

EKOLOGIE MIKROORGANISMŮ 5

Mikrobiální komunity



Mikrobiální populace

- populace –soubor individuů jednoho druhu v průběhu dostatečně dlouhé doby
- zaujímající daný prostor uvnitř kterého se uskutečňuje volné nahodilé křížení (panmixe)
- nejsou zjevné izolující bariéry
- mikrobi – pohlavní i nepohlavní množení – populace z jednoho klonu
- definice platí jen pro geneticky homogenní populaci (klonovou kulturu vzniklou nepohlavním rozmnožováním buňky)
- i čistá kultura bude po určité době obsahovat mutanty – když dosáhne četnosti vyšší než 10^8 – heterogenním populace
- kolonie přes 10^9 nejsou výjimkou
- každá populace má své charakteristické vlastnosti/regulačních mechanismů, které ji charakterizují jako samostatnou funkční jednotku:
velikost populace, hustota, rychlost růstu, odumírání,

Velikost populace:

- dá se vyjádřit četností, tj. počtem individuí ji tvořících
- nebo celkovou hmotností (biomasou) těchto individuí-kvasinky 10^{10} (sušina menší než 1g)

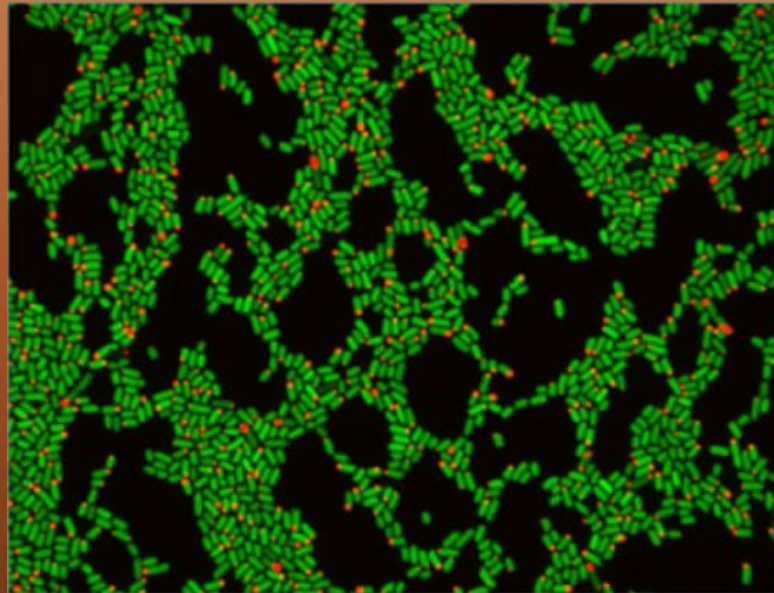
Vztah mezi biomasou populace (B), její četností (N)
a rozměrem individua (kok o průměru r), kdy se specifická
hmotnost buňky blíží jedné, se dá vyjádřit jako:

$$B/N = K \times r^3$$

- K – konstanta úměrnosti, r – průměrný rozměr individua
- vliv velikosti buňky na poměr biomasy k četnosti (kultivační podmínky)
- zvýší-li se průměrná velikost buňky o 30%, zvýší se poměr B/N více než 2x

- **hustota populace** = počet individuí v jednotce objemu (povrchu)
- v mikrobiologii se někdy používá termín = **koncentrace biomasy**
- vztah biomasy a objemu, který zaujímá (g/l, mg/ml) rozměr individua)

- lze tak udávat i koncentraci látek ovlivňujících rozvoj buněk (živiny atd)
- důležitá veličina - pro skladbu populace z hlediska podmínek prostředí
- řada regulačních mechanismů (rychlost růstu a odumírání)



- **rychlost růstu – přírůstek koncentrace biomasy (nebo hustoty populace) za jednotku času**, jestliže nedochází k odumírání

- celková rychlost růstu:

$$V_t = dX/dt$$

(dX- přírůstek konc. biomasy X za krátký časový interval dt)

- absolutní porodnost v obecné ekologii
- **Specifická rychlost růstu** – přírůstek každé jednotky biomasy (individuum) za jednotku času

$$\mu = V_t/X$$

(celková rychlost ku koncentraci biomasy X nebo hustotě populace)

- hladina porodnosti (specifická porodnost)

- **rychlost odumírání** (snížení koncentrace biomasy populace)

celková **rychlost odumírání** $V_r = dX/dt$

(**poměr snížení hustoty populace a času, za který ke snížení došlo**)

- **specifická rychlost odumírání** – zmenšení každé jednotky biomasy (snížení na individuum) za jednotku času

$$\epsilon = V_r/X$$

- **Dynamika populace závisí na rozdílu rychlosti růstu a odumírání:**

$$dX/dt = (\mu - \epsilon) X$$

- Výsledná rychlost růstu populace dána charakteristikou populace a podmínkami vnějšího prostředí (může být i negativní)

Mikrobiální společenstva

- různé populace na daném stanovišti
- **autochtonní** vs. **allochtonní** druhy

Některé lokality hustě osídleny, jiné podstatně méně

- záleží na koncentraci živin (eutrofizované vody, rhizosféra..)
- i prostředí bohatá na živiny někdy nejsou osidlována (sirupy, rostl. i živ. tkáně obsahující antibakteriální látky, siláže)
- i relativně stejná prostředí mohou mít velké rozdíly v hustotě
- buněk – kůže, půda

Rozdíly nejen v hustotě osídlení, ale i v počtu mikrobiálních skupin:

- společenstvo monospecifické – jeden druh
- extrémní prostředí (jeden nebo více faktorů limituje růst – teplota, pH, ..)
- nemoci rostlin a živočichů
- společenstva s velkou rozmanitostí odolnější ke změnám prostředí –
- limitující je zásoba živin – harmonický soulad všech populací
- půda, gastrointestinální trakt - každý druh je specializován na určitou funkci

Složení společenstva

- dominantní druh – téměř v každém společenstvu
- častěji více kodominantních druhů
- druhové zastoupení společenstev v určitých polohách/stanovištích je téměř identické
- kvantitativní zastoupení jednotlivých druhů může však být odlišné (dominanty se mohou lišit)

- mikrobiální společenstva jsou systémy otevřené (není přesná hranice – jeden mikrob v půdě i ve vodě)
- dynamické – v prostoru i čase
- podobná společenstva se rozvíjí v obdobných lokalitách



Výživa mikrobiálního společenstva

- mikrobiální společenstvo je zcela závislé na svém prostředí
- populace mají různé nároky na své prostředí (nenáročné, náročné - parazit)
- absence některého z druhů společenstva může být vysvětlena vyčerpáním/absencí některé živiny
- růst/velikost populace limitován různými (limitujícími) substráty
- esenciální látky (ale také metabolity) mohou omezovat růst, určovat složení společenstva – kvalitativně i kvantitativně
- jedna esenciální živina může být do určité míry nahrazena jinou
- každá esenciální živina se tak stává významným ekologickým faktorem (její význam s časem roste)
- limitující živina – vyloučí/omezí určitý druh, případně všechny druhy

Výživa společenstva - požadavky na živiny

- vhodný zdroj energie (světlo, H₂, dusitany, sloučeniny S, org. látky)
- zdroj uhlíku (CO₂, org. C)
- terminální akceptory elektronů (O₂ - aerobi; dusičnany – nitrif. bakterie; CO₂, SO₂- 4, org. látky – anaerobní mikroorganismy)
- zdroje N, P a S
- další živiny (anorganické sloučeniny)
- řada populací vyžaduje přítomnost určité koncentrace K, Mg, Fe, N,P,S
- některé populace využijí tyto prvky i vázané v org. sl., jiné jen v anorg.sl.
- Ca, Fe – ovlivňuje růst
- Cu, B, Mo, Co, Mg – vliv na pigmentaci – ekologický význam – někdy možná náhrada za jiný prvek

Prvek	Typický organismus vyžadující prvek
sodík	halofilní a mořské bakterie, mořské houby
vápník	řasy, bakterie, houby
hořčík	řasy, protozoa, bakterie
molybden	sinice, některé bakterie
bór	některé řasy a bakterie
vanad	některé řasy
chlór	některé mořské bakterie

- kyslík a jeho rozpustnost ve vodě – limitující pro řadu reakcí uskutečňovaných mikroby ve vodním prostředí (rychlost difuze– teplota, povrch)
- oxid uhličitý – lépe rozpustný – reaguje s vodou (H_2CO_3
- rozpustnost biologicky významných plynů v čisté vodě (soli a org. látky snižují rozpustnost hl. O_2) (mg plynu/l vody)
- železo - snadná oxidace/redukce, vliv pH na rozpustnost/srážení
- Fe^{3+} vysráží se při pH3, Fe^{2+} při pH5
- redox potenciál při pH3 vysoký (0,8V), při pH5 – 0 (Fe^{3+} dominantní)
- fosfor – lehce využitelný jen ve dvou formách: anorganicky (fosforečnan PO_4^{3-}) a organický v esterech
- zdrojem P může být i pyrofosfát (hydrolyzuje na ortofosfát)
- ochuzení prostředí – tvorbou nerozpustných fosforečnanů (Fe_2PO_4) nebo sulfidů (FeS) v přítomnosti H_2S
- některé bakterie uvolňují P z apatitu $\text{Ca}_5\text{X}(\text{PO}_4)_3$ - ($\text{X}=\text{F}^-$, Cl^- , OH^-)
- P je pro většinu mikrobů limitujícím faktorem

Teplota (°C)	O_2	CO_2	N_2	H_2S
0	64,9	3346	29,4	7066
10	53,7	2318	23,1	5112
20	43,4	1688	19,0	3846
30	35,9	1257	16,2	2983
40	30,8	973	13,9	2361
50	26,6	701	12,2	1883

- S - sírany –nejsnadněji využívány
 - v litosféře také FeS – biologická nebo chemická oxidace na sírany
 - H₂S – vzniká při biologické redukci síranů, rozpustný ve vodě
 - H₂S a SO₂ i v atmosféře – koloběh síry (člověk, moře, mikroby) významná jak pro biologické, tak geochemické procesy
 - -N – N₂, NO₃⁻, NO₂⁻, NH₃ – ale málo v litosféře i v mořské vodě
 - mnoho v atmosféře – ale...mikrobi využijí většinou jen NO₃⁻, NO₂⁻, NH₃
 - **role mikrobů – významnější než nebiologické transformace**
 - C - nezastupitelný význam
 - Si – ve vodných roztocích málo (křemičitan) některé mikroorganismy ho vyžadují nebo i akumulují
-
- růstové faktory (AK, vitamíny, puriny, pyrimidiny...)
 - většinu si buňky syntetizují samy, ale některé ne
 - většina bakterií v půdě, vodě, rhizosféře, patogeni – vyžadují AK, vitaminy skupiny B
 - velký význam – vliv na kvalitativní i kvantit. složení společenstev
 - houby většinou nevyžadují, jsou ale jimi podporovány v růstu
 - mořské bakterie – zpomalení růstu v nepřítomnosti růstových faktorů

Tabulka 5. Procentuální zastoupení aerobních bakterií z různých lokalit vyžadujících vitaminy.

Růstový faktor	Procento bakterií vyžadujících růstový faktor			
	půda	rhizosféra	kořeny	mořský sediment
Tiamin	44,9	15,2	17,0	28,7
Biotin	18,7	6,1	7,0	28,9
Kys. pantotenová	3,7	3,0	3,0	0,86
Kys. listová	1,8	3,0	4,0	-
Kys. nikotinová	5,6	6,1	5,0	5,5
Riboflavin	1,8	2,0	4,0	0,06
Pyridoxin	1,8	1,0	5,0	-
Vitamin B ₁₂	19,6	2,0	1,0	8,8
Kys. p-aminobenzoová	0,9	1	1	-
Cholin	0,9	1	1	-
Inozitol	0,9	1	1	-

Zdroje energie

1) sluneční záření (světlo)

2) oxidace organických látek – bohatší na energii (než anorg.)

