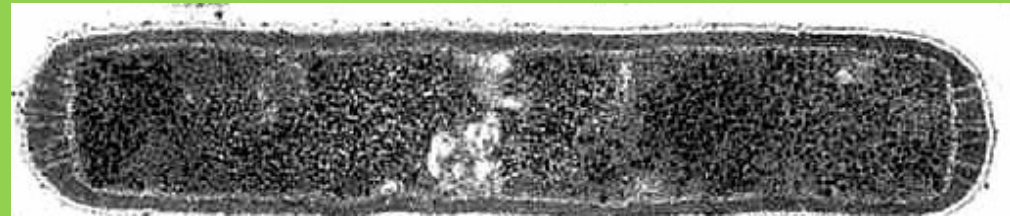
Methanosarcina barkeri



Methanococcus janaschii



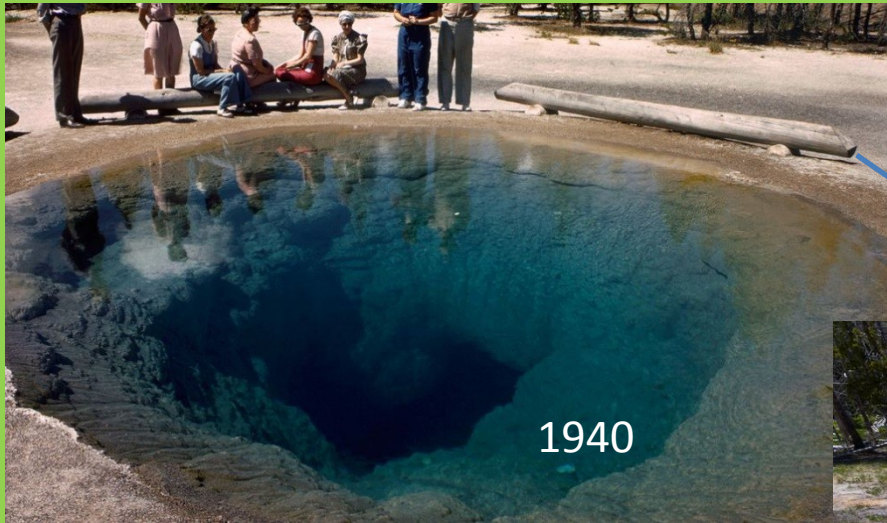
Methanobacterium thermoautotrophicum



Methanothermus fervidus

Hypertermofilní archaea

- velmi častí, součástí Crenarchaeota
- popsány v 80. letech, využívají různé typy el.donorů a akceptorů (vč fak. heterotrofie)
- solfatarové (fumaroly) pole poblíž vulkánů (pyrit, oxid uhličitý, sirovodík, vodík, metan – využitelné pro metabolismus)
- podmořské hydrotermální systémy, černí kuřáci ...



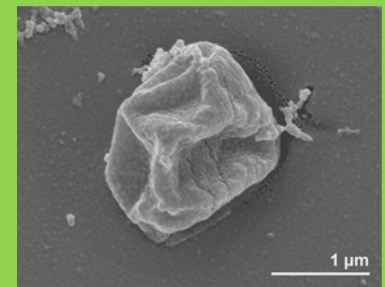
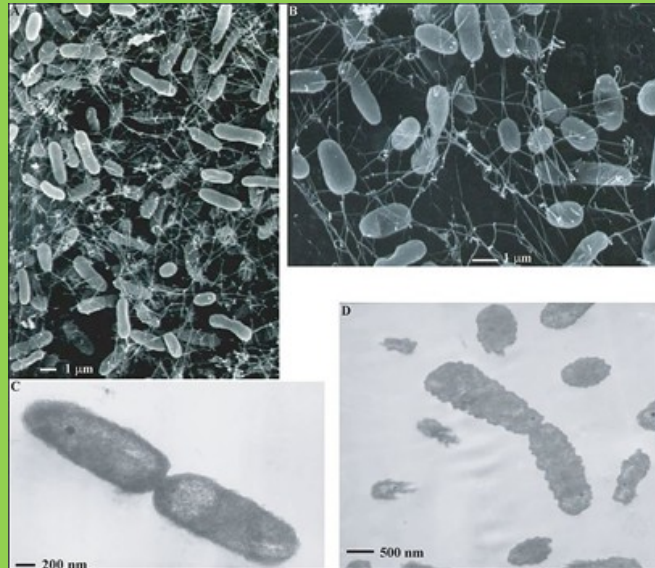
Změna barvy jezírka Morning Glory v Yellowstone
– díky mikroorganismům



Pyrodictium

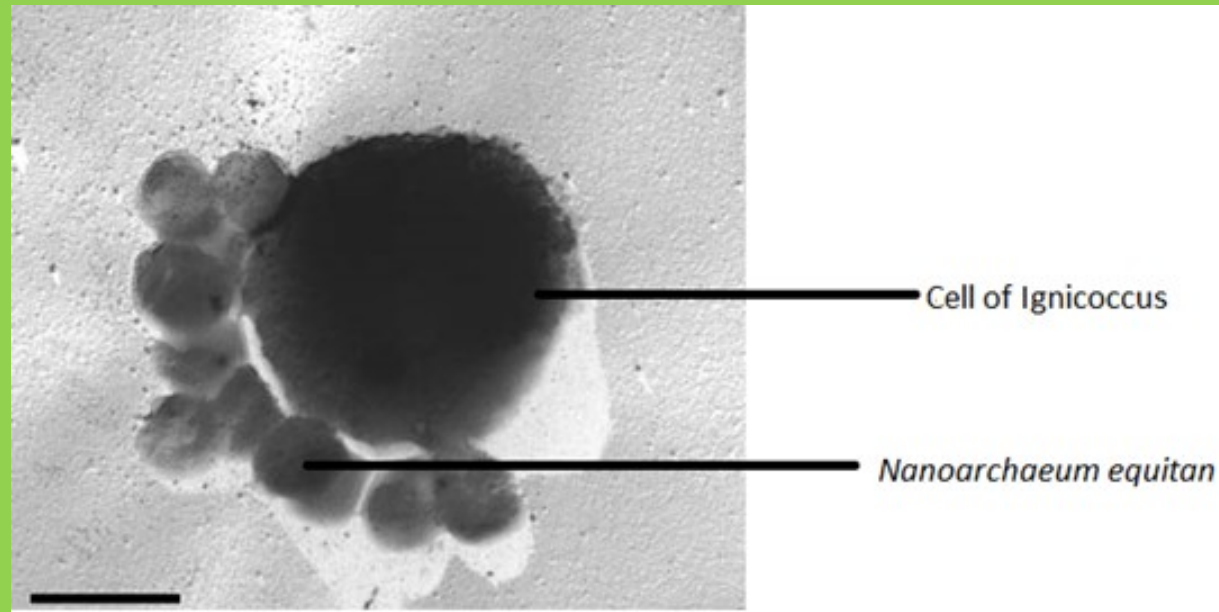
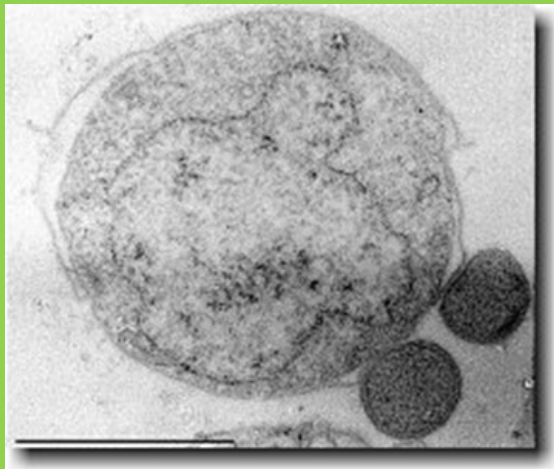
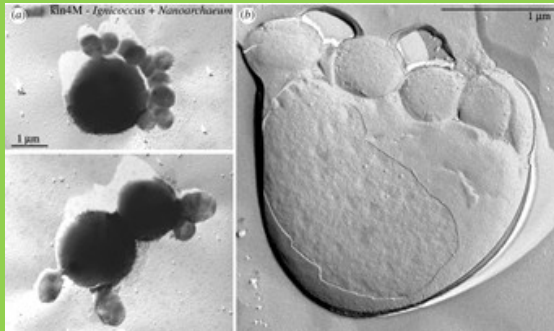
- tzv. černí kuřáci, hydrotermálních prúdů na mořském dně, růstové optimum je 105 °C, nepravidelný diskovitý tvar a buněčnou stěnu tvořenou glykoproteiny
- rostou v koloniích na krystalech síry, fixovány spleť dutých vláken, které strukturou připomínají bakteriální bičík
- *Pyrodictium* k anaerobnímu dýchání používá jako akceptor elektronů síru
- zdrojem elektronů je vodík a produktem reakce sirovodík
- dokáže redukovat Fe^{3+} - může být substrátem jak vodík, tak organické látky
- optimum 110 °C, optimální pH k růstu je 6

- *Pyrolobus fumarii* - 113 °C, černí kuřáci, neroste pod 90 °C
- kmen 121, izolován z hydrotermálních prúdů Pacifiku, opakovaně přežil 10 hod interval při 121 °C v autoklávu



Nanoarchaeum equitans

- poblíž hydrotermálních průduchů v mořích u Islandu, voda dosahuje bodu varu
- *Nanoarchaeum* žije v symbiotickém vztahu s jiným archeonem, a to z rodu *Ignicoccus*
- parazitismus - je tedy zatím jediným známým parazitem z domény Archaea!
- extrémně drobný, koky o průměru cca 400 nm
- genom patří mezi nejmenší mezi všemi buněčnými organismy: má jen 500 M párů bází
- DNA je však velmi efektivní - 95% jsou kódující sekvence (kódují proteiny či některé druhy RNA)
- nebyly nalezeny geny pro biosyntézu lipidů, kofaktorů, aminokyselin či nukleotidů

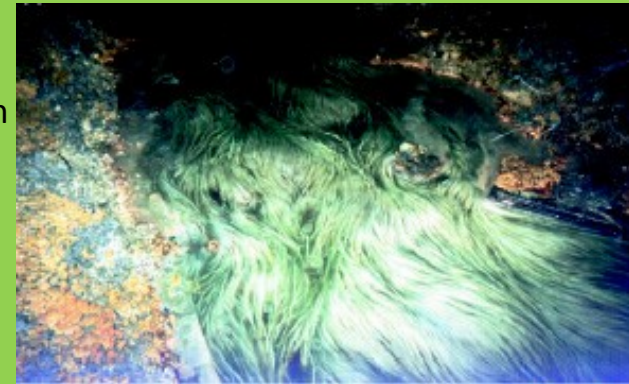


Ferroplasma

- Ferroplasmy jsou z hlediska teploty mezofilní organismy
- prostředí extrémním z hlediska pH - jsou to obligátní acidofilové a jejich optimální pH je asi 1,3
- *Ferroplasma acidiphilum* oxiduje železnaté ionty, postrádá buněčnou stěnu a z hlediska získávání uhlíku je autotrofní, fixuje uhlík

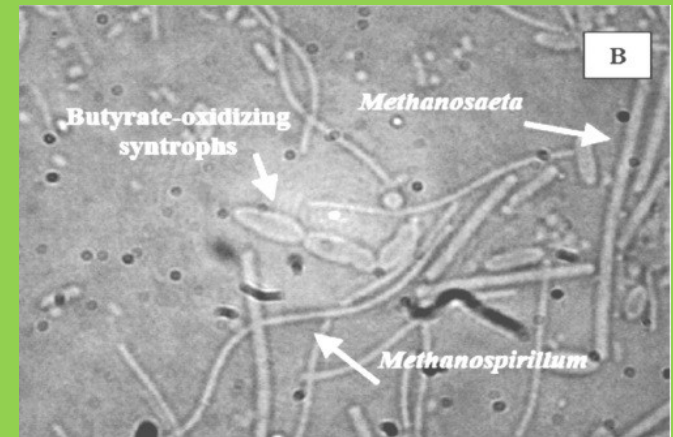


Ferroplasma byla izolována z Iron Mountain , Kalifornie



Metanogeny

- produkce metanu v anaerobních podmínkách - mokřady, mořské sedimenty, ale zejména pak trávicí soustava přežvýkavců a termitů, kde žijí prvoci schopní trávit celulózu
- navazují na anaerobní rozkladné procesy organických látek, jako je celulóza, zpravidla žijí prostředí, kde tyto reakce probíhají
- kompetice se sulfát-redukujícími bakterie o vodík
- většina využívá vodík jako donor el. k redukci CO_2
- někteří – formát, metanol, metyl, acetát
- častá syntrofie s bakteriemi, např. mastné kyseliny oxidujícími
- skleníkový plyn, 74% produkováno mikroorganismy



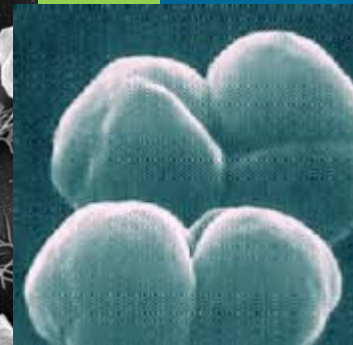
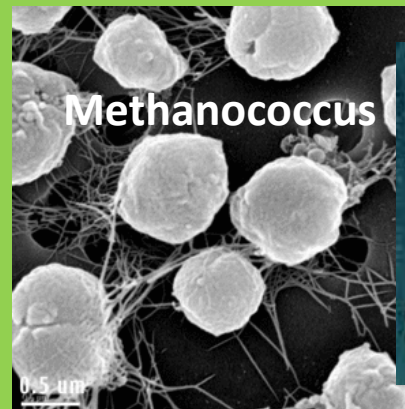
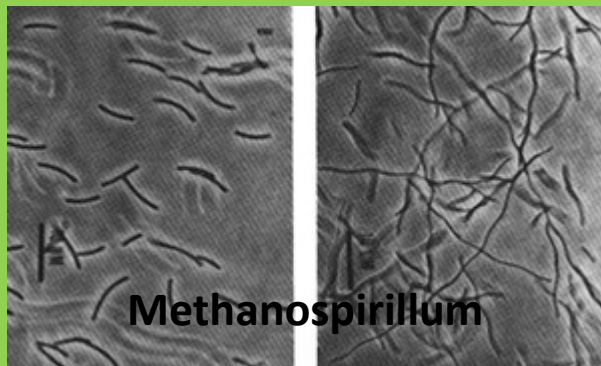
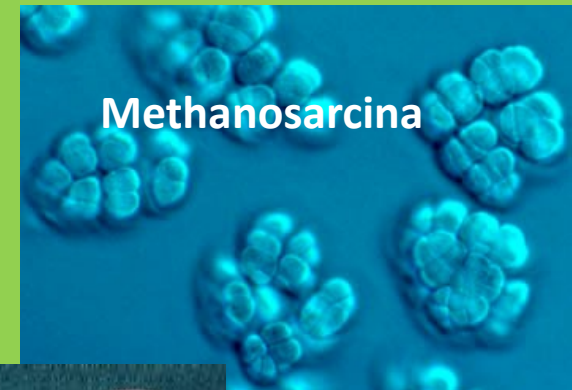
- při anaerobním rozkladu organických látek, zejména celulózy, vzniká velké množství odpadních produktů
- např. kyselina mravenčí a octová , methanol, oxid uhličitý a vodík
- mnohé mohou být donory vodíku a elektronů
- donory pak zajišťují redukcí oxidu uhličitého na metan
- metanogeneze je formou anaerobní respirace oxidu uhličitého

Příkladem rovnic konkrétních reakcí je:



Kompletní sled reakcí:

- nejprve je CO_2 aktivován methanofuranem (MT)
- následně redukován na formyl ($-\text{HCO}$)
- formyl je poté transportován z MT na tetrahydromethanopterin
- formyl je dehydratován s redukován na methylen ($-\text{CH}_2-$)
- methylen je redukován na methyl ($-\text{CH}_3$)
- methyl je z methanopterinu přenesen na koenzym M
- methyl-koenzym M je redukován na metan pomocí methylreduktáz



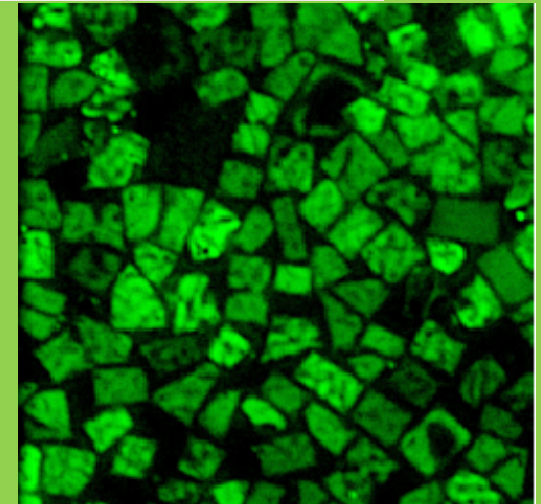
Halofilní archaea

- hypersalinní lokality (více než 150-200 g/L) – slaniska, sl. jezera, Mrtvé moře
- karotenoidy v bun.stěně – růžovo-rudá barva slanisek...