- 40-50% přeměňovaných organických látek zabudováno do buněčného materiálu
- oxidativní fosforylace - za přítomnosti O₂
- fermentace (fosforylace na úrovni substrátu) - za anaerobních podmínek, nízká účinnost - výtěžek jen 5-25%
- ale i tato v prostředí nutná – jinak hromadění některých látek
- i tak mnoho org. l. odolných rozkladu se hromadí v prostředí
- jednoduché org. látky fermentovány obtížně (mravenčany, ..)
- složité org. l. – fermentovány jen některými organismy
- hromadění některých org.látek v prostředí

3) oxidace anorganických látek

- většinou jde o obligátní aeroby - je třeba O₂ jako akceptor elektronů
- schopnost získat různé množství energie ze stejného substrátu dána
- enzymatickým vybavením, tedy genetickou výbavou

Energie získaná mikroorganismy z některých substrátů

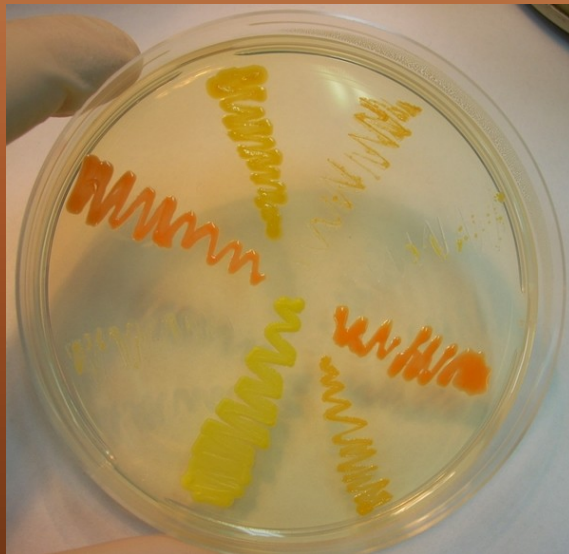


červené světlo

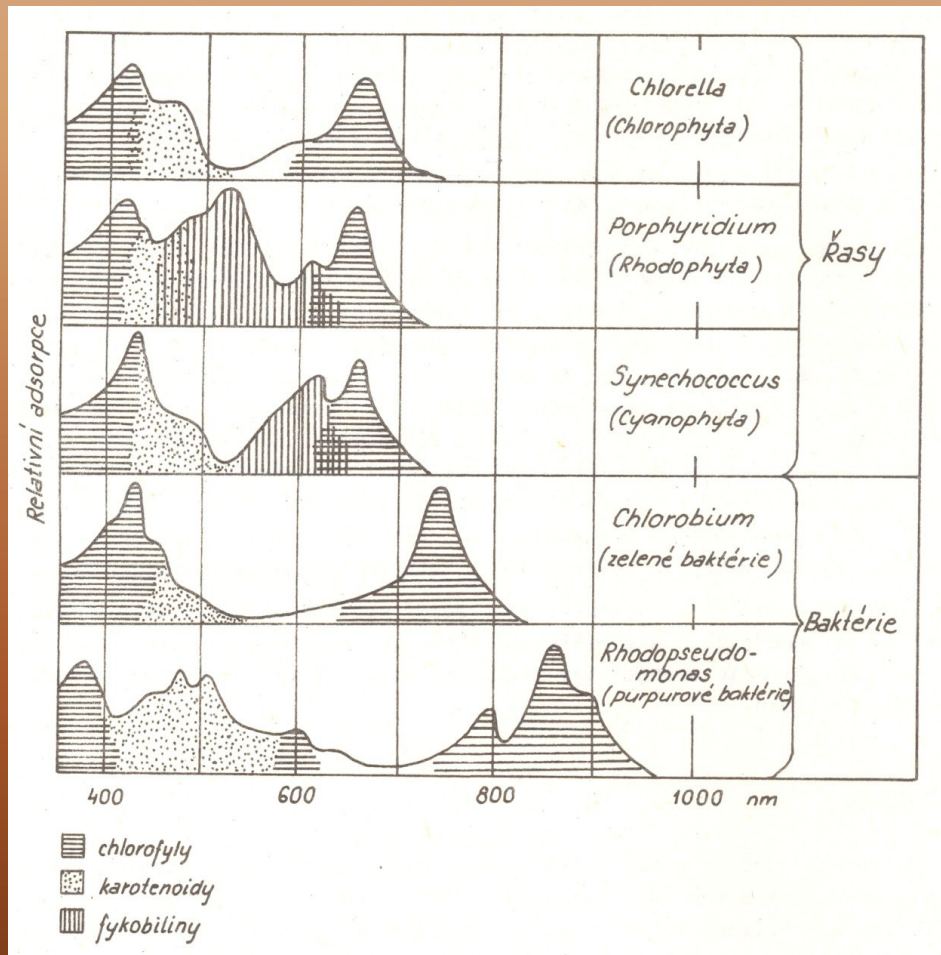
168 KJ na kvantum

Světlo

- kratší vlnové délky – více energie
- pigmenty se liší schopností absorpce záření různých vlnových délek
- absorpce fotonu – elektrony pigmentu na vyšší energetickou hladinu - tyto excitované molekuly vstupují do reakcí – akumulace energie do vazeb a poté využita především pro biosyntetické pochody
- chlorofyly (absorbce při vyšší vlnové délce než řasy) a fykobiliny (sinice, řasy) – přímý vliv na fotosyntézu
- karotenoidy - fotoprotektivní agens
- fotosyntéza u bakterií – anaerobní proces (hluboká voda, povrch bahna)
- u řas – aerobní – v povrchových vodách – vytváří se O₂



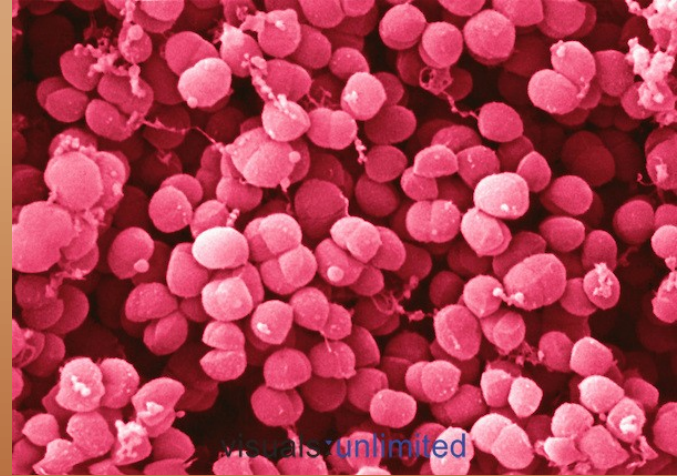
Absorpční spektra některých fotosyntetických mikroorganismů



Význam pigmentů u (fotosyntetických) bakterií

- organismy žijící na světle se vyznačují světlotaktickými reakcemi zabezpečujícími zachování optimálního metabolismu, množení, přežívání

- významnou roli hrají karotenoidy:
 - *Sarcina lutea* (nefotosyntetizující)
 - normálním buňkám na vzduchu světlo nevadí
 - mutanti bez pigmentu na vzduchu odumřou
 - mutanti bez přítomnosti O₂ přežijí

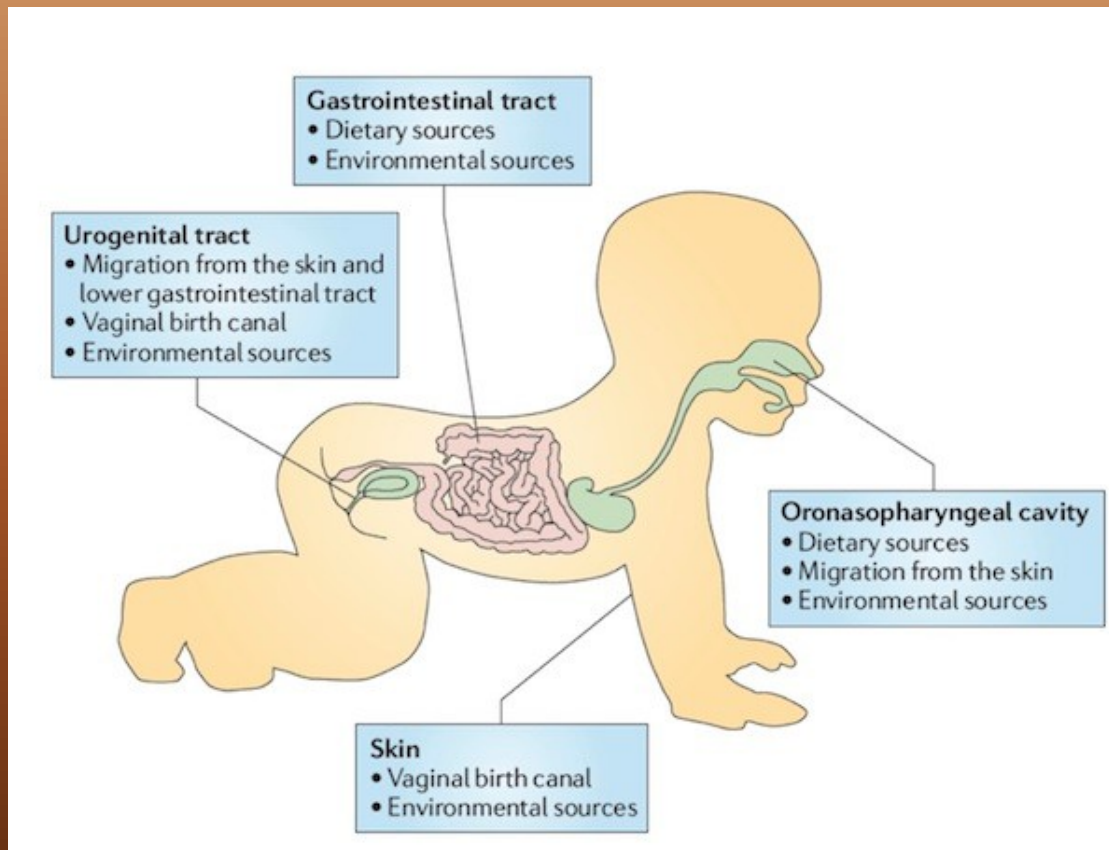


- karotenoidy – fotoprotektivní agens
- i většina nesporulujících bakterií a kvasinek ve vzduchu a vrchních vrstvách půdy produkují karotenoidní pigmenty
- Podobná funkce i u fotosyntetizujících bakterií - mutanti bez karotenoidů fotosyntetizují za anaerobních podmínek
- v aerobních podmínkách ve tmě rostou heterotrofně
- v aerobních podmínkách na vzduchu odumřou
- fotosyntetizující organismy často červené (karoten překryje chlorofyl)

Kolonizace

- v přírodě všechna prostředí kolonizována mikroby
- primární „pionýrská“ kolonizace – dostatek živin a žádný kompetitor
- rychlý rozvoj pionýrských společenstev, brzy populace dosáhnou limitující četnost
- limitující síly – zabrání přemnožení některé z populací
- fyz. a chem. změny činností organismů i biologické změny (parazitismus)
- Identita pionýrských druhů – dle složení prostředí (různé vody, rostliny, zažívací trakt kojenců - dle výživy)
- lokality s omezenou/žádnou organickou hmotou – nejprve fotosyntetické mikroorganismy, později heterotrofové

- lidský plod – sterilní – ale dostatek živin (org.l.) – ale jen některé skupiny mikrobu schopné kolonizace – složení mikroflóry se mění s věkem (po narození rozdíl i v řádu hodin)
- fermentace ovocných šťáv – napřed kvasinky – později rod *Acetobacter*
- rozklad rostlinného materiálu – nejprve rozklad cukrů, org. kyselin, potom bakterie a houby rozkládající rostlinné polymery



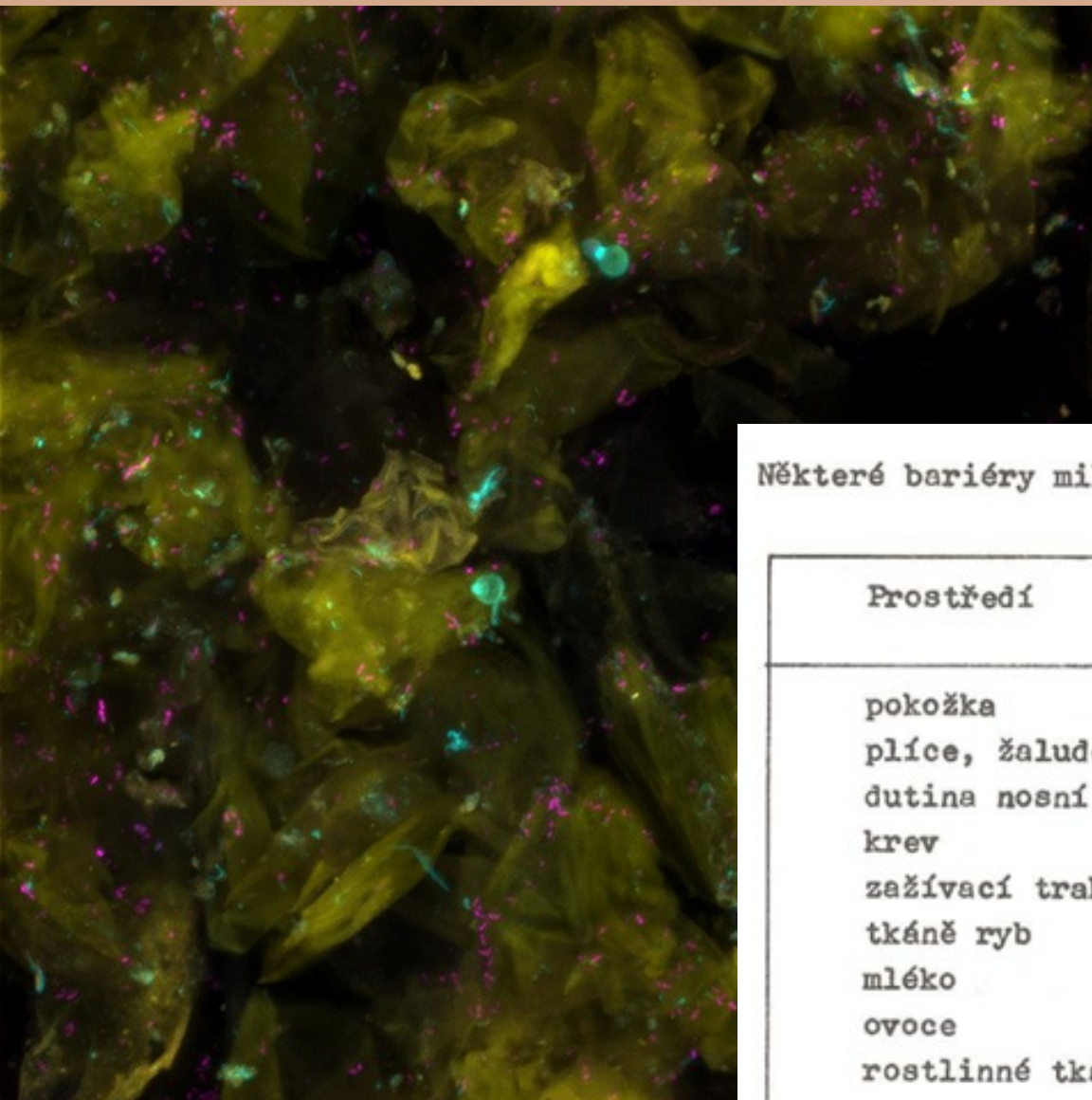
Bariéry kolonizace

- každé prostředí je selektivní – žádný druh není primární pro všechny lokality (i když transport různých druhů)
- působí zde biologické i abiotické faktory - tzv. rezistence prostředí – snížení biomasy apod.

podmínky bránící ustanovení nebo rozvoji – bariéry:

- chemické (působení v živ. a rostl. tkáních, na povrchu)
- mechanické (kutikula, korová vrstva kořenů, kůže, sliznice)
- mastné kyseliny (nenasyčené) – kůže
- toxická kyselina mléčná produkovaná v zánětlivých ložiscích zabrání růstu *M. tuberculosis* a *S. aureus*
- lysozym – ve všech tělních tekutinách a tkáních sliznice nosní a plicní, je ve slinách, slzách (někteří patogeni necitliví...)
- peroxidázy – působí nepřímo – produkce toxických látek
- mléko sterilní - chráněno peroxidázou a aglutininy
- proteiny s nízkou molekulovou hmotností - protaminy, proteiny v orgánech ryb a lidském séru,
- interferon – nejefektivnější – proti virům, ale i bakteriím
- rostliny – fenolické látky
- i půda má rezistenci prostředí – ne všechny spory vyklíčí...

Lidská kůže (žlutá) pokrytá rezidentními houbami (modrá) a bakteriemi (magenta - fialová)

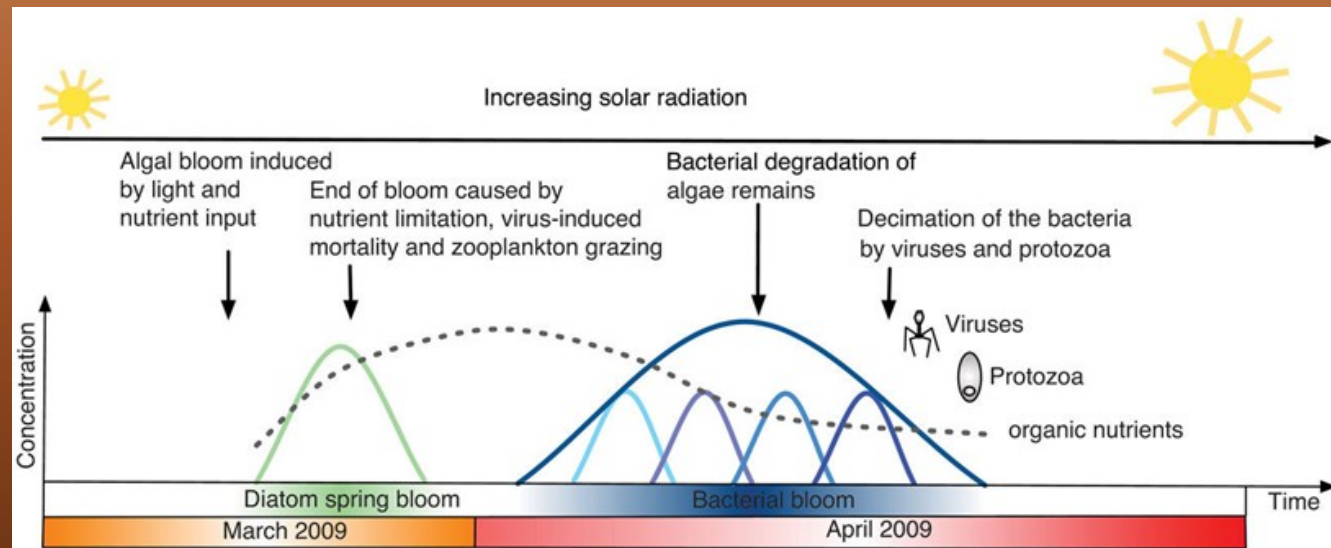


Některé bariéry mikrobiální kolonizace.

Prostředí	Bariéra
pokožka	mastné kyseliny
plíce, žaludek	sliznice
dutina nosní	lysozym
krev	fagocyty, protilátky
zažívací trakt	sliznice
tkáně ryb	protaminy
mléko	peroxidáza, aglutininy
ovoce	kutikula, kyseliny
rostlinné tkáně	glykosidy, fenolické sloučeniny
virem infikované tkáně	interferon

Sukcese a klimax

- sukcese – neperiodické změny v druhovém i kvantitativním složení společenstva
- sukcese - vlivem podmínek prostředí - směřuje k vytvoření rovnovážného stavu mezi prostředím a společenstvem
- **sukcesní řada vrcholí klimaxem** –druhová rozmanitost a počet mezidruhových vztahů (zvyšování diverzity - kolonizace neosídlených nik, změny vnějšího prostředí – činností mikrobů)
- **klimax** - konečné stadium sukcese společenstva s příslušnou biocenózou, mající velkou druhovou diverzitu, nejvíc potravních vazeb, proto i největší rovnovážnou stabilitu, produkci i nejekonomičtější koloběh látek



Primární sukcese – po pionýrské kolonizaci

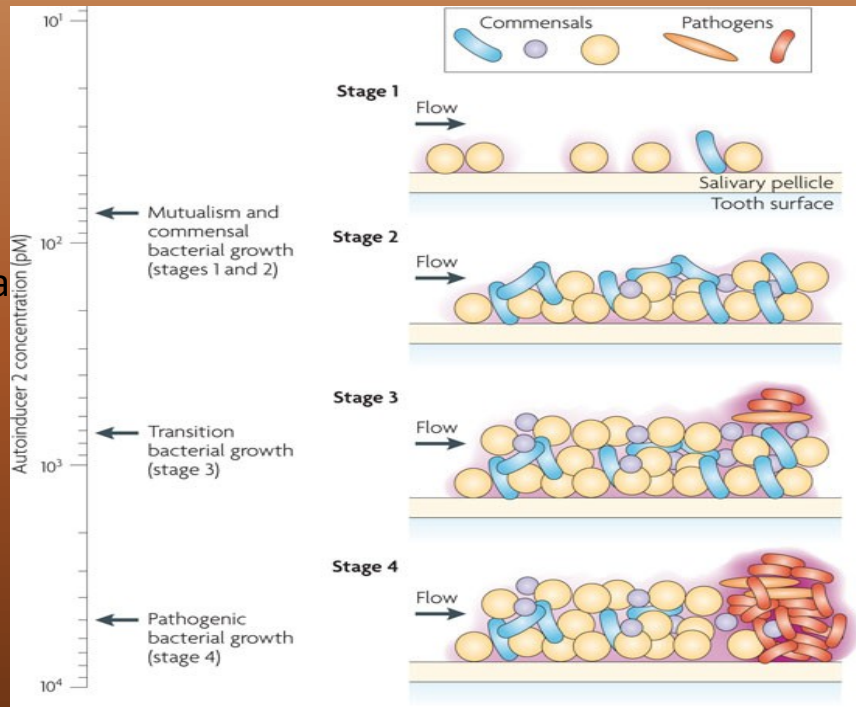
- první kolonizátoři – pionýrské organismy – musí se do panenského prostředí dostat – mají účinný mechanismus disperze a další vlastnosti pak dle charakteru prostředí, které kolonizují
- preventivní kolonizace – pionýrský organismus změní prostředí takovým způsobem, že zabrání další sukcesi, i on je nakonec nahrazen jiným organismem, který je lépe adaptován na takto změněné prostředí a tak to pokračuje dál až do doby, až se zde vytvoří relativně stabilní sestava populací nazývaná komunita klimaxu

Homeostaze - stav dynamické funkční rovnováhy v živém organismu

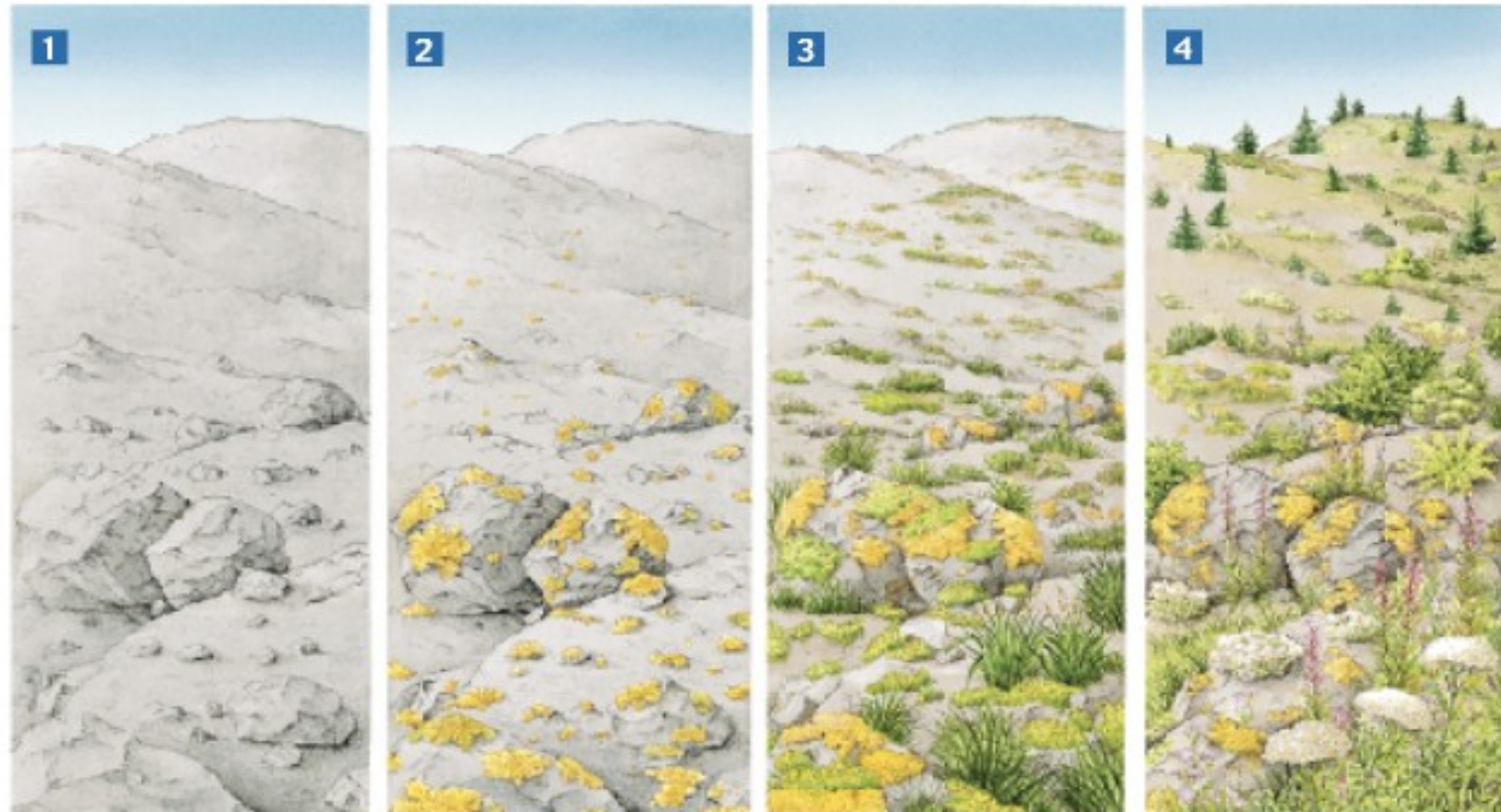
- ekol. schopnost organismu, populace udržet relativně konstantní vnitřní prostředí v situaci, kdy vnější prostředí se mění

Sekundární sukcese

- znovuoživení biocenózy po jejím zničení
- rychlejší – vytvořené podmínky, část populací zachována
- (Intestinální trakt)



directions in the pop-up menu.