Walsbyho halofilní archaeon - *Haloquadratum walsbyi*

- 1980, kultivován byl poprvé roku 2004
- obsahuje množství vakuol naplněných vzduchem, jež nadnášejí buňku a umožňují jí tak lépe pohlcovat světlo
- disponují jedním nebo více bičíky, a jsou tak poměrně pohyblivé
- buňky se někdy spojují - křehké destičky tlusté cca 40 mikrometrů



Archaea vs. Bacteria

- podobnosti i rozdílnosti
- rozdíl na buněčné i genomické úrovni, chimérická podstata
- podobnost s bakteriemi v morfologii
- Archaea podobná Eucarya - transkripce, translace, oprava DNA, RNA polymeráza, replikace...
- euryarcheota – homology eukaryontních histonů
- informačně-procesní systém je podobnější Eucarya
- metabolismus podobný spíše bakteriím

Characteristic	Bacteria	Archaea	Eucarya
1. Membrane-bound nucleus	Absent	Absent	Present
2. Cell Wall	Muramic acid	Muramic acid absent	Muramic acid absent
3. Membrane lipids	Ester linked	Ether linked	Ester linked
4. Ribosomes	70S	70S	80S (in cytoplasm)
5. Initiator tRNA	Formylmethionine	Methionine	Methionine
6. Introns in tRNA genes	Rare	Yes	Yes
7. Ribosome sensitivity to diphtheria toxin	No	Yes	Yes
8. RNA polymerases	One (4 subunits)	Several (8-12 subunits each)	Three (12-14 subunits each)
9. Sensitivity to chloramphenicol, streptomycin and kanamycin	Yes	No	No (cytoplasm)

EUKARYOTA

- Systém fylogeneze se neustále mění
- pův. myšlenka – protista – chybí mitochondrie (amitochondriáti), založeno na sekvenaci 18S rRNA
- v současnosti nové fylog. stromy založené na genech a proteinech - protista nejsou tak evolučně původní, jak se myslelo....
- protista (*Giardia*, *Trichomonas*, *Encephalitozoon*...) mají mitozomy – mitochondriím podobné proteiny, hydrogenosomy a zbytky mitochondriálních genů...



Nejstarší známý předek lidí - *Saccorhytus coronarius*
žil na zemi před 540 miliony let, cca 1 mm velké

Diverzita protist

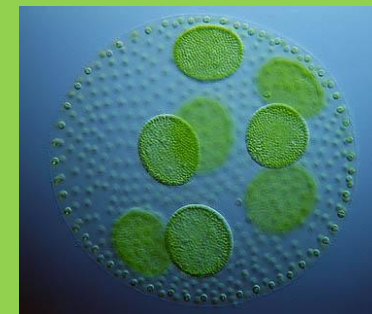
- jednobuněčná eukaryota, kosmopolitní
- především ve vodě
- popsáno cca 100 tis druhů

- pohybliví , fagocytóza
- obvykle mají délku jen 0,01 – 0,5 mm
- kosmopolité
- voda a půda
- nepříznivé podmínky přežívají ve formě cyst
- několik významných parazitů



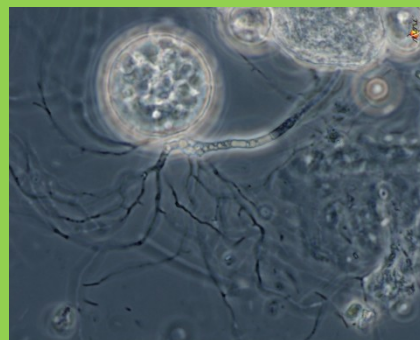
Řasy

- jednobuněčné řasy, mají chloroplasty a jsou schopné fotosyntézy
- někteří protisté se řadí mezi řasy i mezi prvoky (*Euglena*)
- mohou být i nepohyblivé a koloniální



Houby

- chytridiomycety, hlenky, řasovky a labyrintovky



Funkční skupiny protist (jednobuněčných eukaryot)

heterotrofové - živí se mikrobi

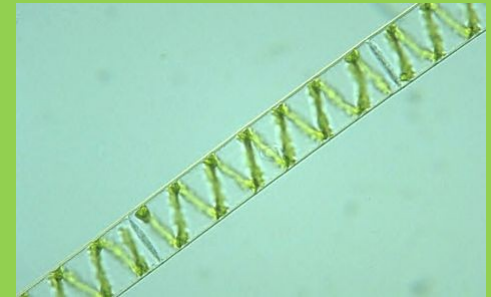
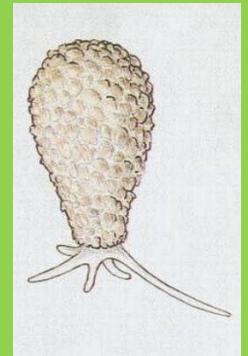
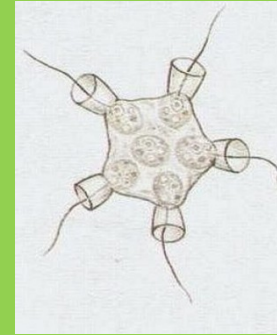
- bičíkovci
- nálevníci

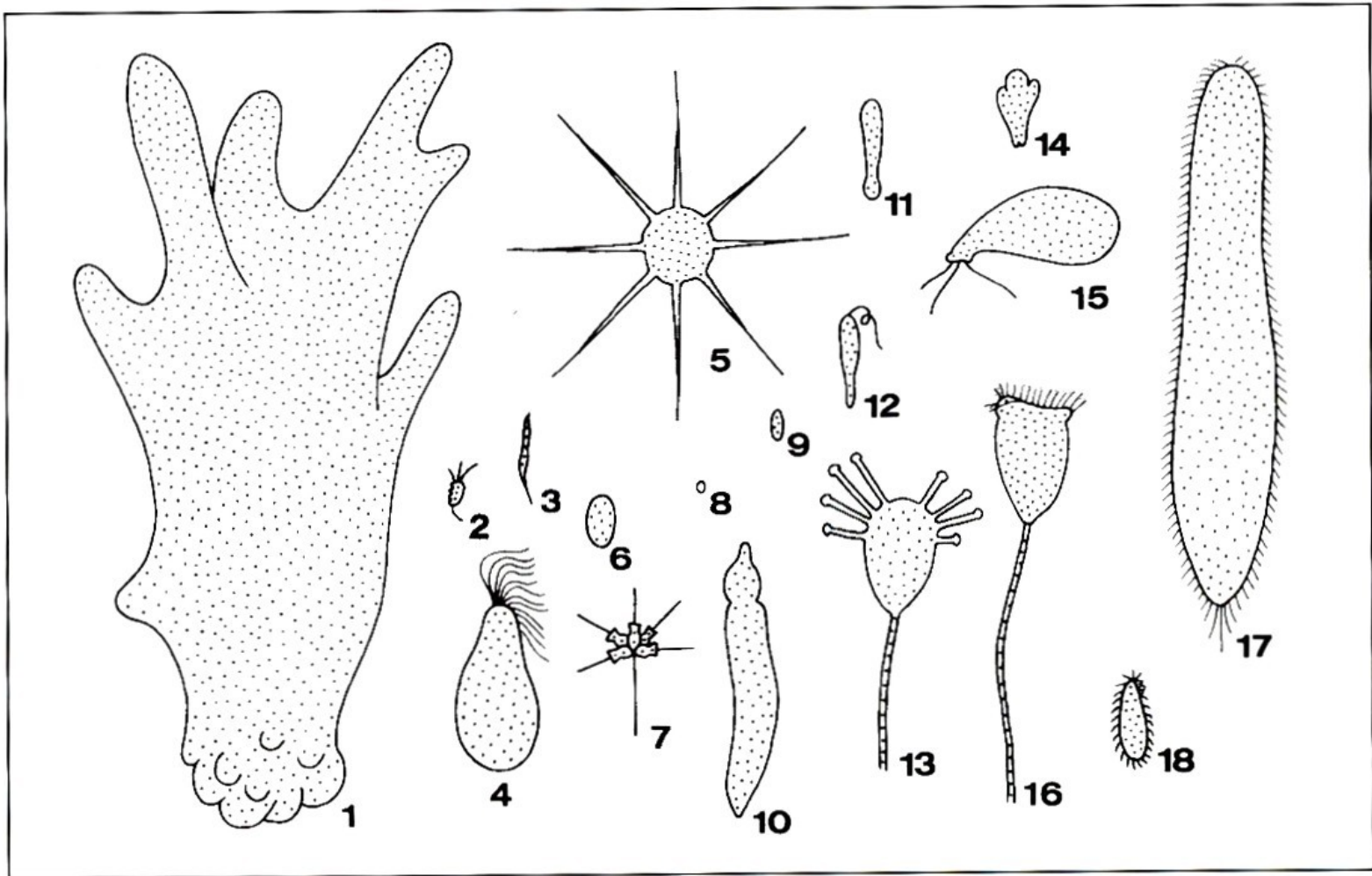
primární producenti - fytoplankton

- spousty typů, někteří zároveň i nálevníci

mixotrofové

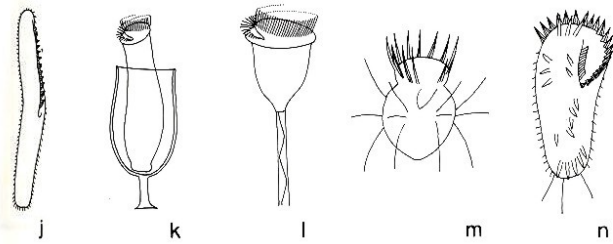
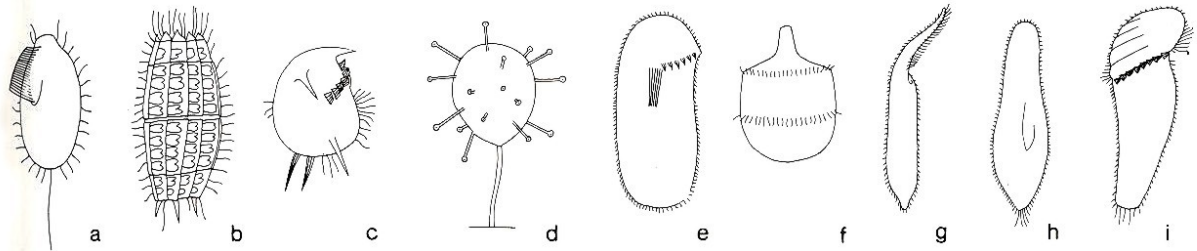
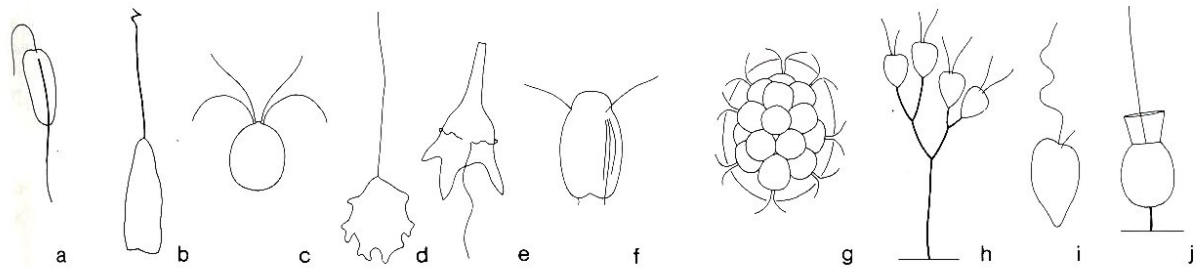
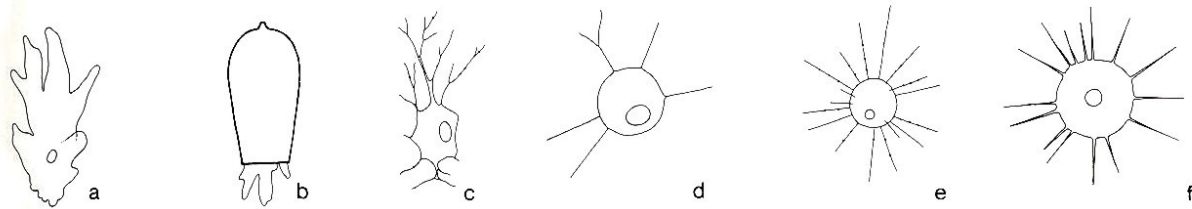
- protozoa (protista) která mají chlorofyl (fototrofové), ale zároveň mohou využít organické látky (= žrát jiné mikrobi, heterotrofové)





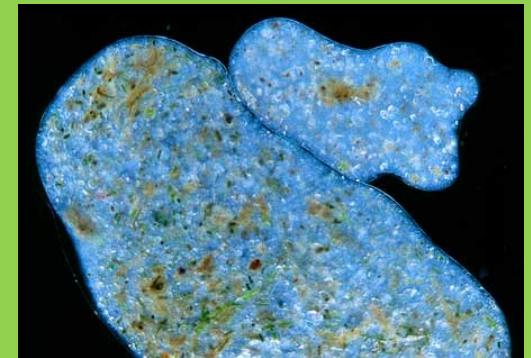
Obr. 27 Tvarová různorodost prvoků (všechny organizmy nakresleny ve stejném měřítku).
 1 *Amoeba*, 2 *Trichomonas*, 3 *Trypanosoma*,
 4 *Joenia*, 5 *Actinophrys*, 6 *Eimeria*, 7 *Codonosiga*,

8 spora mikrosporidií, 9 spora myxosporidií,
 10 *Gregarina*, 11 *Saccamoeba*, 12 *Euglena*,
 13 *Discophrya*, 14 *Entamoeba*, 15 *Trinema*,
 16 *Vorticella*, 17 *Paramecium*, 18 *Tetrahymena*.



Měňavky

- schopnost měnit svůj tvar při měňavkovitém (amoebovitým) způsobu pohybu- vysunují své panožky (vychlípeniny buňky) kupředu a pak za nimi přitahují celé tělo
- přijímání potravy pomocí fagocytózy
- měňavka velká (*Amoeba proteus*, též *Chaos Chaos*) která dosahuje velikosti až 1,5 mm, žije ve vodě i v půdě
- měňavka bahenní (*Pelomyxa palustris*) - mnohoaderné plazmódium, charakteristická zejména pro zahrňavající vody
- I trávící trubici člověka (*Entamoeba coli*), měňavka úplavičná (*Entamoeba histolytica*, trávící enzymy vně své buňky, rozruší a natráví jimi buňky výstelky střeva a živiny pak pohlcuje)
- predátoři bakterií
- *Dyctiostelium* - obrovský genom 12500 genů, modelový organismus – pohyb (na bázi aktinu), agregace, komunikace mezi bunkami





amoeba

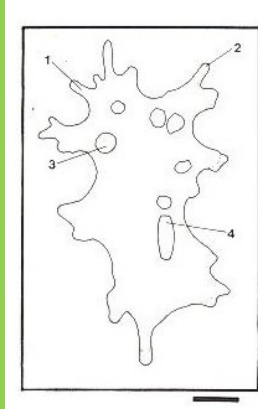
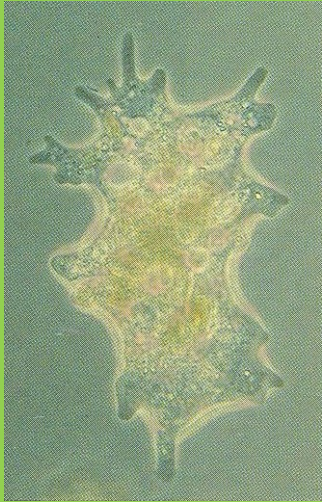
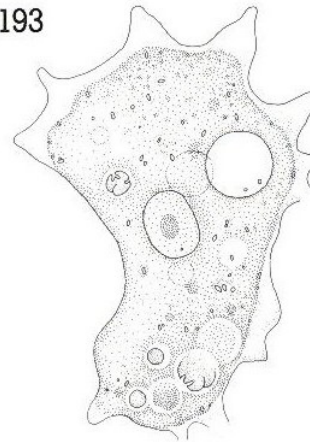
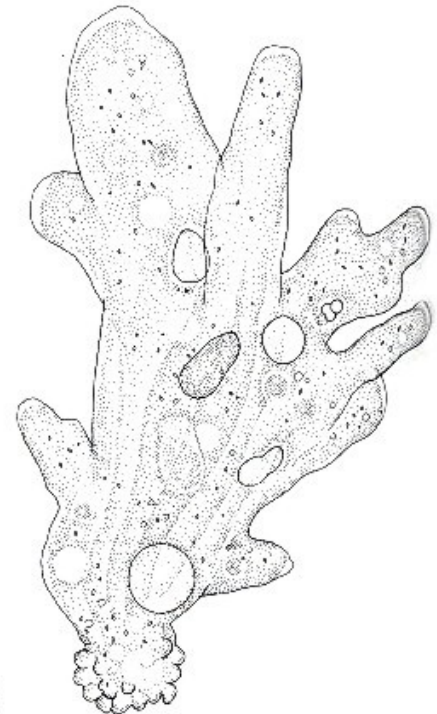


Figure 192 *Mayorella*. A common genus of amoebae with conical pseudopodia that are relatively broad at their base, tapering slightly towards the tip which is rounded (1). Developing pseudopodia have a small hyaline cap (2). Visible inclusions are a contractile vacuole (3) and various food vacuoles, some of which contain ingested diatoms (4). This genus contains many species, with a wide range of sizes. Most are voracious scavengers and predators, consuming detritus and many other protists. *Phase contrast*.

193



194



This genus is common and widespread. For taxonomic reviews, see Decloitre (1976, 1979, 1982). Detailed studies have been made by Netzel (1975a).

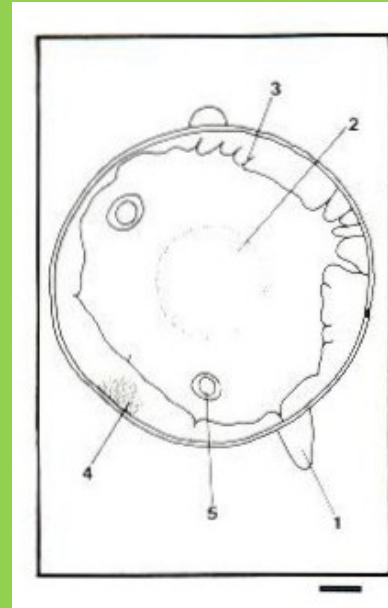
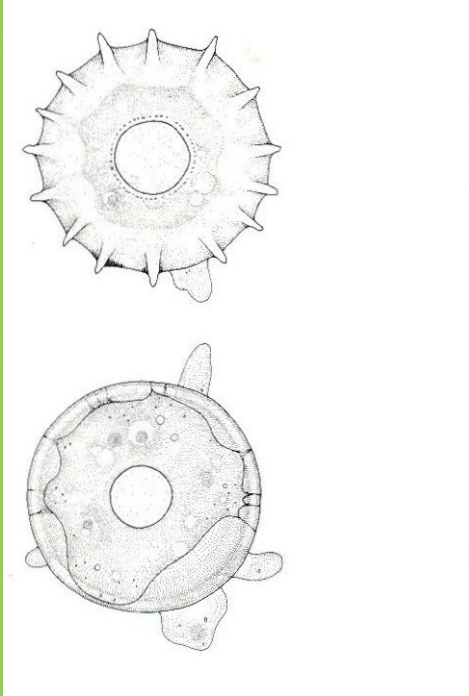


Figure 173 *Arcella*. A testate amoeba with lobose pseudopodia (1). The test has a single central and ventral aperture (2), from which the locomotor and feeding pseudopodia emerge. These are sometimes visible projecting beyond the margin of the test. Other pseudopodia (3) attach the organism to the inside of the test, which is organic and has a very delicate mesh-like texture (4). The test is initially colourless, but it accumulates metal salts from the medium and becomes brown with time. This individual is only slightly impregnated with metal salts. The most prominent organelle in the cytoplasm is the nucleus (5). *Phase contrast*.

Figure 188 *Diffugia*. A testate amoeba with lobose pseudopodia (1). The composition of the test is illustrated in Fig. 187. In this species, as in other testate amoebae, the pseudopodia develop a transient axial filament believed to contain the molecular mechanism for motility. The test is rounded, but has a flared collar (3) around the posterior end. *Phase contrast.* (Scale bar 100 μm .)

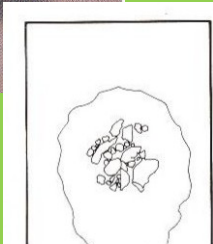
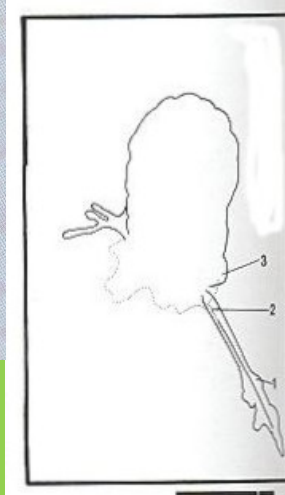
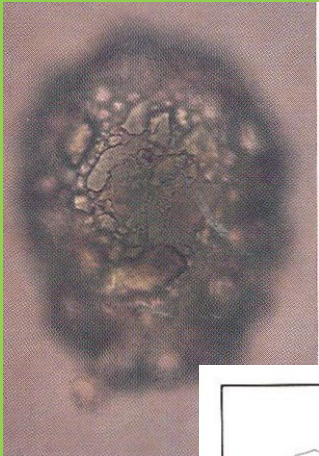


Figure 187 *Diffugia*. The test of this common organism is comprised of variously shaped pieces of 'grit', adhering to a layer of organic matter. The grit may or may not be produced by the amoeba, but some species are certainly able to incorporate small extraneous structures, such as diatom shells, within the test. The body is round in cross section, with a circular apical aperture and sometimes with the posterior end drawn out as a point. The pseudopodia are lobose (see Fig. 188). *Bright field.*

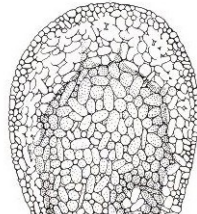


Figure 190 *Nebela*. A testate amoeba. The test is pear-shaped, as is the single apical aperture (1). The test is structured like a thin flange. The test is lined with siliceous particles produced by the pseudopodia (3). Lobose pseudopodia, or more precisely a mass of cytoplasm (4), project from the posterior end. *Interference contrast.*



For reviews of these genera, see Decloitre (1977), Netzel (1977), Ogden and Zivkovic (1983), and Bonnet *et al.* (1981b). Motility is discussed by Wohlmann and Allen (1968).

Bičíkatci

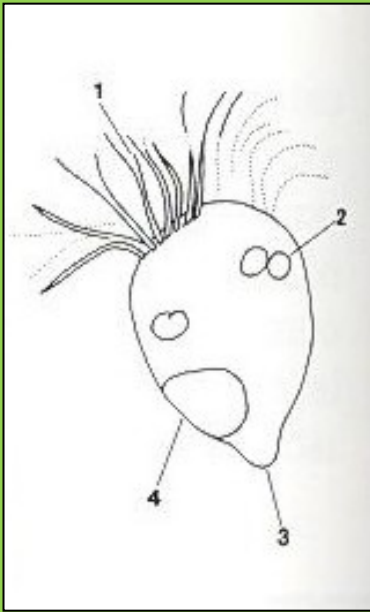
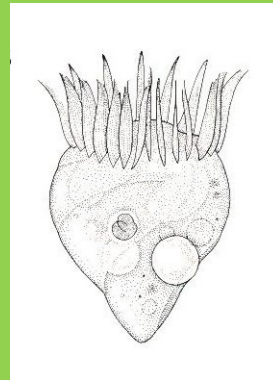
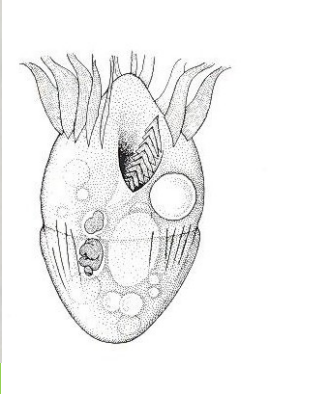
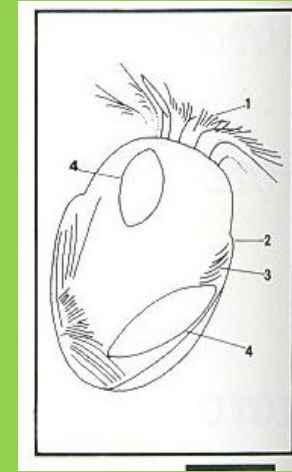


Figure 366 *Strobilidium*. An oligotrich ciliate. The only visible cilia are those that make up the adoral zone of membranelles (1) as it stretches around the front of the cell. Using the AZM, the organism can collect algal cells as food (2). The cell is often found apparently attached to the substrate by an invisible thread extending from the posterior end (3). It will spin and jerk at a fixed distance from the substrate. Occasionally it breaks free and can then move with great speed. A contractile vacuole (4) is visible. *Strobilidium* is most easily confused with *Strombidium* (Fig. 368).

Figure 368 *Strombidium*. An oligotrich ciliate. The only visible cilia are those of the adoral zone of membranelles (1), used for feeding and locomotion. This genus is easily confused with *Strobilidium*. *Strombidium* may be distinguished by the presence of a lorica-like sheath, evidenced by a 'shoulder' (2) in the lateral profile; the genus also has 'trichites' (3). This particular specimen has been eating diatoms (4). *Phase contrast*.





ciliate

Obrněnky (Dinophyta, Dinoflagellata)

- ve vodách jak sladkovodních, tak i brakických a mořských
- mixotrofní organismy (i obligátní heterotrofy), které mají chloroplasty získané sekundární či terciární endosymbiózou, někdy mají kleptoplastidy
- schránky tvořené celulózovými destičkami
- rozmnožují se pohlavně i nepohlavně, mají složité buněčné cykly
- evolučně jsou významní stavbou svého jádra a specifickými organelami, ekologicky tím, že je mezi nimi mnoho toxických druhů.
- dynokaryon- většinou kondenzované chromosomy (stočené jako by před mitózou) neobsahuje histony
- *Zooxantella* a *Symbiodinium*-symbiotické interakce s mořskými bezobratlými vnitro- nebo mezibuněčnou endosymbiózu
- korálové polypy -zooxantely hlavním zdrojem živin (poskytují hostiteli více než 50% fotosyntetických produktů)
- dohromady velice citlivý organismus k vnějším podmínkám- dnes patří k ohroženým druhům tvoří



Obrněnky

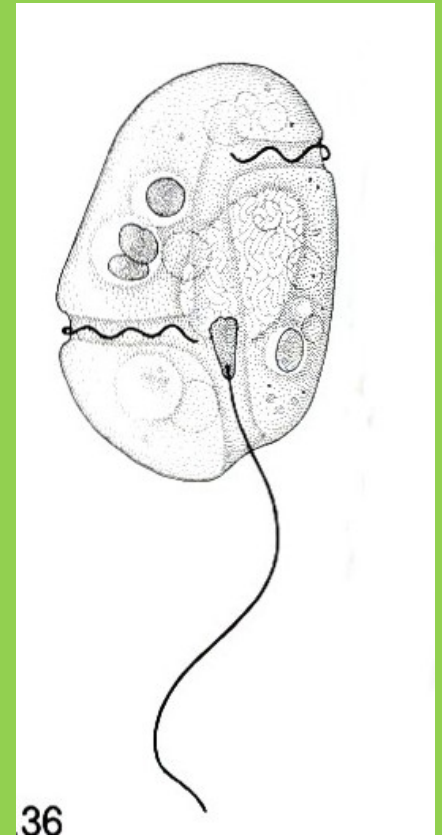
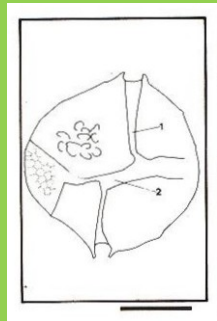


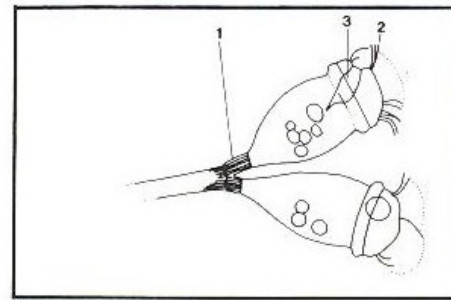
Figure 134 *Peridinium*. A dinoflagellate with a substantial theca lying just inside the cell membrane (cf. Fig. 138). Because of the theca, dinoflagellates like this are referred to as being armoured. The most evident sculptings of this 'armour' are the two grooves (the equatorial groove or cingulum (1) and the longitudinal groove or sulcus (2)), each of which normally carries a flagellum (not visible in this photograph). The longitudinal groove extends to the posterior of the cell. In this picture, small extensions of the chloroplast may be seen. The cell has a brownish green colour due to the combination of photosynthetic pigments. Blooms of this flagellate may give water an olive colour. *Differential interference contrast*. (Photo Hilda Canter.)

Nálevníci



Figures 229 & 230 *Epistylis*. A genus of sessile peritrichs that forms arborescent colonies (cf. Figs 220–227). Fig. 229 (*differential interference contrast*, scale bar 100 μm) shows an entire colony. Fig. 230 (*phase contrast*) shows a typical striated stalk (1). Members of this genus lack a contractile spasmoneme within the stalk (cf. Figs 222 & 225), and each

cell contracts individually without contraction of the stalk. Also visible are the feeding cilia (2) around the anterior end of the cell; the buccal cavity (3), into which food is passed before being enclosed within a food vacuole; and various food vacuoles within the body of the cell.