Primary Succession Primary succession occurs on newly exposed surfaces, such as this newly deposited volcanic rock and ash. A volcanic eruption destroys the previous ecosystem (1). The first organisms to appear are lichens (2). Mosses soon appear, and grasses take root in the thin layer of soil (3). Eventually, tree seedlings and shrubs sprout among the plant community (4). **Predicting** *What types of animals would you expect to appear at each stage, and why?*

Sukcese a klimax – pokr.

- stanoviště s omezenou organickou hmotou – nejprve řasy
- vtok odpadních vod – nejprve mnoho org. hm., NH_4^+ , málo kyslíku - mnoho bakterií, protozoí, hub, žádní živočichové
- postupně se snižuje koncentrace živin, bakterií, protozoí atd, zvyšuje se obsah kyslíku,
- objevují se řasy a různá fauna

Autogenní sukcese – složení primárního společenstva se mění v důsledku změny prostředí modifikovaného vlastní činností tohoto společenstva

- více pak vyhovuje sekundárním populacím

Allogenní sukcese – změna společenstva vyvolaná změnou fyzikálních a chemických vlastností prostředí vlivem abiotických faktorů bez účasti

- mikroorganismů (vliv teploty, intenzity světla, koncentrace živin), nebo modifikací hostitele
- může mít i cyklický charakter (teplota, světlo, živiny)

Faktory determinující sukcesi

- **tvorba živin** jedním společenstvem, které poskytuje ekologickou výhodu druhům tvořícím další etapu sukcese
- primární společenstvo – druhy využívající momentálně přítomné živiny – málo org. C, dostatek anorg. látek – tvorba organické hmoty
- i sterilní prostředí může obsahovat jednu nebo více org.l. včetně růstových faktorů – mikroorganismy nenáročné na živiny – později zvyšování diverzity
- některé org. látky, fixace N₂ (kvasinky - ethanol – *Acetobacter*; clostridium štěpí celulózu)
- změna koncentrace anorganické živiny – některé řasy netolerují vysoké koncentrace solí
- modifikace heterogenního substrátu – zbytky rostlin, živočichů – primární společenstvo rozloží na jednodušší látky
- **autointoxikace prostředí** původním společenstvem – fermentace mléka laktobacily a streptokoky – produkce kyselin zastaví jejich růst – porostou acidorezistentní mikrobi
- vytváření bariér spojených se zpětnou vazbou prostředí – protilátky, fagocyty, fytoalexiny rostlin a živočichů – destrukce/zpomalení růstu části mikrobů, nahrazení rezistentními

- změny teploty a intenzity slunečního záření – při allogenní sukcesi především u fotosyntetizujících společenstev – **sezónní změny**
- fyzická eliminace – snižování počtu primárních producentů v trofickém řetězci -řasy konzumovány herbivory

Výsledkem je:

- jedna populace se při kolonizaci rozvíjí a časem ustupuje rozvíjející se druhé populaci
- výměna populací zpravidla rychlá – pouze jsou-li zdroje omezené, je výměna pomalejší
- vzájemný vztah mezi mikrobiální a nemikrobiální komponentou ekosystému vede ke stabilizaci - živé a neživé v harmonii a rovnováze – klimax společenstva
- druhové složení klimaxu zůstává relativně konstantní – jde ale o dynamickou rovnováhu buňky odumírají a jsou nahrazovány novými
- fyz. a chem. vlastnosti prostředí při kolonizaci spolu s biol. faktory případného hostitele kontrolují složení finálního společenstva – to bude v podobných podmínkách podobné

Klimax

- koncept klimaxu byl vždy obtížně aplikovatelný na mikrobiální společenstva
- v některých situacích se vyskytují pravidelné následnické (sukcesní) populační změny vedoucí k relativně stabilní mikrobiální komunitě
- nejvyšší udržitelné diverzity se pravděpodobně vyskytují na úrovních středních narušení/poruch (KRAKONOŠOVA zahrádka)
- podle klasického ekologického myšlení komunity klimaxu reprezentují stav rovnováhy
- podle současného ekologického myšlení se rovnováha a klimaxové komunity zřídka vyskytují
- častěji narušení náhodně přeruší proces sukcese a zabrání tak komunitě dosáhnout plné rovnováhy



Autotrofní – heterotrofní sukcese

- když hrubá produkce (P) přesáhne rychlost respirace (R) komunity, organická hmota se začne akumulovat
- produkce je většinou ekvivalentní fotosyntéze (s výjimkou hlubokomořských hydrotermálních pramenů)

Autotrofní sukcese - $P/R > 1$ (akumulace biomasy) – v prostředích postrádajících organickou hmotu s neomezeným přísunem sluneční energie

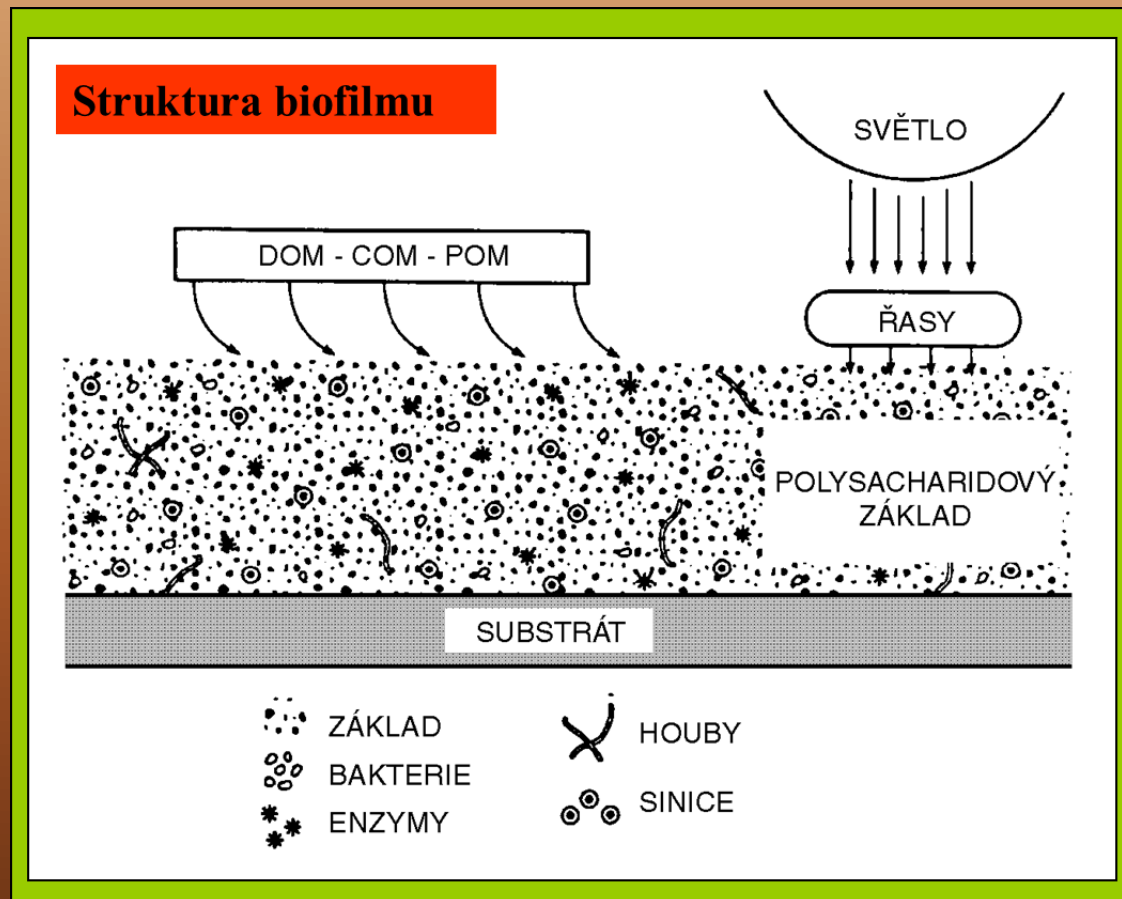
- mladé pionýrské komunity – vulkanické skály; minimální nároky na živiny, vysoká tolerance k nepříznivým podmínkám životního prostředí;
- výhodou je schopnost fixace atmosférického N; sinice a lišejníky
- P/R se blíží 1, posloupnost k stabilní komunitě

Heterotrofní sukcese - $P/R < 1$ – organická hmota bude ubývat – tok energie přes systém se snižuje s časem

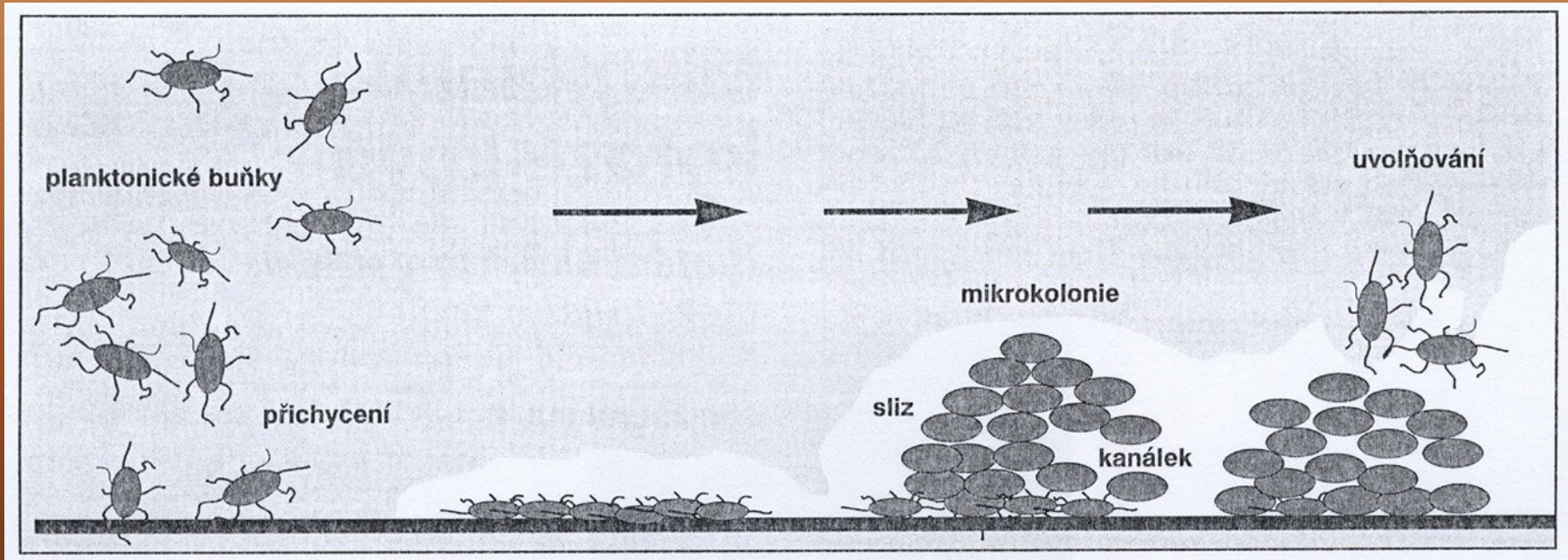
- nedostatečný přísun organické hmoty a komunita postupně využívá uskladněnou chemickou energii
- heterotrofní posloupnost je většinou dočasná protože vyvrcholí extinkcí komunity po vyčerpání zásob energie (komunity dekompozičních procesů – padlý kmen – po rozpadu kmene komunita zaniká)

Biofilmy

Aktivní biologická vrstva složená z mikroorganismů (baktérií, řas, hub, mikroprotozoa, metazoa) a jejich extracelulárních polymerních produktů, která je přichycena na povrch nejrůznějších podkladů, které mohou být či jsou v kontaktu s vodou...



- vše začíná kolonizací povrchu – po ponoření čistého povrchu do přirozených vod začíná sekvence znečišťování povrchu mající za následek sukcesi/posloupnost populací dominujících na povrchu v různém čase
- „epibiosis“ - původní kolonizátoři jsou nahrazeni dříve než jiné organismy s evolučně definovanými požadavky se zapojí do povrchových konsorcií (Wahl 1989)
- vztah mezi dvěma organismy, kdy jeden roste na druhém, ale neparazituje na něm
- sukcese je založena na sekvenci fyzikálních a biologických událostí začínajících s adsorpcí organického filmu těsně následovanou povrchovou kolonizací bakteriálními druhy

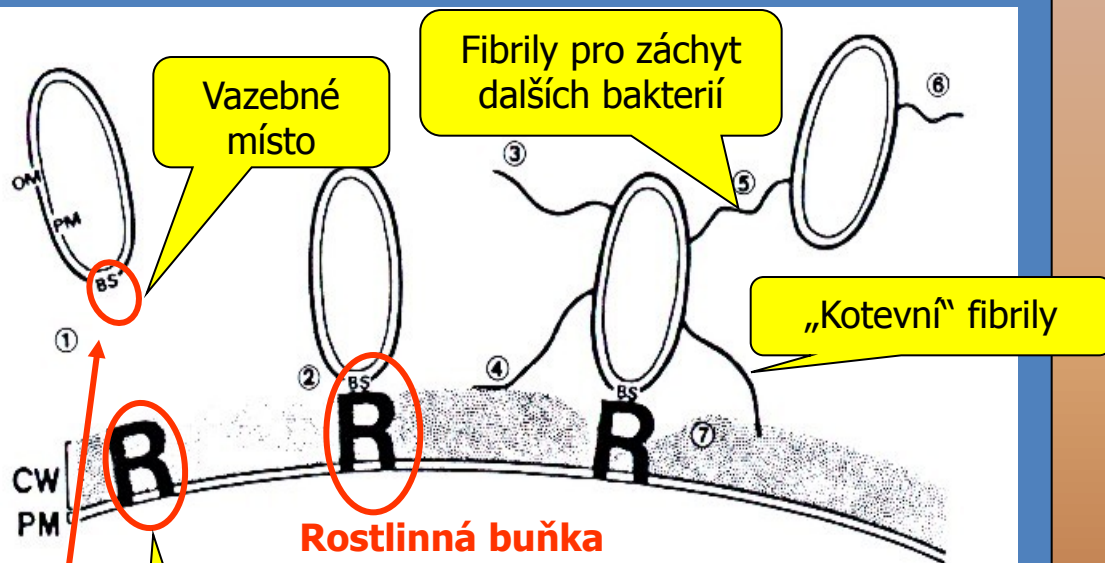


- nejprve adsorpce organických molekul – makromolekulární upravující (conditioning) film (minuty)
- rychlá adsorpce bakterií (během 24 hodin) – význam **motility** bakterií
- první kolonizátoři mohou být ve výhodě (jejich umístění a využití adsorbovaných živin)
- povrch je heterogenní zde kompetice o oblíbená mikromísta i když celý povrch zdaleka neobsazen
- vytváření mikrokolonií a buněčných agregátů, postupně silné vrstvy bakterií

Přeplnění povrchu

- vyčerpání živin – zastavení růstu – indukce „starvation-survival phase“
- objevují améby, bičíkovci, nálevníci, rozsivky a larvy - kolonizují povrch v řádu dní (eukaryota a rozsivky) nebo týdnů (larvy, depozice spor)
- prvními kolonizátory jsou často tyčinkovité bakterie následované stopkatými bakteriemi - *Caulobacter*
- ve vodním prostředí následuje kolonizace vláknitými řasami, rozsivkami a larvami s možností pastvy predátorů na biofilmu
- různé mikrobiální populace formují konsorcia, kde dochází ke spojení zdrojů (zkompletování metabolických drah apod.)
- časté jsou asociace řas s bakteriemi – řasy zajistí přichycení k podložce i zdroj živin

Adheze *Agrobacterium tumefaciens*



Vazebné místo

Fibrily pro záchyt dalších bakterií

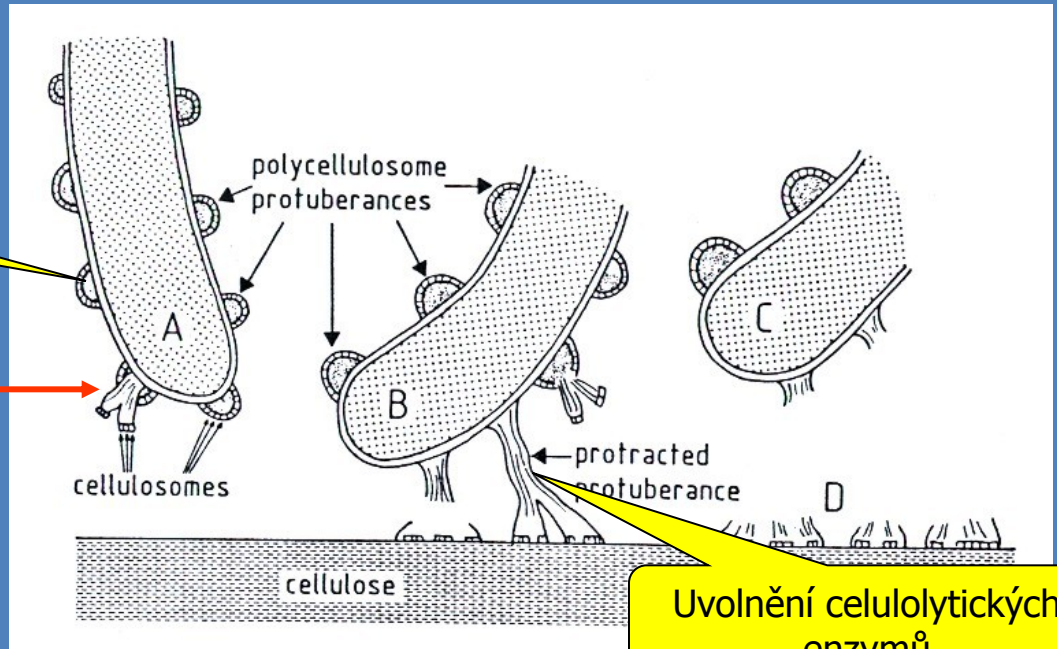
„Kotevní“ fibrily

Receptor

Buňka bezprostředně před adhezí

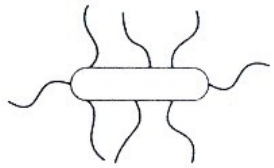
Aktivní molekuly = adheziny

Interakce *Clostridium thermocelum* s celulózou



Uvolnění celulytických enzymů

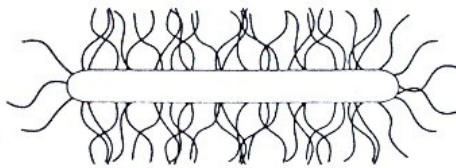
Buňky po přisednutí
podléhají morfologickým a
fyziologickým změnám



Environmental
Signals



Flagellar Rotation
Glutamine
Peptide Signals (?)
Others (??)