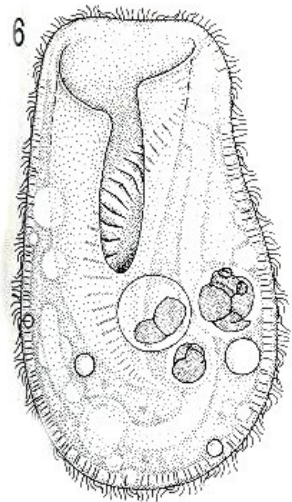


Figure 317 *Bursaria*. A planktonic ciliate that is related to *Colpoda* (Fig. 328). The organism is shaped like *Phascolodon* (Fig. 315), another planktonic ciliate. In both, the anterior margin (1) of the cell is drawn out, giving the entire cell a scoop-shape, and enabling it to drive quite large particles of food (in this individual, dinoflagellates and diatoms) into the buccal channel (2). Also visible are cilia (3) and extrusomes (4). *Phase contrast*.

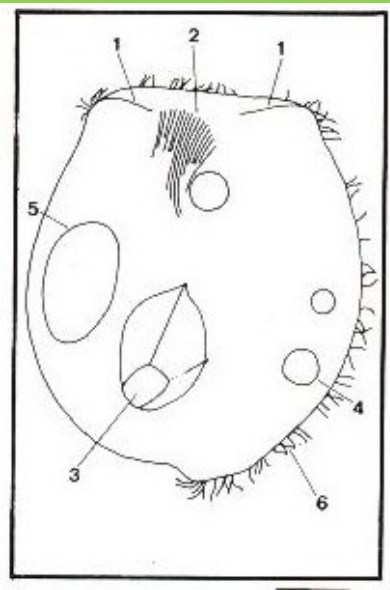
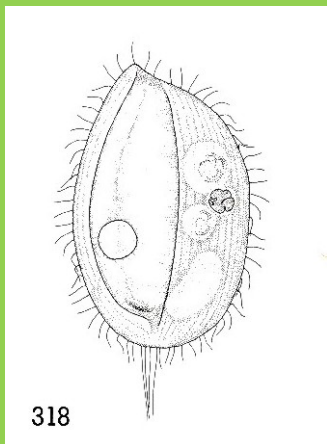
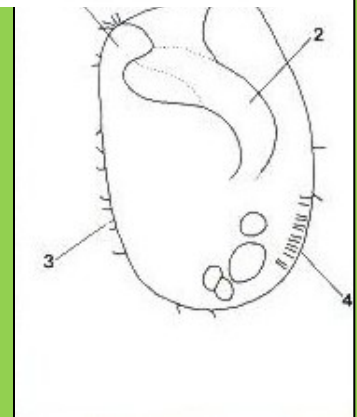


Figure 315 *Phascolodon*. A planktonic ciliate. This example is a little squashed; normally the two anterior lateral margins (1) are curved round to give the cell a scoop-shape. There is a well-developed nasse of microtubular rods (nematodesmata) (2), with which relatively large particles can be ingested. This particular individual has been eating spine-bearing centric diatoms (*Stephanodiscus*, Fig. 8) (3). Also evident are the contractile vacuoles (4), macronucleus (5) and cilia (6). *Phase contrast*.

There are many general accounts of this very common and familiar genus of ciliate: Wichterman (1963, 1985), Wagtendonk (1974) and Cörtz (1988) all give general accounts including outlines of the composition of the genus.

As with *Tetrahymena*, some species can only be identified by their biochemical characteristics (Corliss and Daggett, 1983). Morphological species can be distinguished by their shape, being either elongate (slipper-shaped) (Fig. 343) or foot-shaped (Figs 348–359), and by the form of the micronuclei (Fig. 357). One common species (*P. bursaria*) contains endosymbiotic algae (Figs 349–358).

ates, the closest relatives
p 150), *Urocentrum* (Figs
idium (Fig. 360).

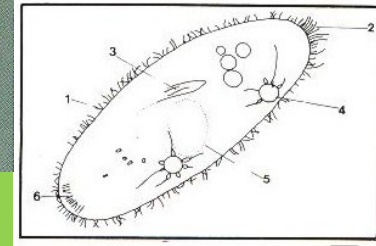
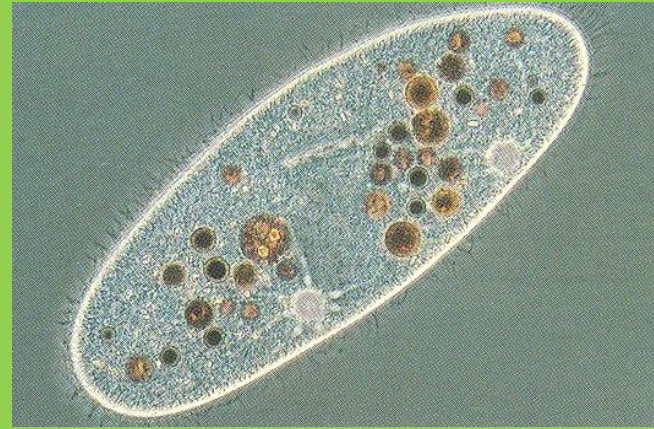


Figure 345 *Paramecium* with food vacuoles. This slightly squashed cell has been fed with bacteria stained black and red, in order to show the food vacuoles. The cell is evenly covered with cilia (1) but, as with all *Paramecia*, there is a caudal tuft (2) of longer cilia. The mouth may be seen as a channel (3) with a densely packed line of cilia. Food is pushed down the channel, ultimately to be packed into the food vacuoles (coloured). Also visible in the cell are the two contractile vacuoles with their radiating collecting canals (4), the macronucleus (5) and trichocysts (6). *Phase contrast*.

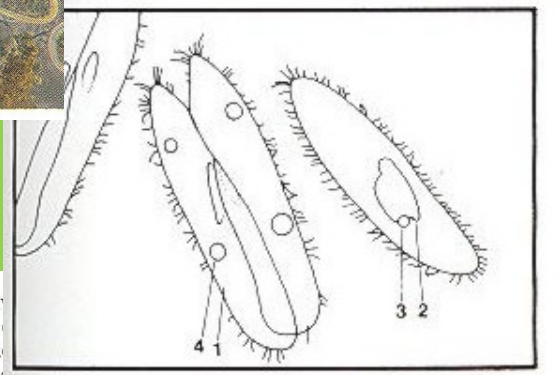


Figure 344 *Paramecium*. Both a typical individual and a pair of conjugating cells (1) are shown. The single macronucleus (2) and a spherical adpressing organ (3). This particular nuclear configuration, along with the shape of the cell, identifies the organism as being *P. caudatum*. Conjugation is a mechanism that allows the exchange of genetic information between mating cells. The cells become joined, a cytoplasmic channel forms between them, and a gametic nucleus (product of meiosis of the micronucleus) is exchanged. Contractile vacuoles (4) are also visible. *Phase contrast*. (Scale bar 100 μm .)

Nálevníci

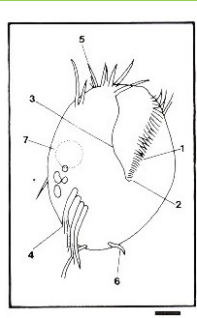


Figure 261 *Euplotes* (cf. Fig. 260). A view of the ventral surface of this hypotrich ciliate. The adoral zone of membranelles (1) forms a collar around the front of the cell, and a lapel leading to the cytostome (2). To the (cell's) right of the mouth is the undulating membrane (3). The locomotor cilia are in several clusters, the most obvious of which is the line of transverse cirri (4). Others include the frontoventrals (5) and the caudal cirri (6). An out-of-focus contractile vacuole (7) is also evident. *Differential interference contrast.*



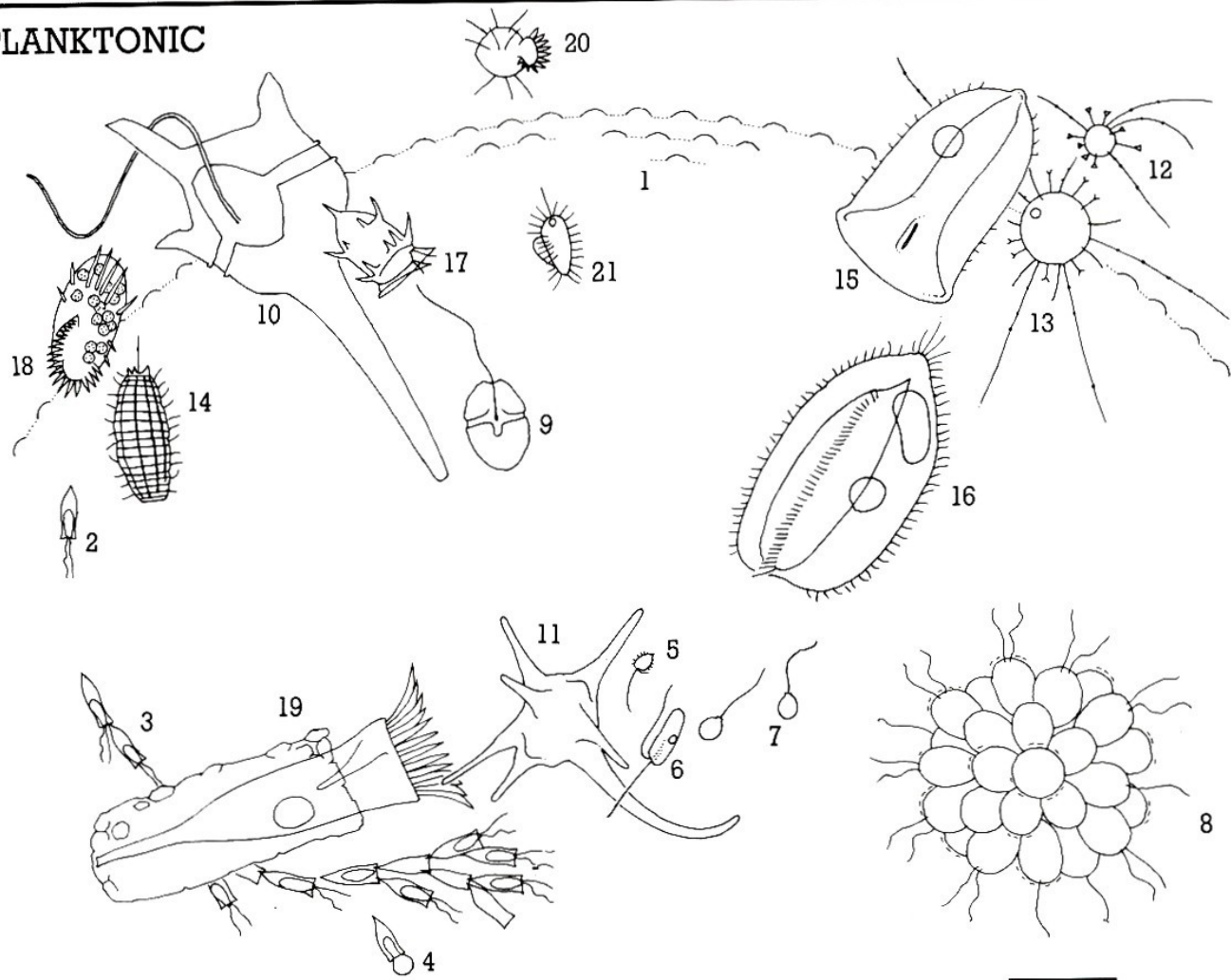
Figure 262 *Uronychia*. One of the more heavily skeletalized hypotrich ciliates. The transverse cirri are extremely well developed (1) and appear to be totally immobile. However, these cells may jump quickly, and the cirri are perhaps brought into use then. This kind of hypotrich (there are several similar genera) does not walk, but swims or glides, presumably using the adoral zone of membranelles (2). *Phase contrast.*



Figure 260 *Euplotes* (cf. Fig. 261). A common and widespread hypotrich ciliate. This unfamiliar view from the side of the ciliate effectively illustrates how the ventral cirri (1) that characterize hypotrichs are used for movement over a substrate. The adoral zone of membranelles (2) draws a current of water under the cell towards the cytostome. Suspended particles may then be removed by the ciliate from the current. *Phase contrast.*

Common and widespread hypotrich ciliate is described by Curds (1975), Gates (1978), and Hill and Reilly (1976). *Uronychia* (Fig. 262), with strongly developed cirri, is related, but is more commonly found in marine or brackish waters.

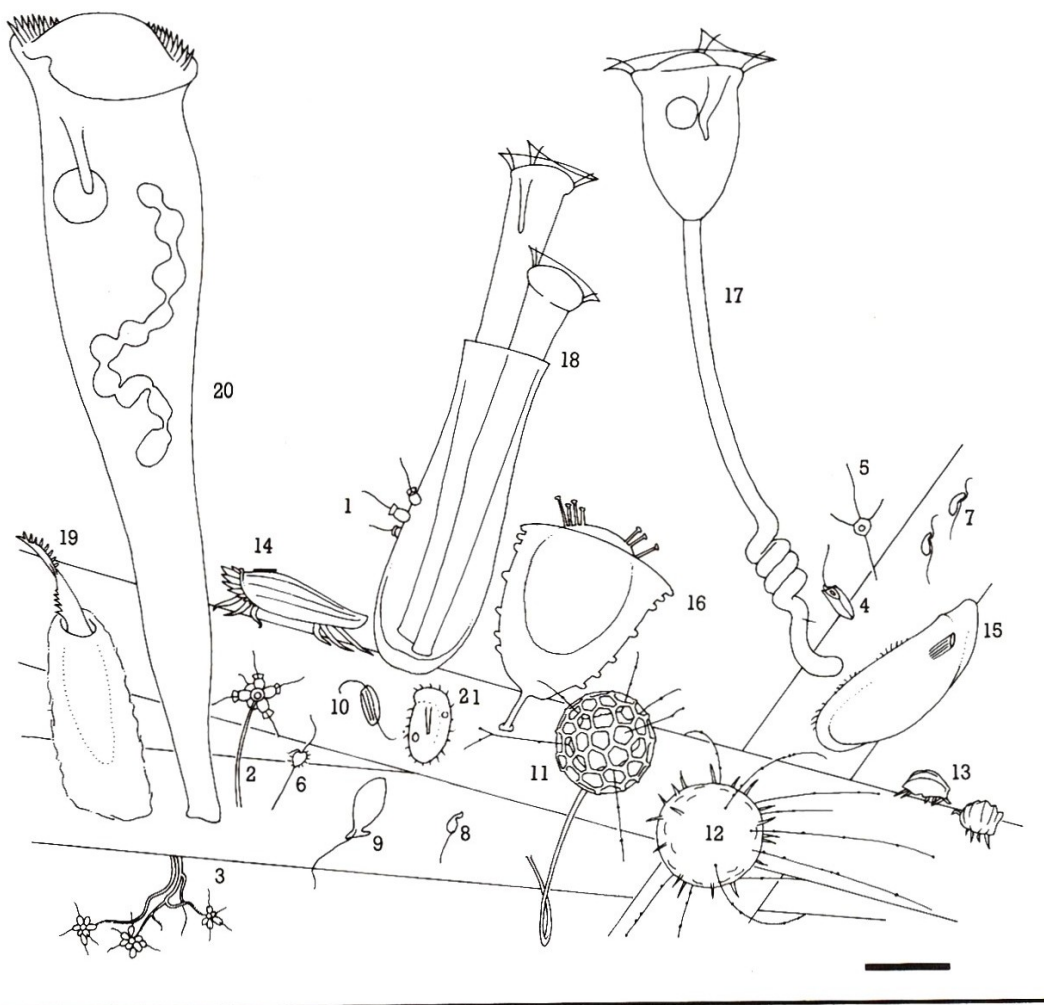
PLANKTONIC



1 *Volvox* (Figs 58–60), 2–4 *Dinobryon* (Figs 24 & 36), 5 *Paraphysomonas* (Figs 28, 100 & 101), 6 *Kathablepharis*, 7 *Trachelomonas* (Figs 116 & 117), 8 *Synura* (Figs 54 & 55), 9 *Gymnodinium* (Figs 137 & 138), 10 *Ceratium* (Figs 129 & 130), 11 *Amoeba radiosa* (Figs 141 & 142), 12 *Raphidocystis* (Figs 408

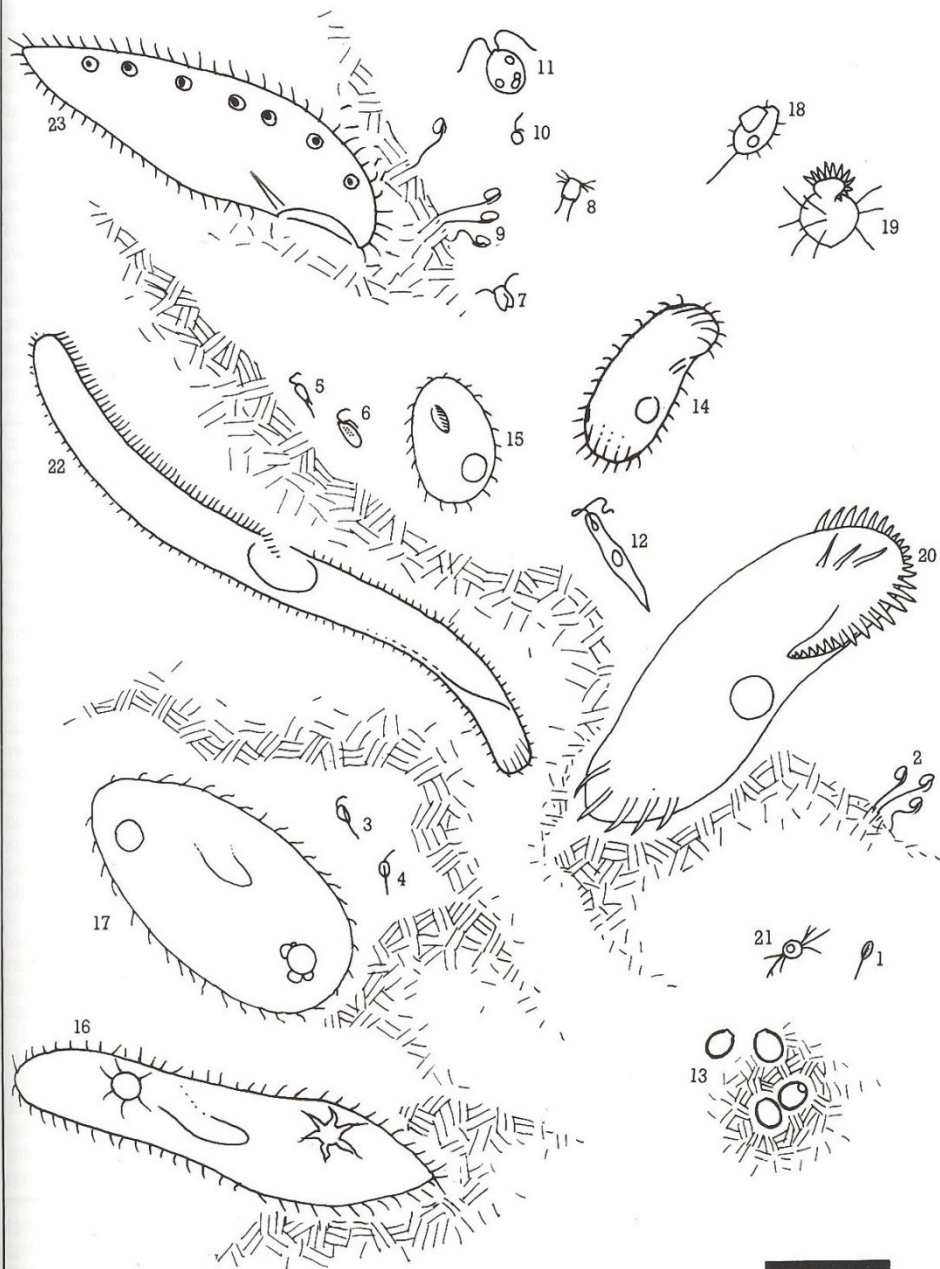
& 409), 13 *Acanthocystis* (Figs 410–412), 14 *Coleps* (Figs 375–377), 15 *Phascolodon* (Figs 314 & 315), 16 *Lembadion* (Figs 318 & 319), 17 *Hastatella* (Figs 372 & 373), 18 *Euplotes diadaleos* (Figs 259–261), 19 *Tintinnidium* (Fig. 370), 20 *Halteria* (Figs 304 & 305), 21 *Cyclidium* (Figs 331 & 332) (Scale bar 50 μ m).

ATTACHED

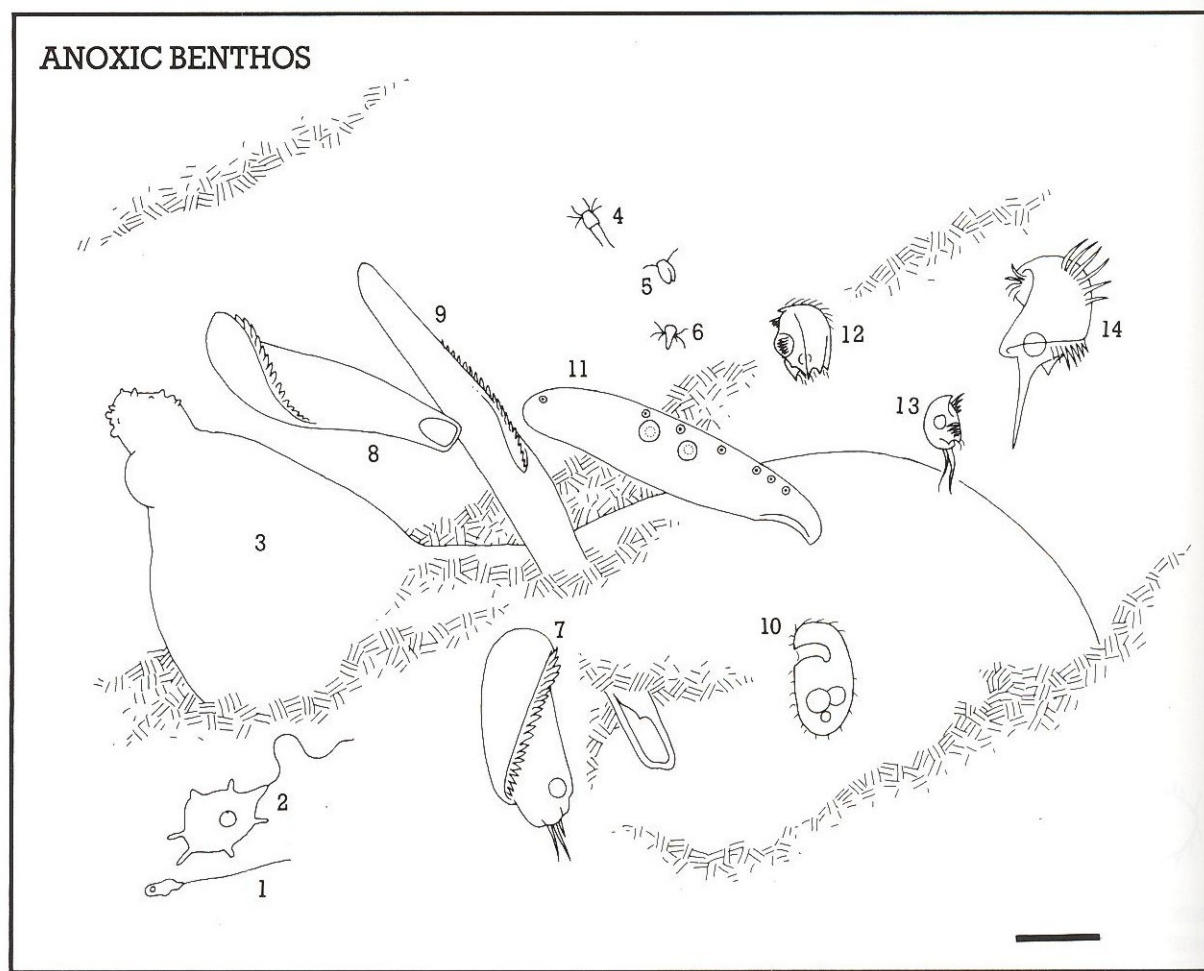


1 *Monosiga* (Figs 29(a) & (b) & 30), 2 *Codosiga* (Figs 43 & 44), 3 *Anthophysa* (Figs 45-47), 4 *Bicosoeca* (Figs 31 & 32), 5 *Actinomonas* (Figs 26 & 27), 6 *Paraphysomonas* (Figs 28, 100 & 101), 7 *Bodo* (Figs 25, 67-69), 8 *Rhynchomonas* (Figs 62 & 63), 9 *Urceolus* (Figs 87 & 88), 10 *Entosiphon* (Figs 75 & 76), 11 *Clathrulina* (Fig. 413), 12 *Acanthocystis* (Figs 410-412), 13 *Aspidisca* (Figs 246 & 247), 14 *Euplotes* (Figs 259-261), 15 *Trithigmostoma* (Fig. 299), 16 *Acineta* (Figs 418 & 419), 17 *Vorticella* (Figs 232-235), 18 *Vaginicola* (Figs 242 & 243), 19 *Stichotricha* (Figs 218 & 219), 20 *Stentor* (Figs 213-216), 21 *Chilodonella* (Figs 297 & 298) (Scale bar 50 μ m).

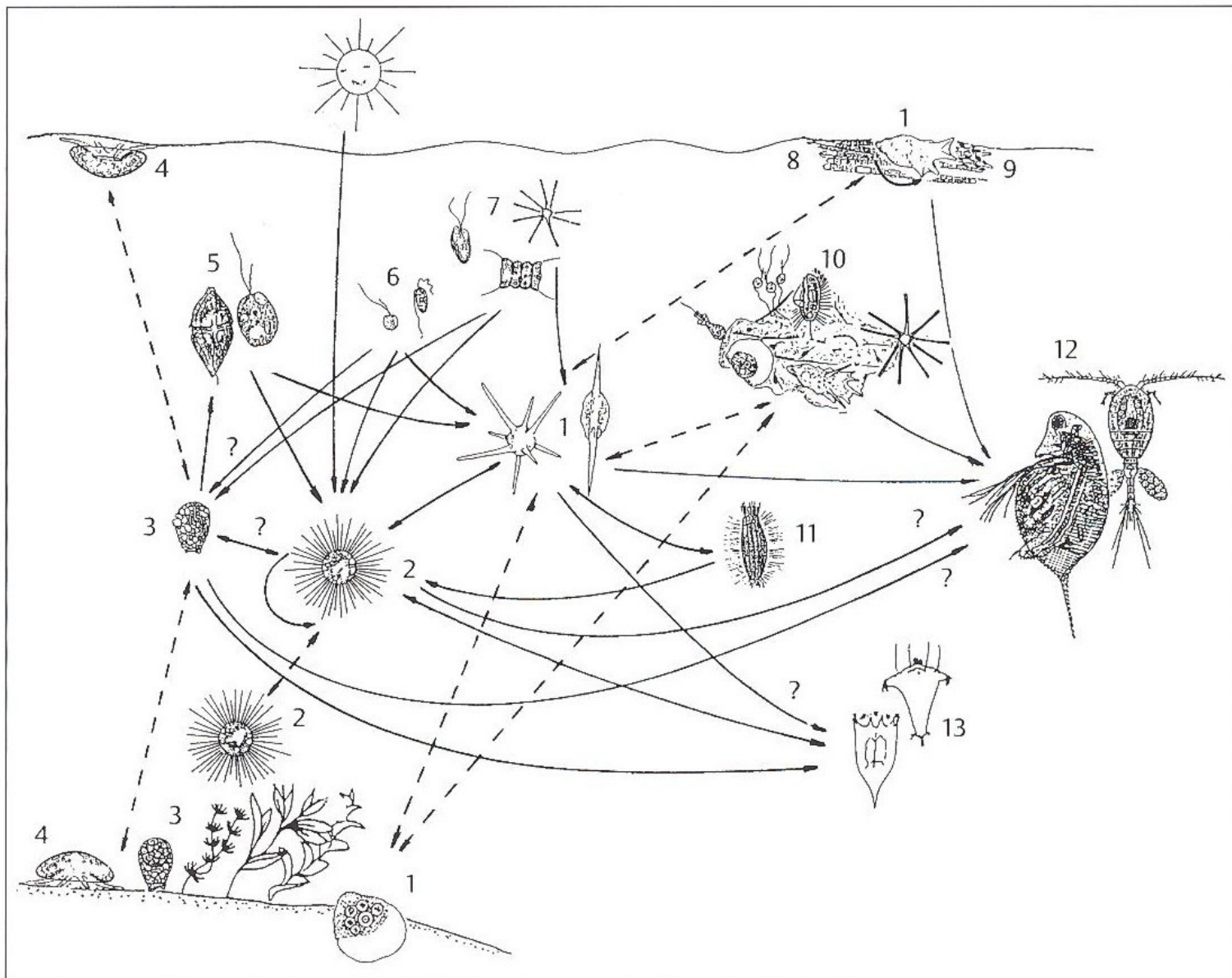
ORGANICALLY RICH BENTHOS



ANOXIC BENTHOS



1 *Mastigamoeba* (Fig. 81), 2 *Mastigella* (Fig. 86), 3 *Pelomyxa*, 4 *Hexamita* (Figs 103, 104(a) & 106), 5 *Loxodes* (Figs 280 & 281), 6 *Trigonomonas*, 7 *Myelostoma*, 8 *Metopus* (Figs 308 & 309), 9 *Spirostomum* (Figs 321–323), 10 *Plagiopyla*, 11 *Pelomyxa*, 12 *Saprodinium*, 13 *Trepomonas* (Figs 104(b) & 105), 14 *Caenomorpha* (Figs 306 & 307). (Scale bar 50 μ m).



Obr. 314 Potravní vztahy mezi organizmy jezerního planktonu. Čárkované linie označují změny biotopu. 1 = nahé améby; 2 = slunivky; 3 a 4 = kryténky; 5 = velcí heterotrofní bičíkovci; 6 = heterotrofní nano-flageláti; 7 = fytoplankton; 8 = vlákna sinic; 9 = při-

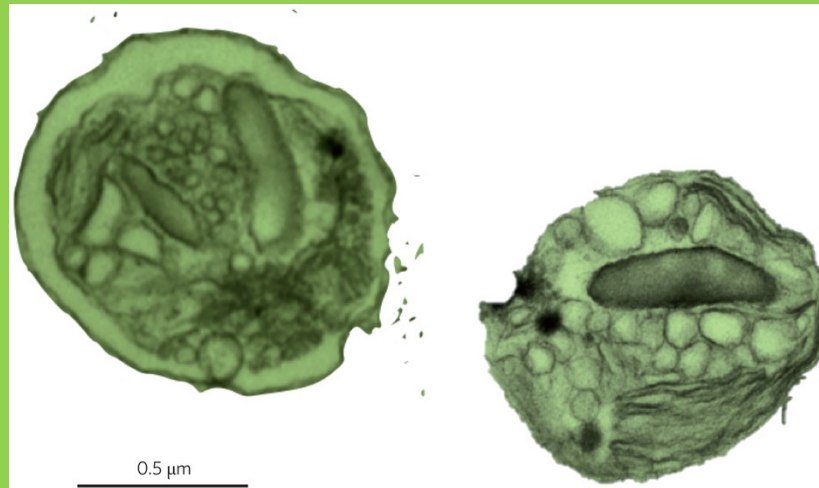
chycené bakterie; 10 = vložka detritu; 11 = nálevníci; 12 = mesometazooplankton; 13 = mikrometazooplankton (z Arndta: Marine Microbial Food Webs 7: 3, 1993).