Swimmer Cell

Characteristic

Swarmer Cell

1.5 to 2.0 μm

Length

10 to $>80 \mu\text{m}$

4 to 10

Flagella

10^3 to 10^4

1 to 2

Genomes

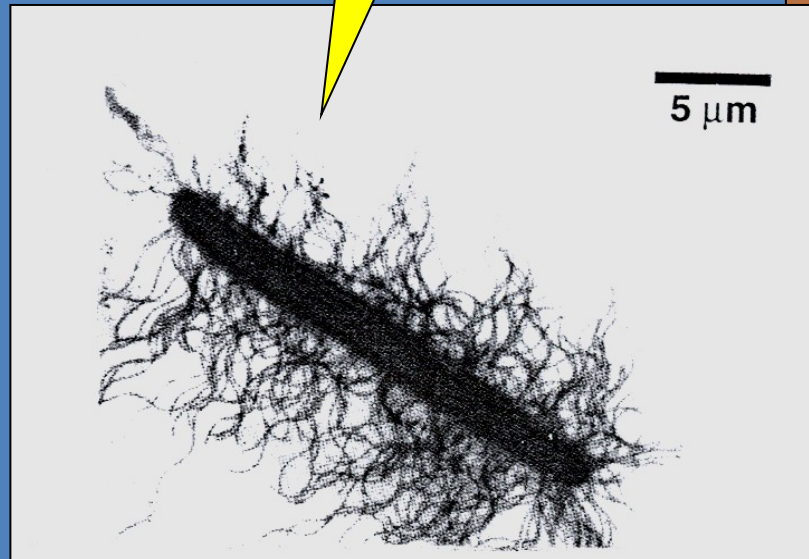
Polyploid

Swimming &
Chemotaxis

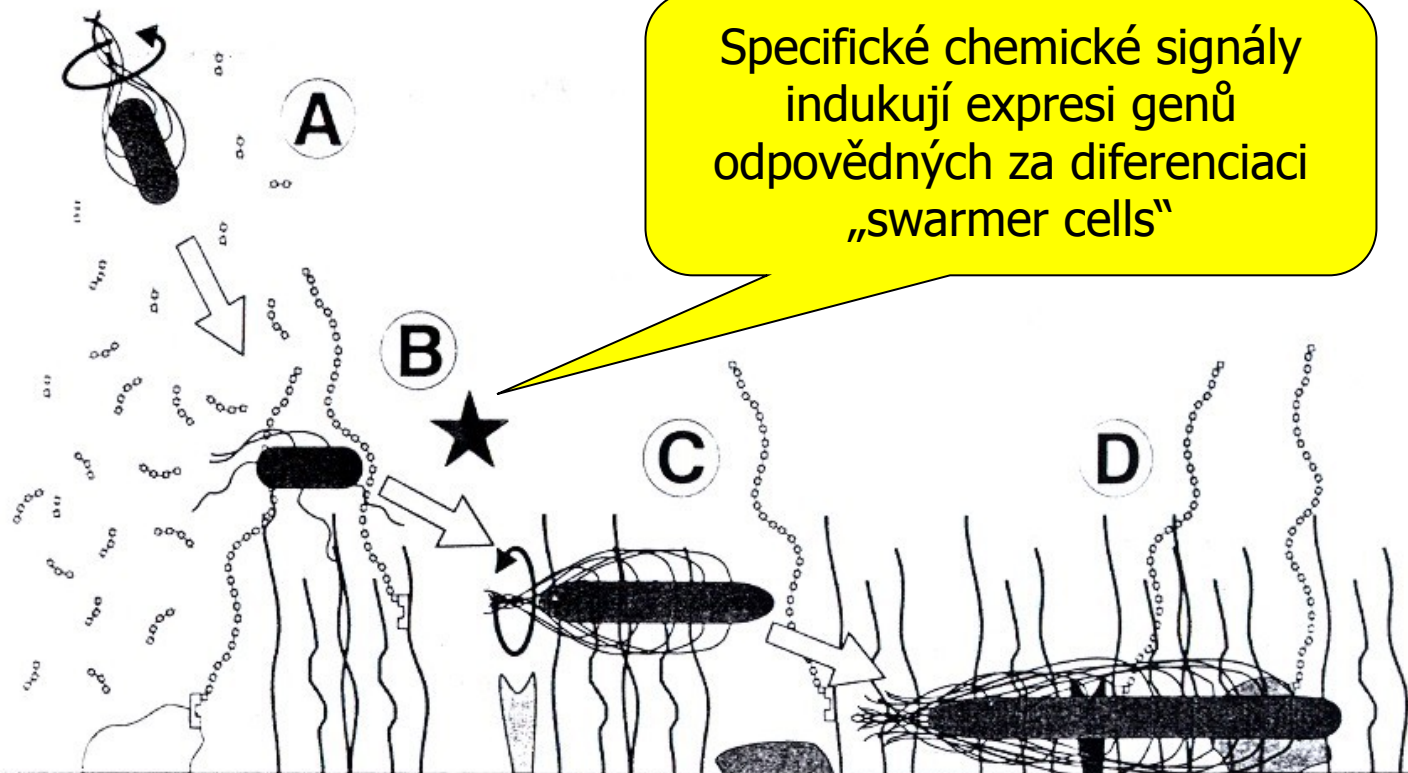
Motile Behavior

Swarming, Chemotaxis
& Coordinated Cell-
to-Cell Communication

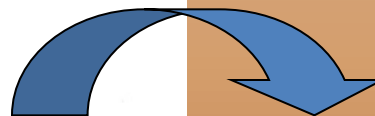
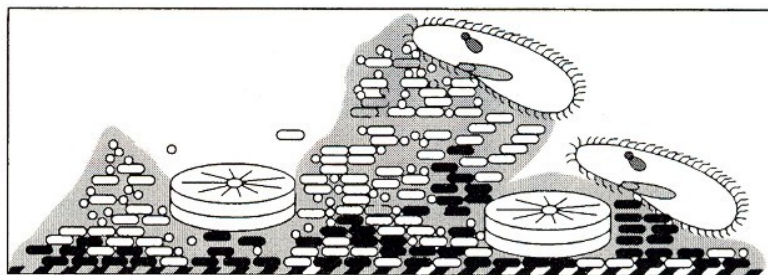
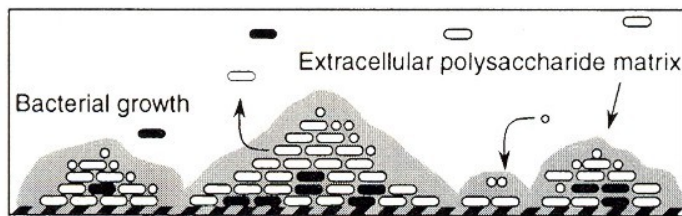
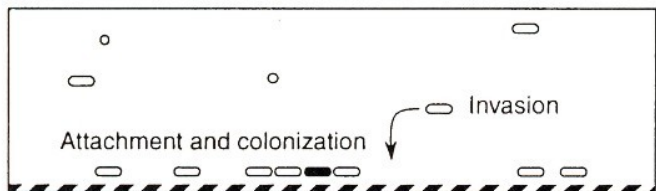
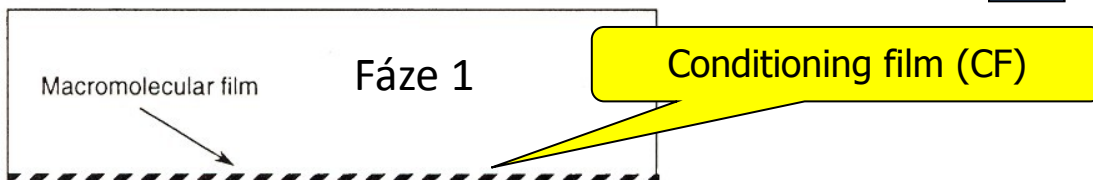
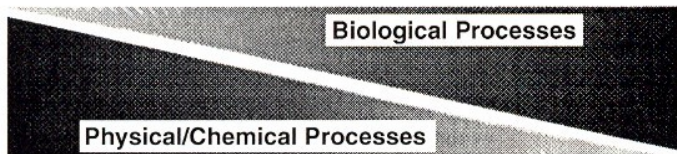
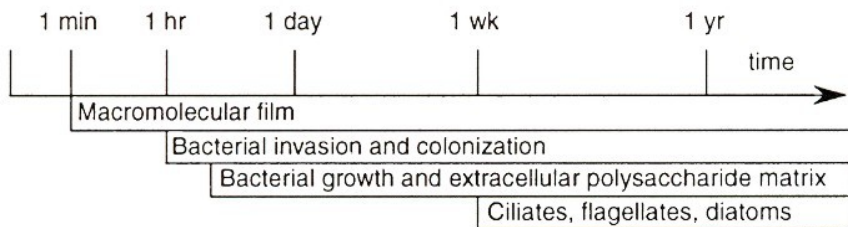
Proteus mirabilis -
plně diferencovaná
“swarmer cell”



Hypotetický model vývoje „přisedlých (swarmer) buněk biofilmu



**Submerged Surface and
Overlying Boundary Layer**



Vznik CF

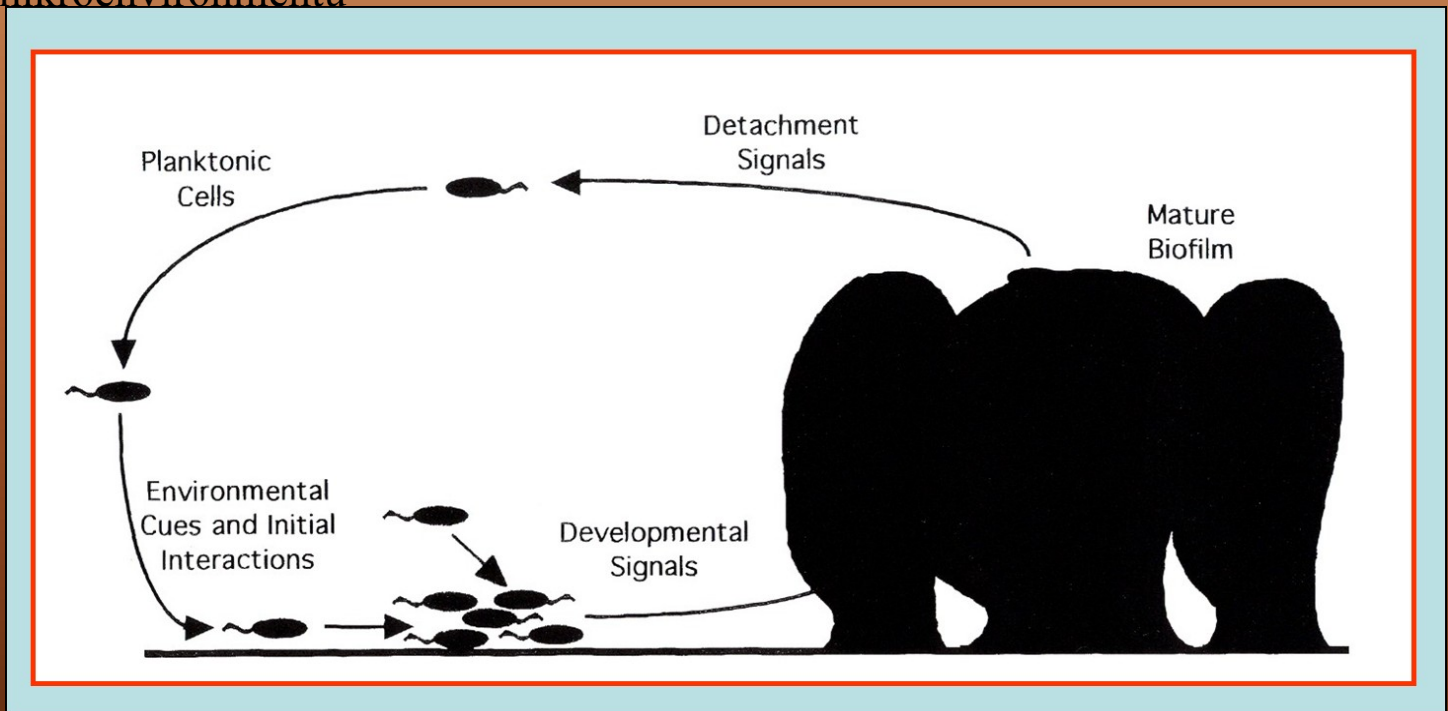
- Určován vlastnostmi substrátu
- fyzikální + chemická adsorpce



Význam CF

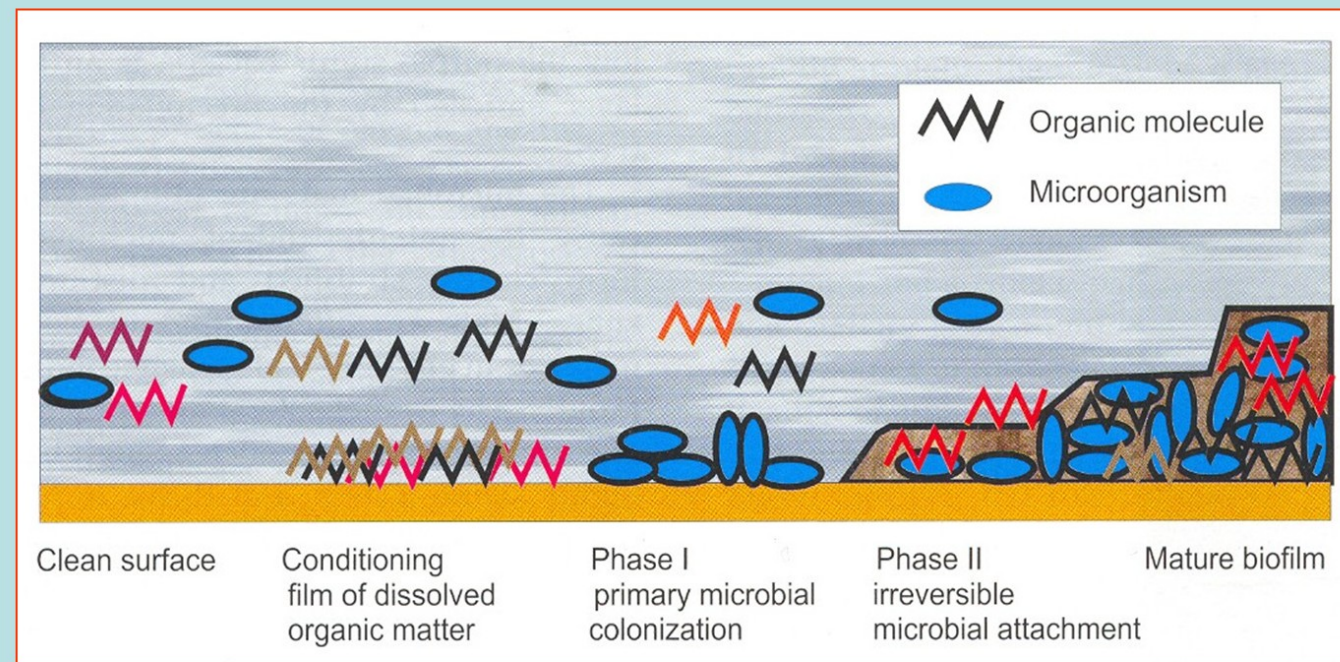
- Regulace bakteriální adheze
- Zdroj živin pro přisedlé bakterie

- produkce exopolymerů – velice důležité – rozhraní (interface) mezi buňkami a vnějším prostředím – vliv na rychlost chemické výměny a dostupnost živin, umožnění vytváření mikronik
- vliv na citlivost bakterií ke stresu a umožnění interakce mezi buňkami
- organismy biofilmu (celá paleta fyziologických a funkčních skupin) mohou mít užitek z přisedlého způsobu růstu – polymerická matrice poskytuje ochranu proti vnějším rušivým vlivům
- kompetice a predátorské vztahy mezi bakteriálními komunitami hrají důležitou roli ve vývoji komunity
- bakteriální kolonizace původně čistých povrchů – konzumace živin, produkce odpadů, syntéza buněčných a extracelulárních sloučenin – to vše spolu působí na vymezení fyzikálněchemických podmínek mikroenvironmentu



Komunity biofilmu jsou charakteristické prudkými kontinuálními změnami fyzikálně chemických gradientů v biofilmu:

- nový biofilm – rychlá konzumace živin, zvýšení mikrobiální biomasy, zvýšení nároků na kyslík
- vytvoření anaerobních zón po vyčerpání kyslíku
- omezení difuze kyslíku může umožnit rozkvět anaerobních mikroorganismů a limitovat úspěch aerobních
- např. heterotrofní aerobní a fakultativně anaerobní bakterie asociované se sinicemi *Aphanizomenon* a *Anabaena* vytvoří redukční mikrozóny ve vodách saturovaných kyslíkem;
- heterocysty a fixace N₂