Řasy

- oxýgenní fotosyntéza – 50% kyslíku v atmosféře z fytoplanktonu (každý pátý nádech-O₂-pochází z *Prochlorococcus*, oceány)
- sladkovodní ekosystémy, moře, vlhká půda a skály, lišejníky
- polutant eutrofizovaných toků

Streococcus – trpaslík mezi eukaryoty

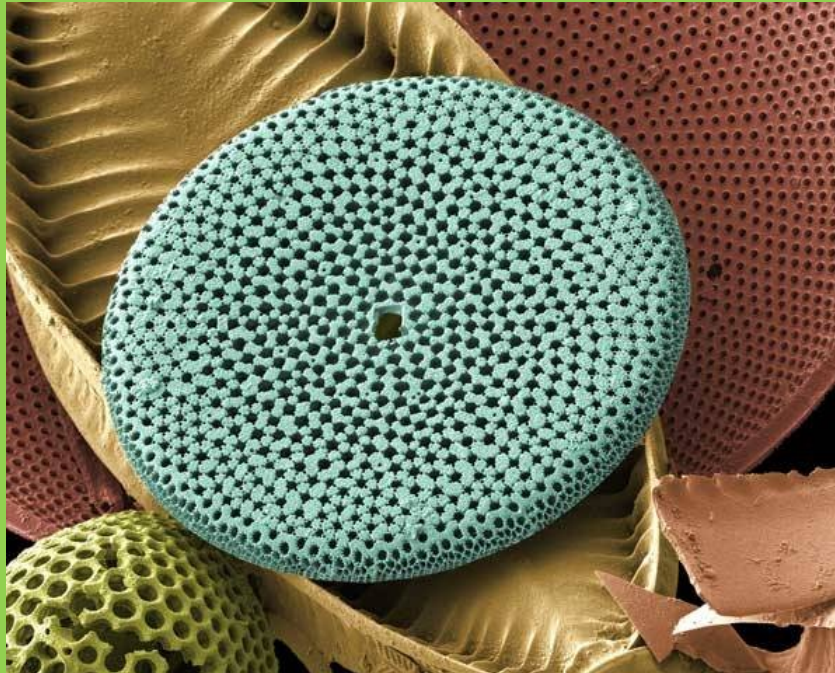
- rod jednobuněčných kulovitých zelených řas , mořský plankton
- 1994 ve Francii, nalezen byl na mnoha jiných místech v světovém oceánu
- nejmenším známým volně žijícím eukaryotickým organismem - 0,8 μm
- jaderný genom má 12,56 milionů párů bází a byl osekvenován v roce 2006
- *Ostreococcus tauri* má 14 chromozomů, jeden chloroplast a několik mitochondrií
- geny pro C₄ fotosyntézu, typická pro vyšší rostliny





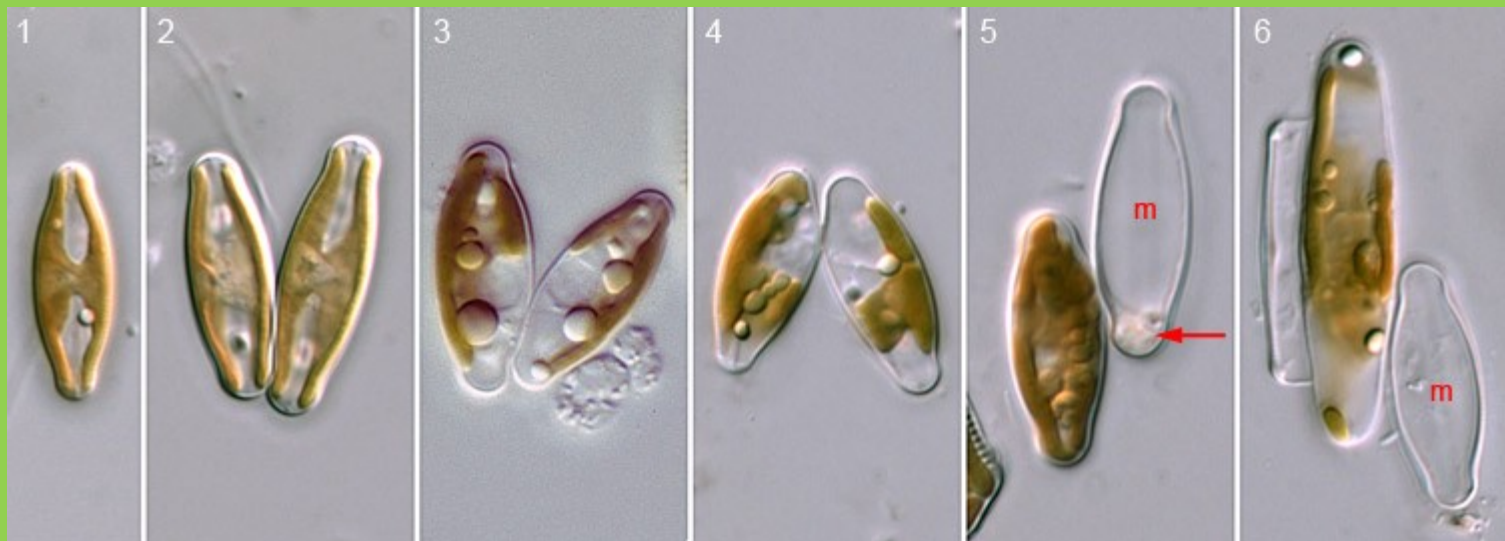
Rozsivky

- schránka frustula - polymerizovaný oxid křemičitý, epithéka a hypothéka
- aktivní vychytávání kys. křemičité z prostředí (rychlostí až 18 mol/sec)
- nepohlavní rozmnožování - každá z dceřiných buněk jednu část mateřské frustuly a druhou, vždy tu menší, si dotvoří
- v případě nedostatku křemíku se nepohlavní rozmnožování zastavuje
- pokud dojde zmenšování části populaci k hraniční velikosti (cca 1/3 max.vel.) dochází k pohlavnímu množení
- pohl. se množí do další prahové velikosti – pak populace vymírá



Pohlavní rozmnožování rozsivek

- u centrických rozsivek je oogamické
- splývá při něm nepohyblivá vaječná buňka s pohyblivou jedno -bičíkatou spermatickou buňkou
- penátní rozsivky se rozmnožují izogamicky - splýváním stejně velkých gamet, které vznikají ve dvou těsně spojených párujících se buňkách (gametangia)
- prokázána i produkce feromonů k vyhledání sexuálního partnera
- výměna genetické informace
- zygota (auxospora) zvětšuje svůj objem a uvnitř se vytvoří iniciální buňka výrazně větší než rodičovské buňky



https://rbg-web2.rbge.org.uk/algae/sellaphora/sellaphora_mating1.html

Sellaphora auldreekie

- schránky odumřelých rozsivek tvoří horninu diatomit (křemelinu), který se využívá se jako filtrační či sorpční materiál
- 20–25 % roční celkové primární produkce Země
- spolu se sinicemi se asi podílely na vzniku kyslíkaté atmosféry na Zemi



<https://www.futurity.org/diatoms-ocean-nutrients-1353212-2/>

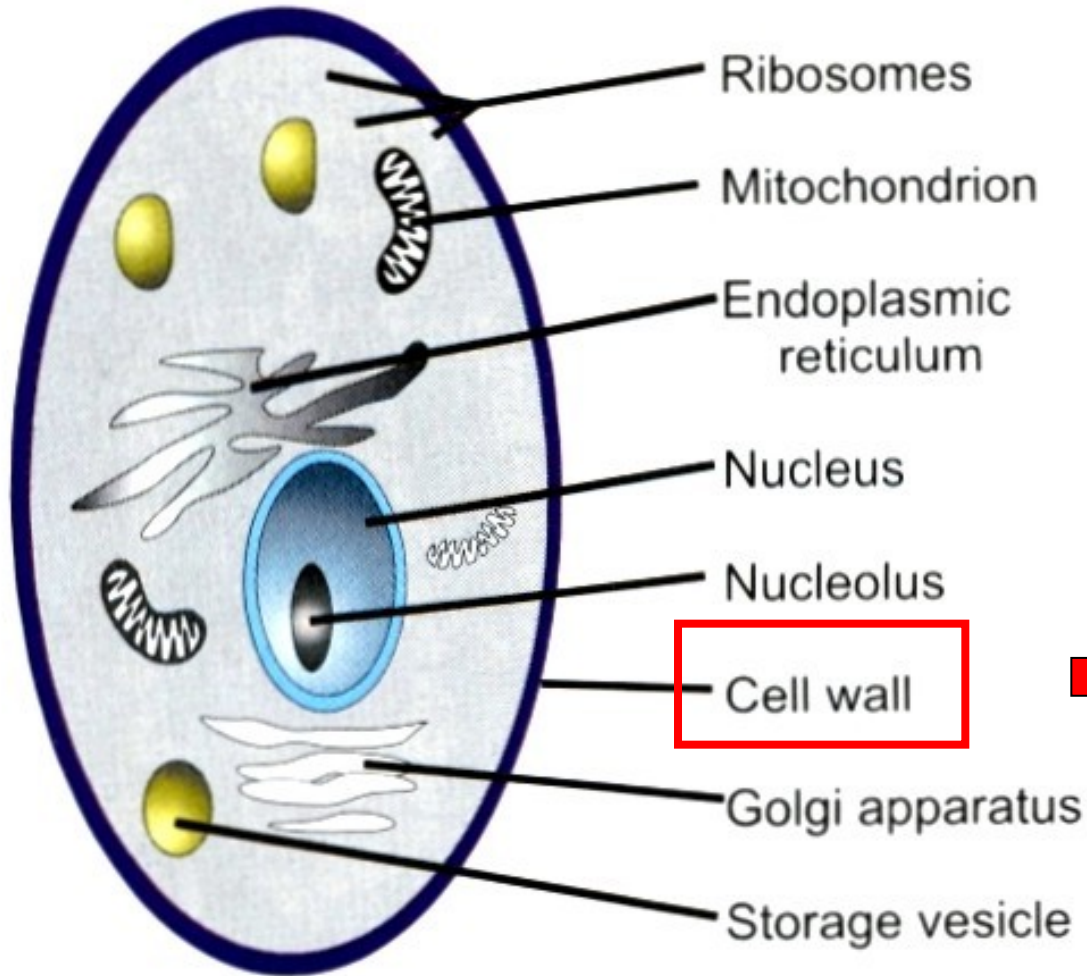
Houby

- odhad – více než 1,5 mil druhů
- heterotrofní, vláknité, chitin a glukán v buň. stěně
- dekompozice, recyklace org. materiálu vč. ligninu a celulózy
- koloběh prvků
- ekonomické ztráty, poškození hospodářských plodin (plísně)
- využití v potravinářství – sýry, tempeh
- lékařství – penicilin...

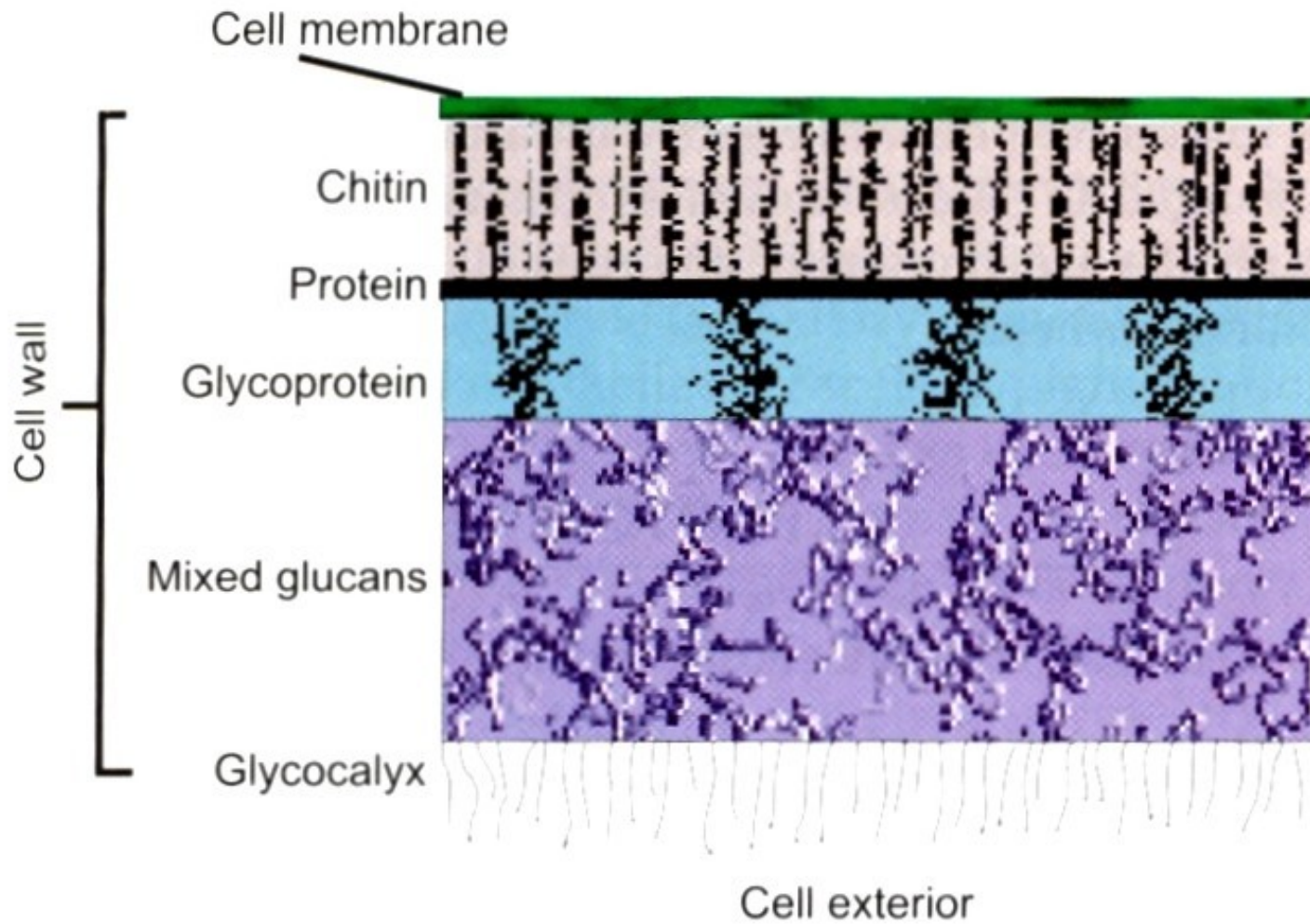


Chytridiomykóza je závažné onemocnění obojživelníků zapříčiněné chytridiomycetní houbou ***Batrachochytrium dendrobatidis***. Zoosporangia napadají vrchní vrstvy pokožky a narušují její normální funkce. Nemoc byla poprvé detekována na konci 20. století. Její nedávné objevení, rychlost šíření a samotná letálnost dělá z chytridiomykózy globální hrozbu, která je dále podporována současnými změnami klimatu. Nákaza byla dosud zjištěna u více než 350 druhů obojživelníků na všech kontinentech kromě Antarktidy, přičemž nejméně 34 druhů obojživelníků kvůli této nemoci vyhynulo

Struktura typické houbové buňky



Struktura buněčné stěny hub

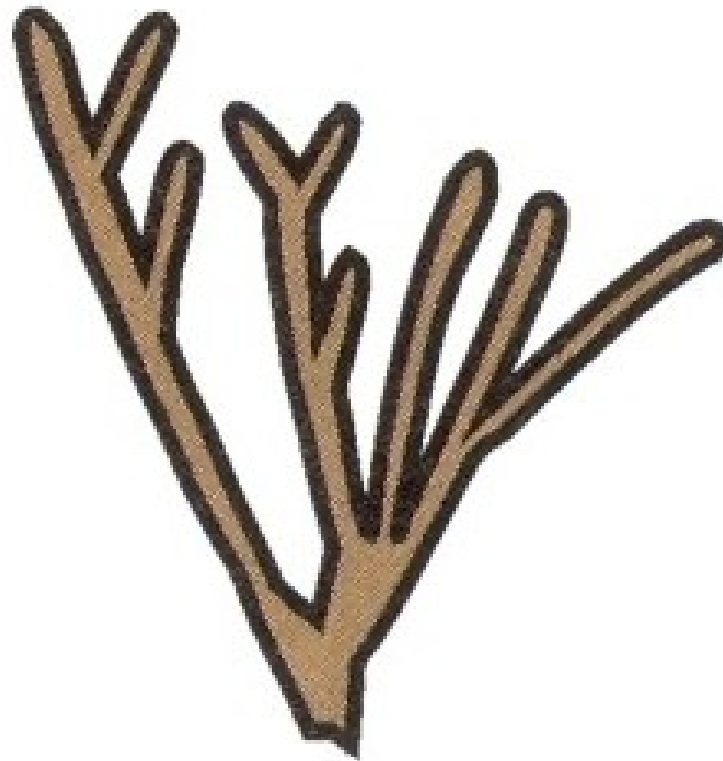


Chitin = polymer derivátu glukózy, N-acetylglucosaminu

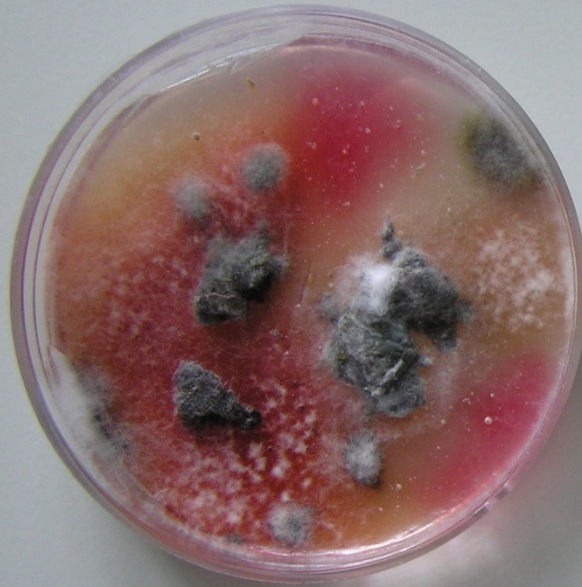
Strukturální typy hyf, které se navzájem proplétají a vytváří mycelium



Septate hyphae

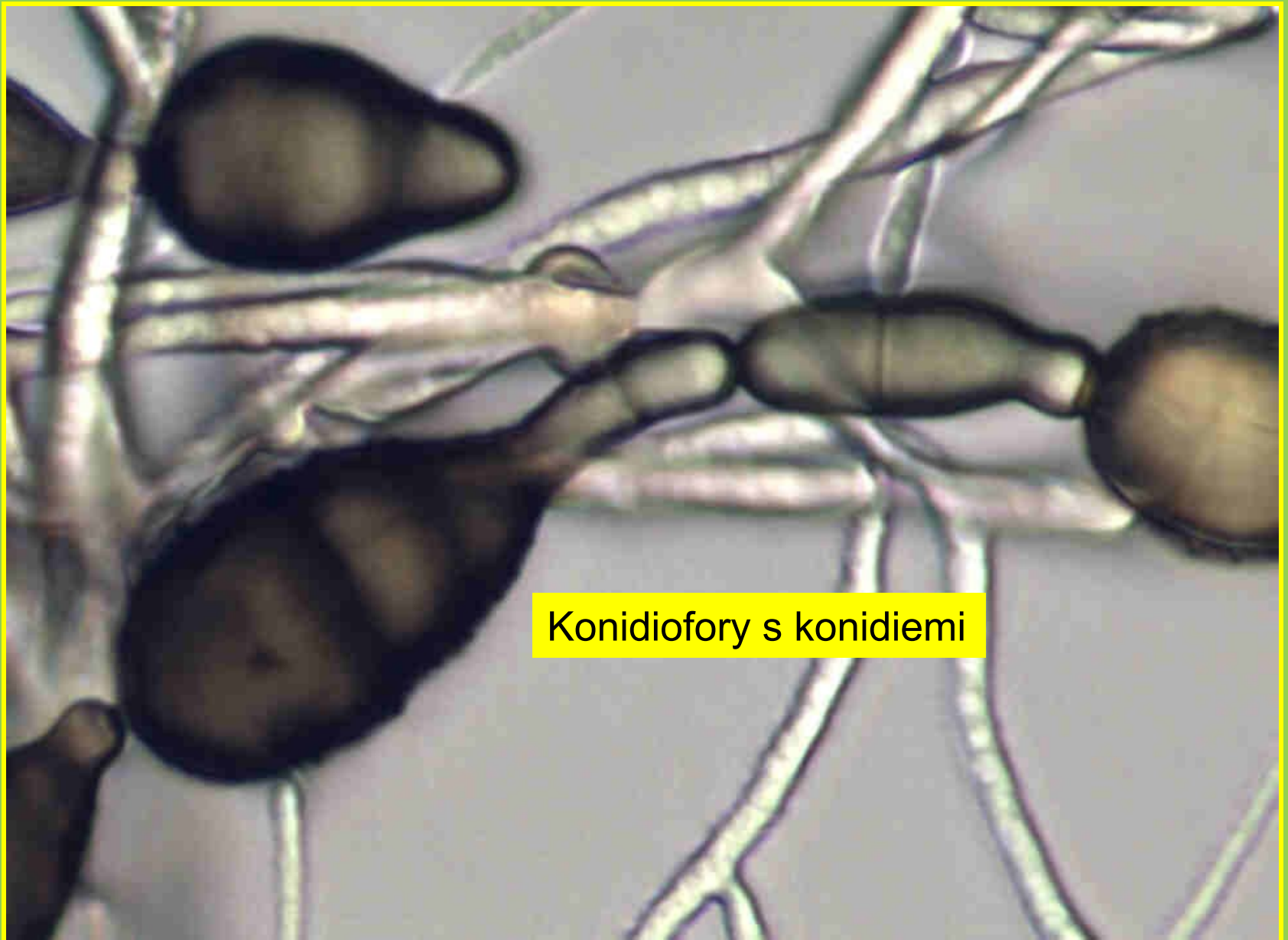


Non-septate hyphae



Micromycety



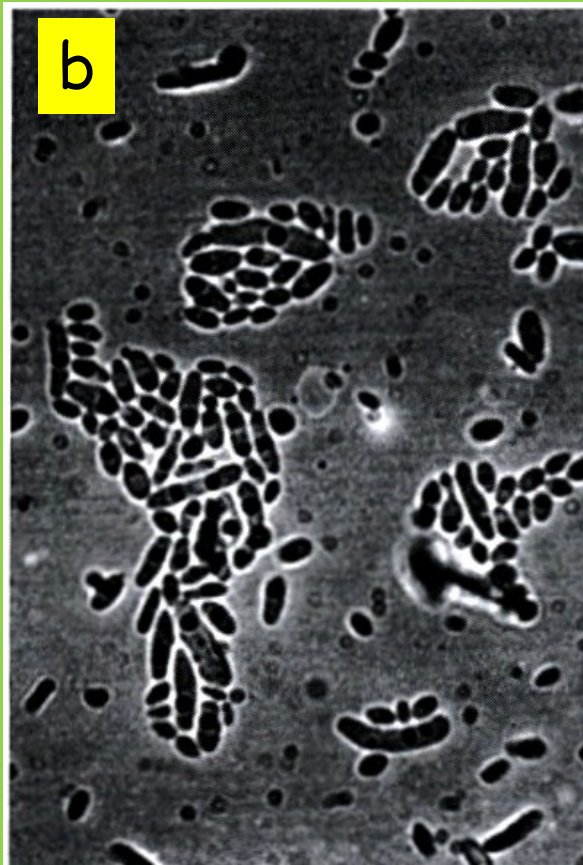
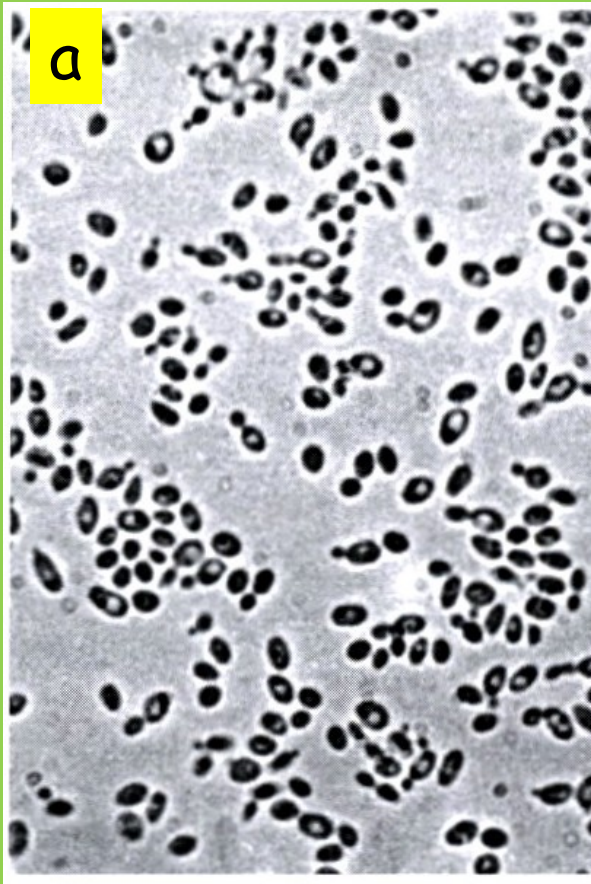


Konidiofory s konidiemi

Alternaria sp.

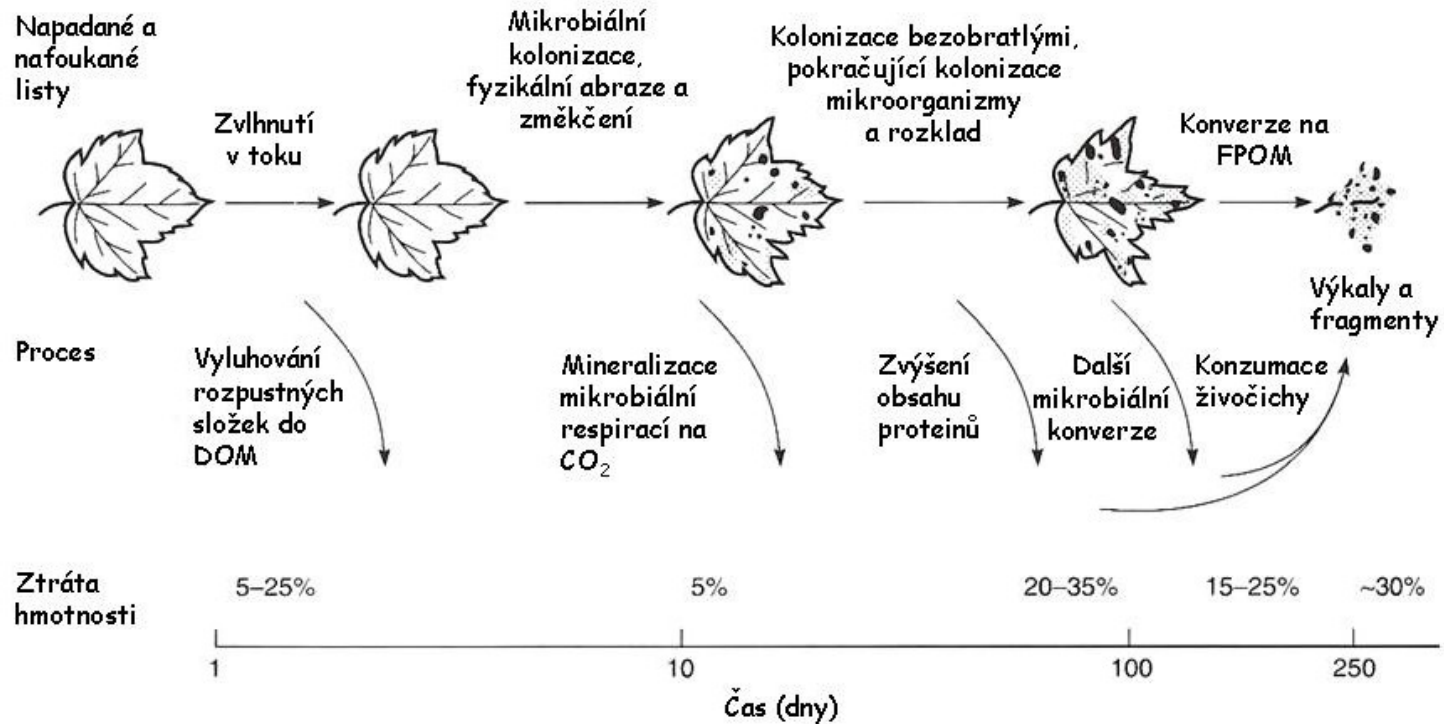


Cladosporium sp.



Kvasinky: (a) *Saccharomyces cerevisiae* (300x enlargement); (b) *Hansenula anomala* (400 x), and (c) *Candida tropicalis* (400x)

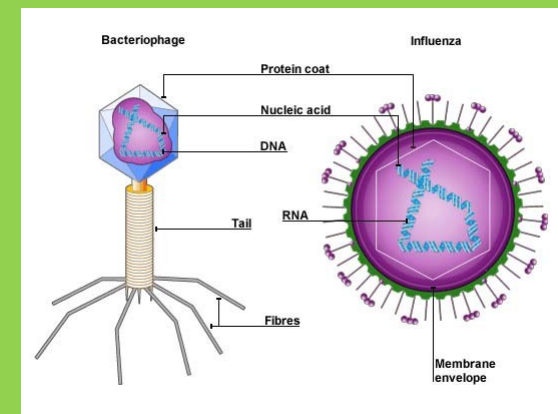
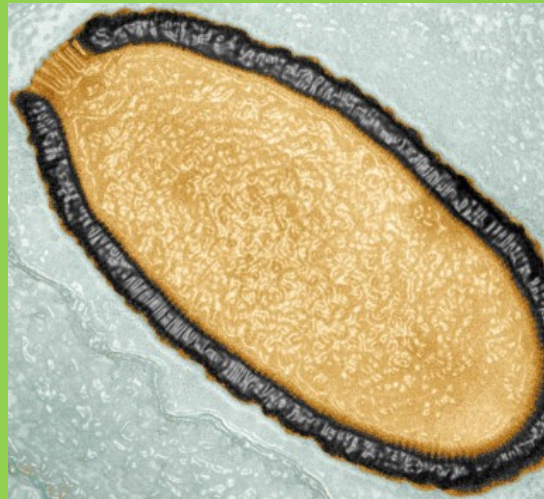
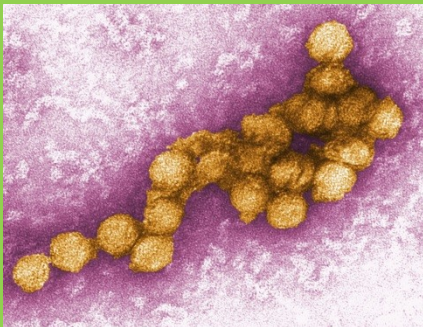
Průběh rozkladu listí



Schema mikrobiální kolonizace a středně rychlého rozkladu listí v temperátním toku. Během mikrobiální kolonizace hrají významnou roli mikroskopické houby, které kolonizují listy jako první. Detaily osudu materiálu konvertovaného do jemně partikulované organické hmoty (FPOM) nejsou dosud známy. Vyluhovaná rozpuštěná organická hmota (DOM) je pravděpodobně rychle zachycena mikrobiálním příjmem ve vrstvě sedimentu (podle Allan 1995).