PŘÍRODNÍ BIOFILMY



Příklady biofilmů

PITNÁ VODA



ČIŠTĚNÍ ODPADNÍCH VOD

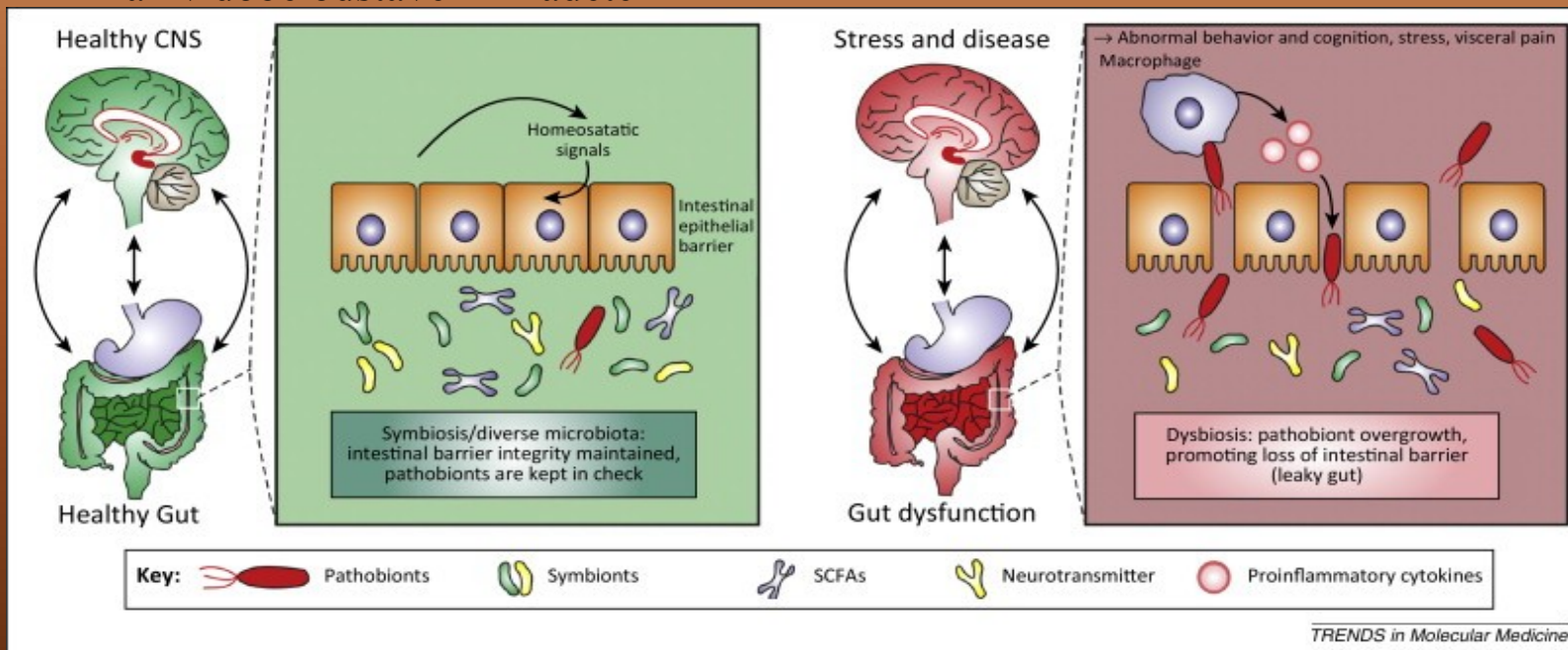


SANITÁRNÍ ZAŘÍZENÍ



Živočišné tkáně – sukcese mikrobiálních komunit

- sterilní pokožka a zažívací trakt novorozenců umožňuje sledovat sukcesi komunit
- kolonizace zažívacího traktu vedoucí k vytvoření klimaxové komunity regulována řadou faktorů:
 - hostitelský živočich, mikrobi, dieta, životní prostředí...
- mnoho různých nik zaplněných různými mikrobiálními populacemi
- kolonizace začíná u člověka a dalších nepřežvýkavých savců rody *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*
- následuje fakultativně anaerobní *E. coli* a *Streptococcus faecalis*
- s nástupem tuhé stravy nastupují striktně anaerobní bakterie (*Bacteroides*), které se stanou dominantní - klimax v době odstavení mláďete



Živočišné tkáně – sukcese mikrobiálních komunit-pokr

přežvýkavci – sukcese vede k vytvoření komplexní obligátně anaerobní mikrobiální komunity:

- **Klimaxová komunita bachoru**

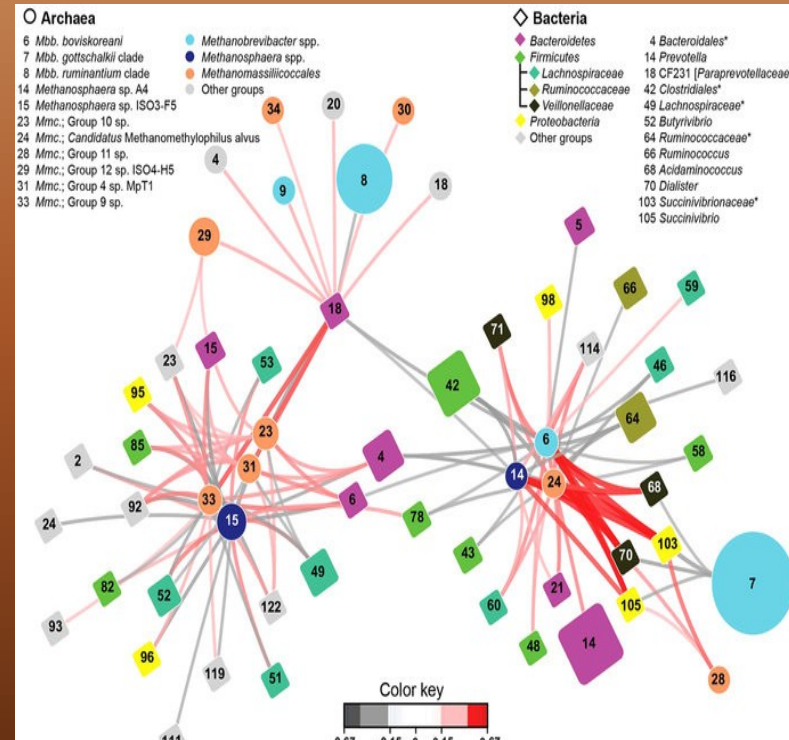
- celulózu degradující bakterie (*Bacteroides*, *Ruminococcus*)
- škrob degradující bakterie (*Selenomonas*)
- metanogenní MO (*Methanobacterium*)
- celulózu a pektin degradující protozoa (*Polyplastron*)

- metanogenní MO jsou největší populací využívající vodík v bachoru ovcí, skotu, bizonů, jelenů a lam a slepého střeva koní („anaerobní respirace CO₂“)

- u těchto zvířat existuje silná korelace mezi počtem metanogenních mikroorganismů a celulólytických mikroorganismů

- důležitý vztah predátor-kořist mezi bakteriemi a protozoi

- protozoa se objevují později až po ustanovení komplexní bakteriální komunity pionýrské bakteriální komunity modifikují prostředí produkcí různých těkavých kyselin a odstraněním kyslíku a umožňují tak sukcesi ke klimaxové komunitě



Homeostáze a sekundární sukcese

- zavedené/ustanovené komunity mají vysoký stupeň stability – jsou rezistentní ke změnám
- částečně založené na homeostázi – kompenzující mechanismus k udržení rovnovážného stavu
- využívá mnoho kontrolních mechanismů, které působí proti vlivu nejrůznějších rušivých zásahů (kapacita společenstva zachovat stabilitu/integritu)
- nejde o statické podmínky – individuální populace jsou vystavené pravidelným i nepravidelným fluktuacím (odezva na interní i externí podmínky) – to vše přispívá k udržení stability ekosystému
- nahromadění určitého substrátu/metabolitu (nitrit, sirovodík) vede k dočasnému nárůstu populace vyživající tento materiál – snížení koncentrace materiálu (jinak by dosáhl toxické úrovně)
- podobně posun v populacích následkem sezónní změny v osvětlení nebo teplotě – mezofilní populace v zimě nahrazena ve své nische psychrofilní populací, obě populace ale provádí stejnou metabolickou funkci esenciální pro daný ekosystém
- pravidelné změny
- některé populace vykazují roční rytmus – *Vibrio parahaemolyticus* – objevuje se v ústích řek během jarních a letních měsíců, není přítomno během zimy (přežívání v sedimentech)

Fluktuace/sukcese v populaci rozsivek

- **koncept dočasné niky**

- organismus okupuje prostředí jen v jednom určitém čase - populace řas, rozsivek

- různé populace v různém tepelném a světelném režimu

- omezí to přímou kompetici mezi různými populacemi

- umožní koexistenci populací soutěžících o stejné zdroje

- v prostorově se překrývajícím habitatu/stanovišti

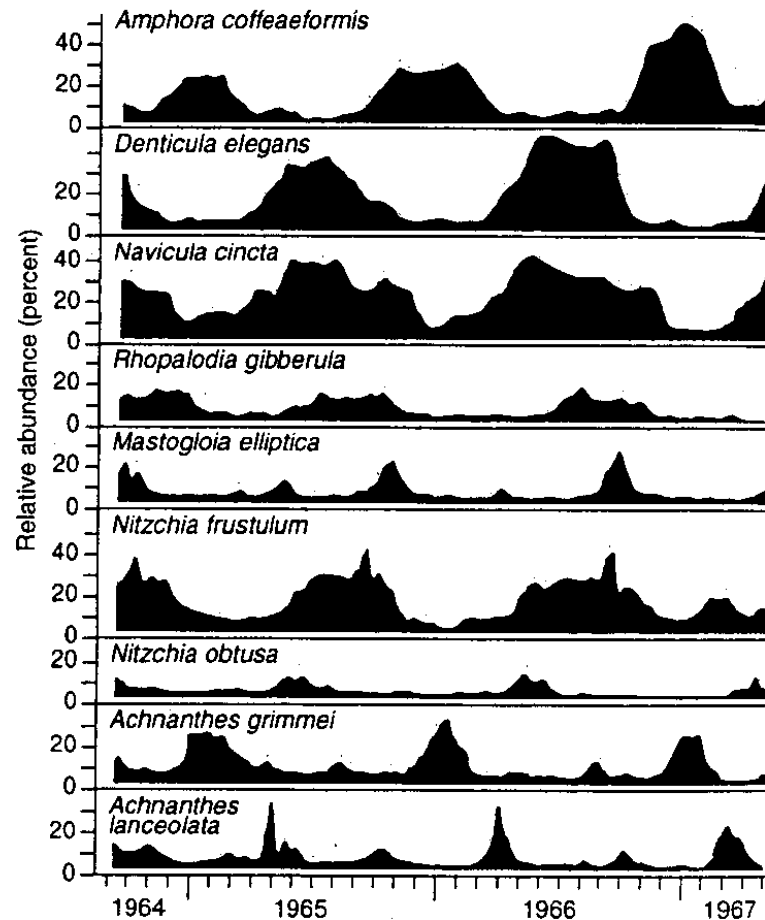


Figure 6.6

Fluctuations of diatom populations in a thermal spring showing regularity of seasonal diatom population change, that is, annual succession. (Source: Stockner 1968. Reprinted by permission of British Phycology Society.)

- na sezónní populační změny se dá dívat jako na opakovanou sukcesi ke stabilní komunitě, která je opakovaně narušena náhlými změnami životního prostředí v důsledku sezónních změn:

Pobřežní oblasti Arktického oceánu:

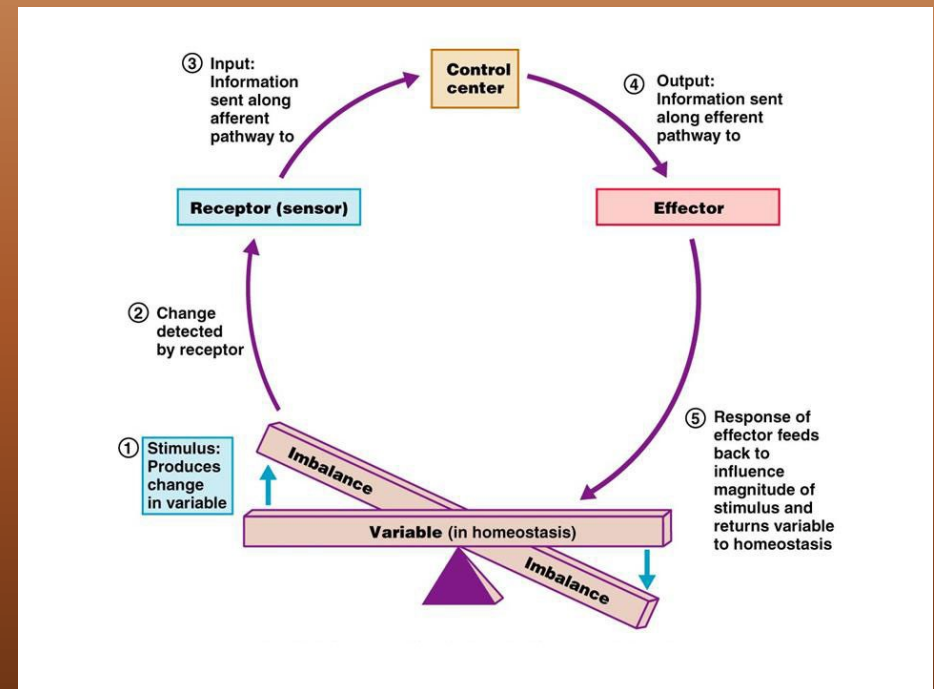
- každé jaro „kvetení“ řas na spodní straně ledu
- po řasách velký rozvoj bakteriálních populací – Flavobacterium, Microcycclus
- po roztání ledu se řasy rozptýlí a jsou zkonsumovány predátory nebo rozloženy bakteriemi
- během zimy se vytratí i pigmentované bakteriální populace
- někt. bakterie i řasy přežijí v sedimentech a s vytvořením ledu začne proces znovu