VIRY

- nebuněčné organismy a svou stavbou se od buněk dramaticky liší
- virovou částice - především z bílkovin a nukleových kyselin
- nerostou, nedělí se a ani nejsou schopné vyrábět (bez cizí pomoci) energii či vytvářet vlastní bílkoviny
- genetickou informaci ve formě DNA nebo RNA - uloženy v kapsidě
- složitější mohou navíc na povrchu obsahovat obalovou membránu pocházející z napadené buňky
- v kapsidě mnohých virů mohou také být různé enzymy
- diverzita neznámá, spoustu neznámých virů, jen savci hostí statisíce druhů
- menší než buňky 0.02-0.2 um, ale existují výjimky - *Pithovirus* 1,5 um



- viry hrají důležitou roli v přírodních systémech
- bakteriofágy, cyanofágy, virofágy
- moře - v 200L vody několik tisíc virálních genotypů, 1 kg sedimentu miliony virálních genotypů...
- mortalita způsobená viry vede k uvolnění velkého množství nutrientů z mrtvých těl do prostředí
- mohou měnit druhové a strukturu společenstev

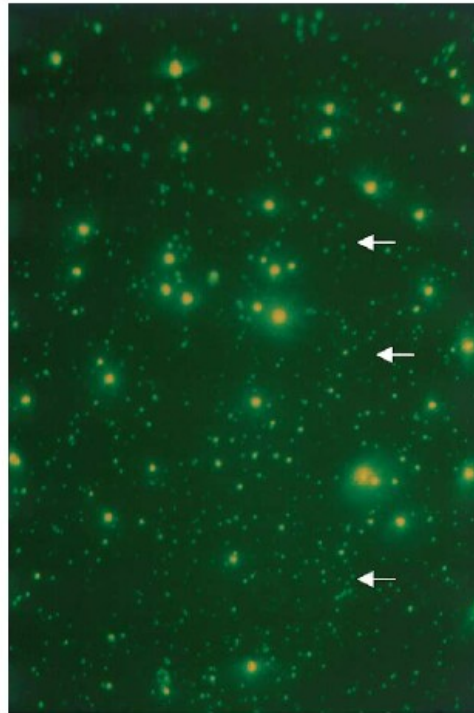


Fig. 4. Epifluorescence microscopy picture showing viruses and bacteria in a water sample from the Bay of Villefranche (France). Viruses and bacteria were stained with SYBRGreen I. Arrow heads point to particles, which are considered viruses based on size and staining intensity.

Jak viry žijí?

1. Infikují buňky: bakterie, archea, eukaryota
2. Využívají buňku (jejího metabolismu) k vytvoření dalších virů
3. Zničí buňku-lyzují ji a uvolňují do prostředí (vody) mnoho dalších virů

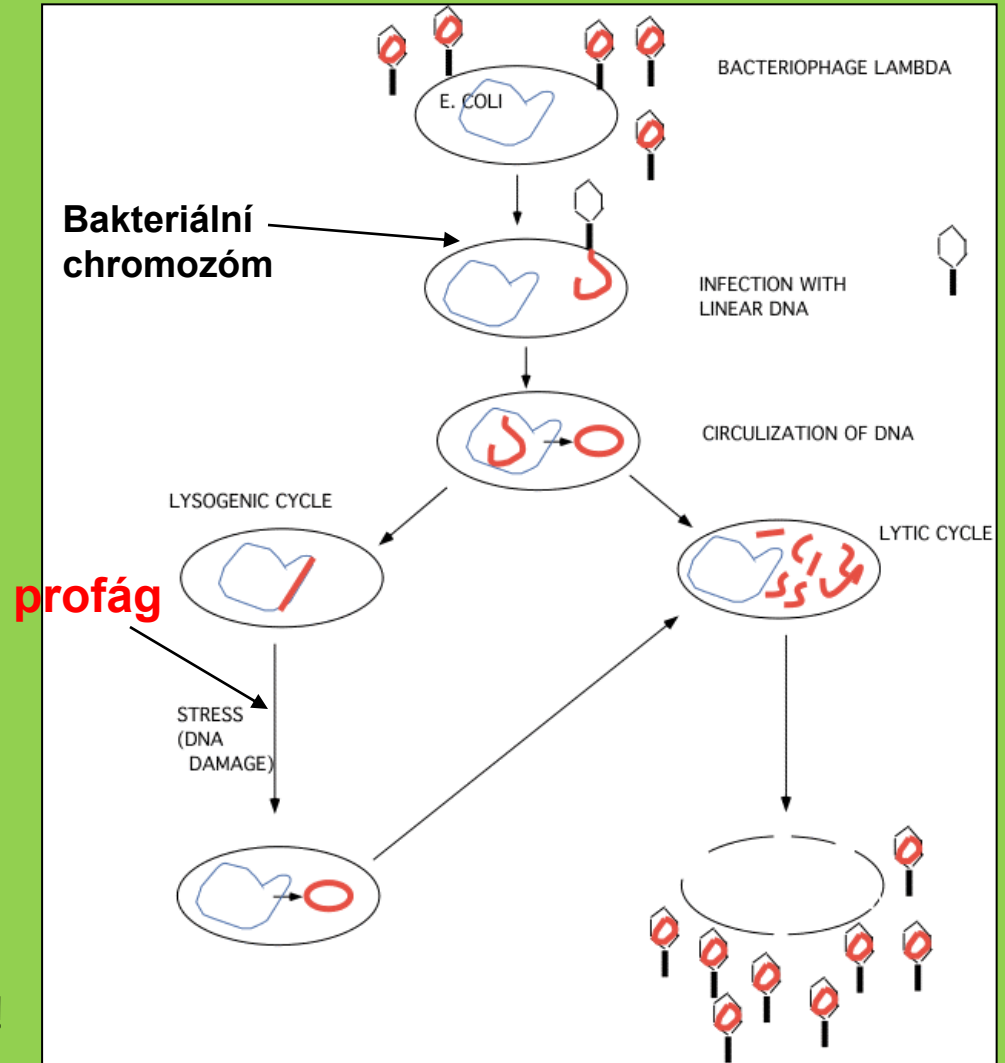


Lysogenní fáze:

Některé viry (temperované) mají lysogenní fázi
= integrace virového genomu do bakteriálního genomu

Profág se replikuje s bakteriální DNA; je chráněn proti jiným virům

Virulentní viry: pouze lytický cyklus !!!



Lysogenní fáze

Lytická fáze

Jaký je vliv virů na mikroby ?

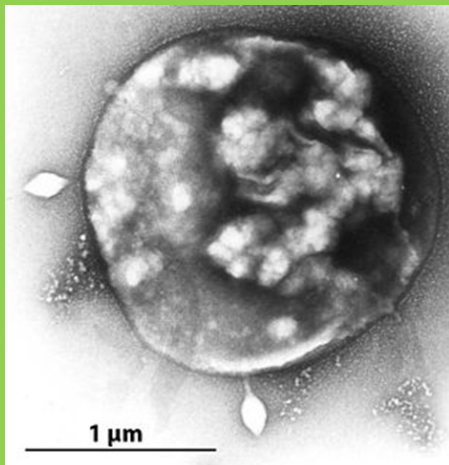
První krok: jaká část bakteriální mortality je způsobená virální lýzí ?

Mnoho metod.....

a) procento viditelně infikovaných buněk (*percent of visibly infected cells*) upravených vzhledem k neviditelně infikovaným (*corrected for those not visible*)

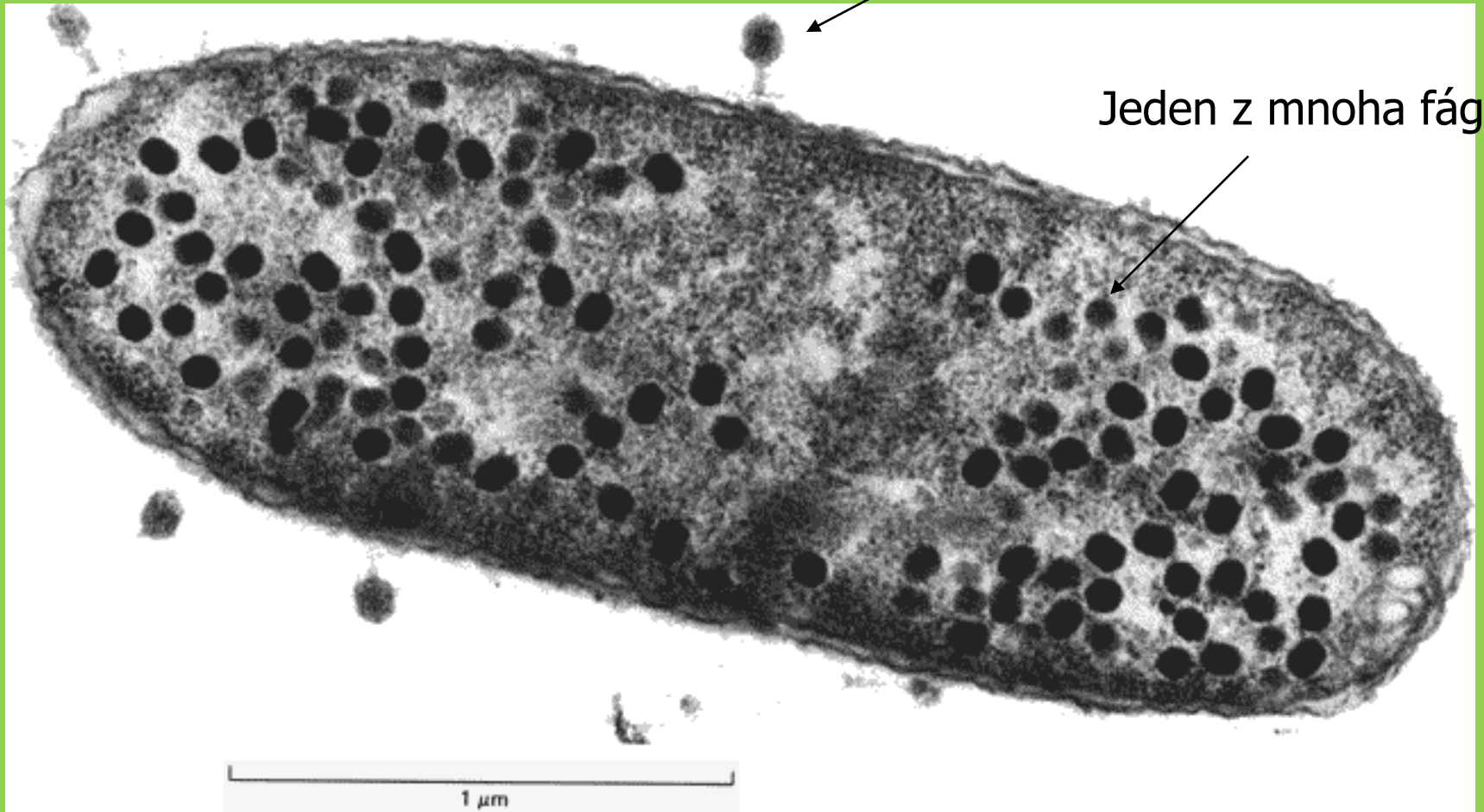
Viditelně infikovaných = 0.8-4 %

Aktuálně infikovaných = 8-40% → frakce bakterií usmrčených viry



Fág

Jeden z mnoha fágů



1 μm

Další metody jsou založené na měření virové produkce..

Počet bakterií usmrcených viry = **Virová produkce** / **burst size**

Burst size: počet virů produkovaných z lyzovaného hostitele. Obvyklý předpoklad = 50.



Jaká je tedy bakteriální mortalita způsobená viry?

Značně kolísá: 0-100%

Pouze jedno přímé srovnání...

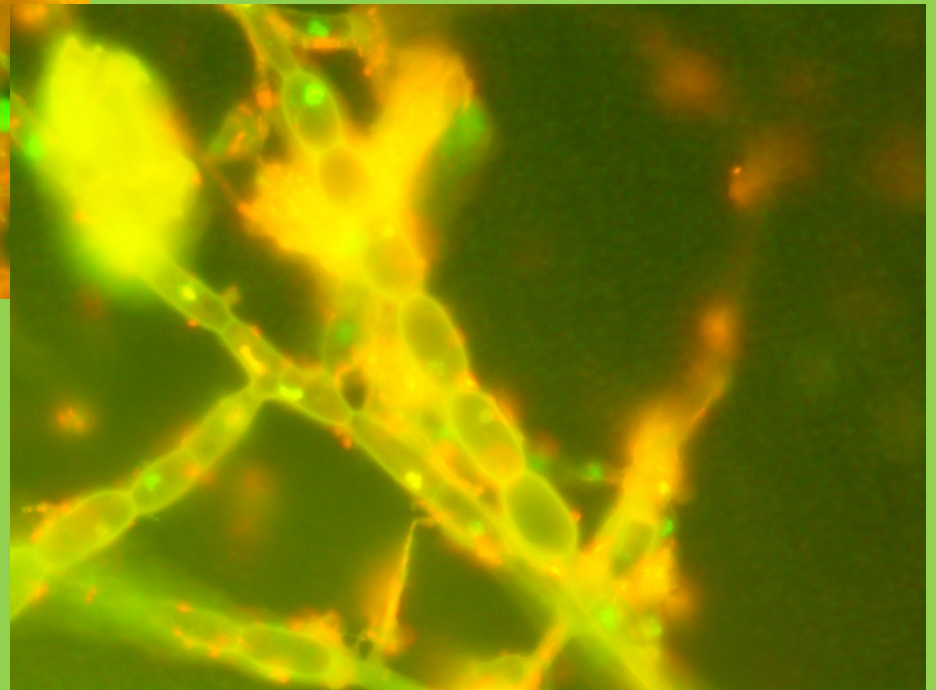
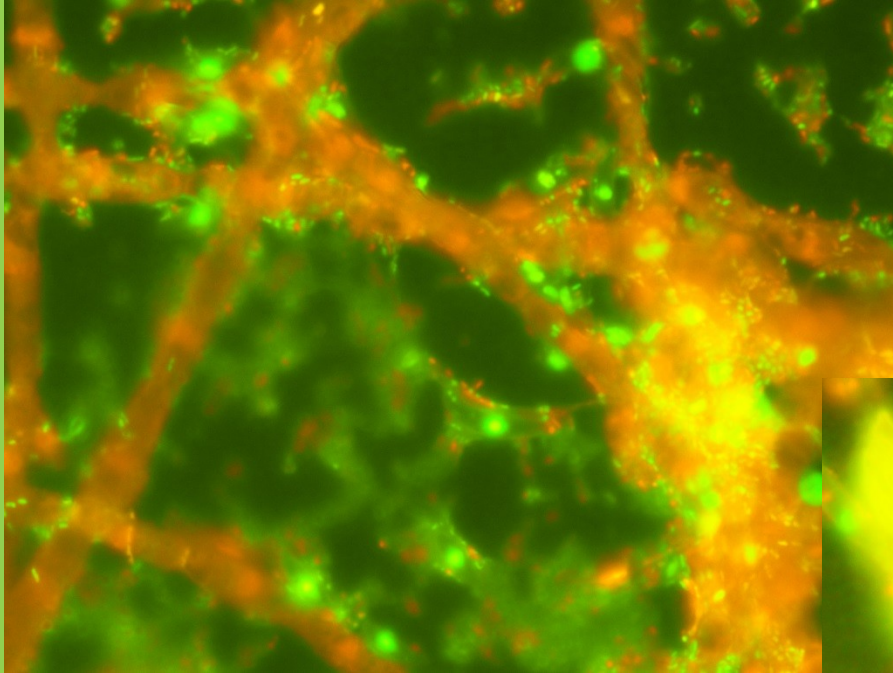
Nejlepší odhad: 40%, založeno na přímém srovnání virů a žraní prvoky (Fuhrman and Noble 1995)

Dosahuje téměř 100% v anoxických vodách. Proč ?



Jenom málo protistů (eukaryot) může žít bez kyslíku

Děkuji za pozornost



Vlákna houby *Cylindrocarpon* v minerálce 😊