- katastrofické změny životního prostředí mohou narušit homeostatickou kontrolu ekosystému, zničit nebo vážně narušit existující komunity a začít nový proces sukcese:
 - nový polutant v ekosystému
 - aplikace fungicidu do půdy nebo na rostliny
 - vulkanické erupce
- po narušení homeostáze působí směrem k obnovení narušené komunity a obvykle s odstraněním rušivého činitele dojde sekundární sukcesí k obnovení původní komunity:
 - po umytí kůže postupně návrat k původnímu stavu
 - po orbě také návrat k původnímu složení populace

Homeostáze obnoví původní komunitu po vstupu cizího mikroorganismu:

- tento eliminován
- zažívací trakt
- podobně v půdním či vodním prostředí
- allochtonní mikroorganismy přetrvávají jen dočasně
- antagonistické vztahy (negativní zpětná vazba) způsobí jejich odstranění a obnovení původní komunity



- vztahy mezi populacemi v komunitě vedoucí jsou nejčastěji založené na fyziologických interakcích mezi různými populacemi
- u dobře prostudovaných populací (bachor) vztahy dobře popsány, struktura komunity a ekosystémová funkce pochopena

Paradox of the plankton (Hutchinson 1961, Kemp a Mitsch 1979)

- limitované zdroje (světlo, živiny) podpoří růst širokého spektra planktonických organismů

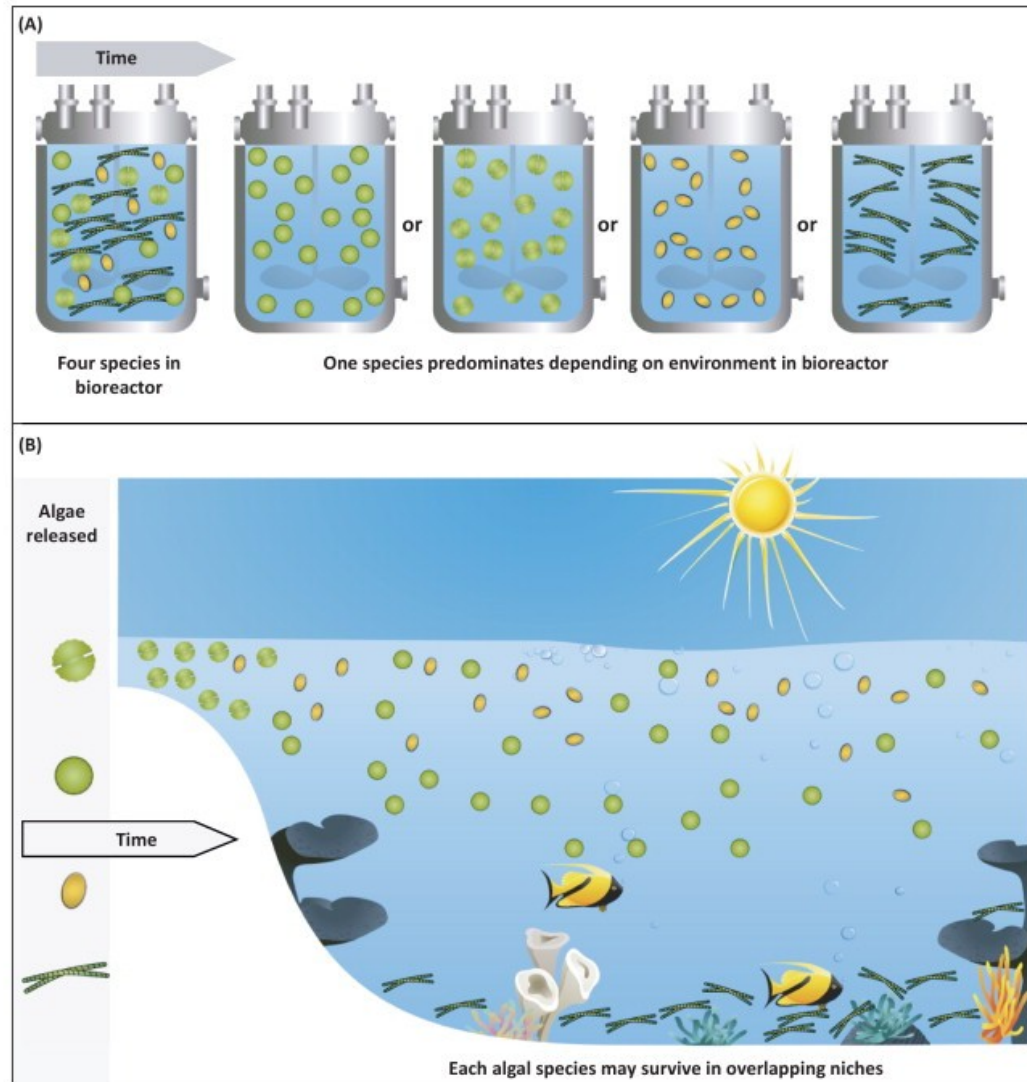
- paradox – podle principu „competitive exclusion principle“ by soutěžení dvou druhů o jeden zdroj mělo vést k extinkci jednoho druhu

- opak je ale pravdou

– různé druhy fytoplanktonu obývají stejné niky v mnoha vodních prostředích

– gradient světla, symbiozy, predace, měnící se podmínky a v neposlední řadě turbulence zabránily vytlačení jedné z populací (diskontinuity v životním prostředí umožnily vývoj různých stabilních komunit fytoplanktonu v překrývajících se nikách)

The paradox of the plankton



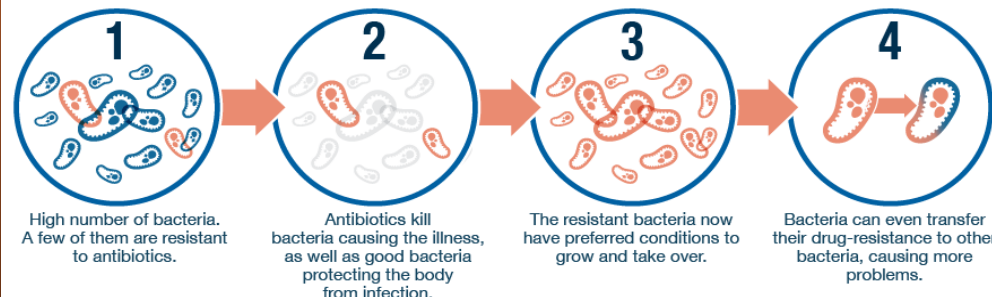
TRENDS in Biotechnology

Laboratory bioreactor/mesocosm experiments and modeling cannot predict survival in natural ecosystems – the paradox of the plankton. **(A)** When a mixture of algae, mimicking an inadvertent spill, is placed in a bioreactor, a dominant species takes over due to the uniform culture conditions. Under different uniform conditions, a different species will predominate. **(B)** Conditions in nature are so variable and fluctuating that one cannot predict whether a non-native or transgenically modified species will establish in the natural environment.

Genetické výměny v mikrobiálních komunitách

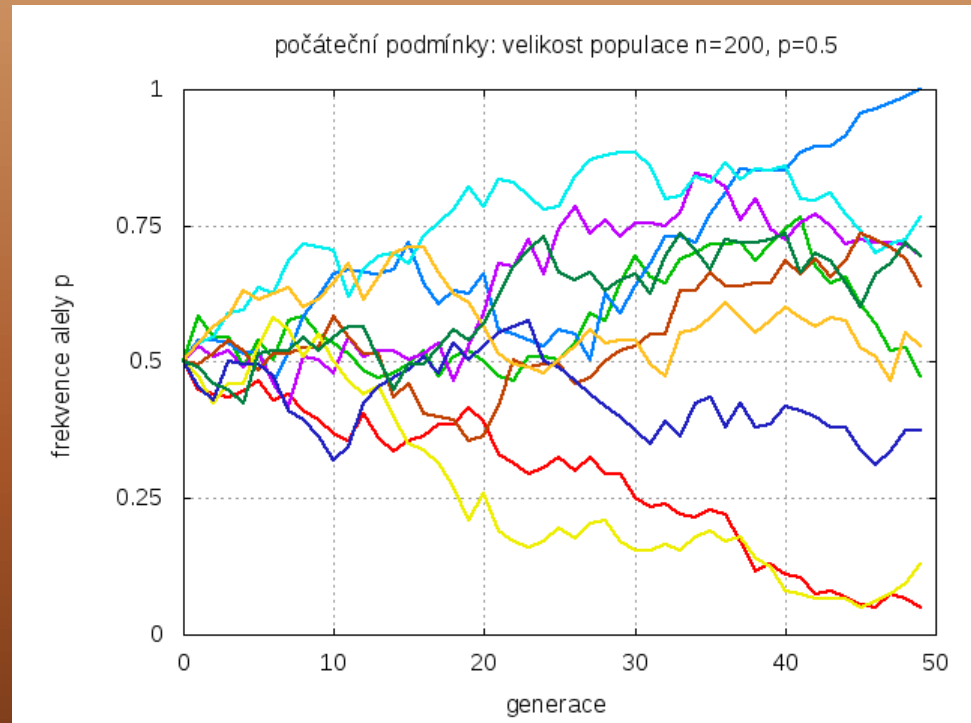
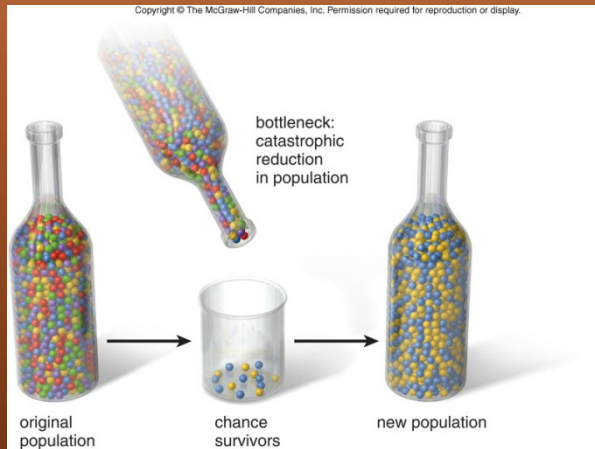
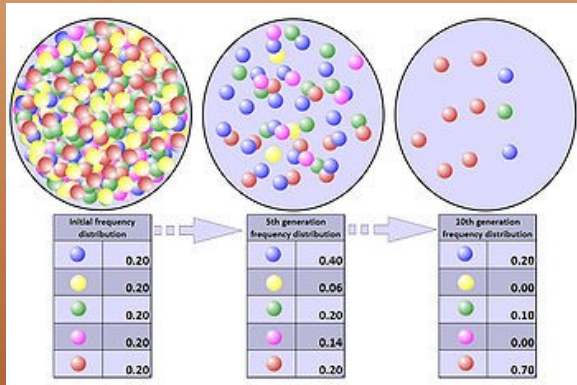
- Objevení se adaptabilního rysu v genetickém rezervoáru
 - rychle rozšíření
 - také díky krátké generační době (15-20 minut, ale spíš hodiny)
- např. rezistence k antibiotikům vznikla spontánní mutací nebo rekombinací ještě před lékařským využitím antibiotik, ale v této době neměla pro patogenní organismy velký význam
- po zavedení antibiotik do medicíny (1950s)
 - výrazná výhoda pro bakterie mající tyto geny
 - mohly kontinuálně růst v jedinci beroucím antibiotika
 - častá v lékařském prostředí, ale i sedimenty v rybích farmách (oxytetracyklin)
 - transfer genů všude, kde je selekční tlak
 - nezodpovědné chování farmaceutických firem (antibiotika všude)

How does antibiotic resistance occur?



Genetické výměny v mikrobiálních komunitách – pokr

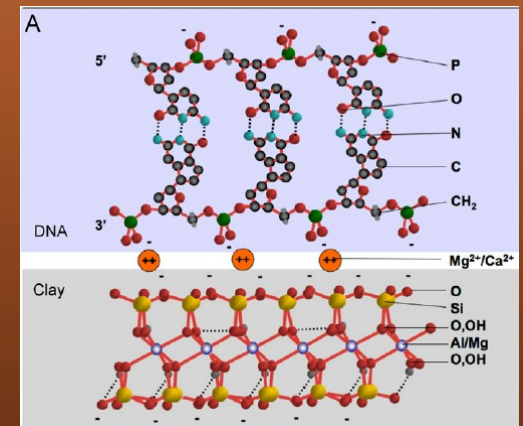
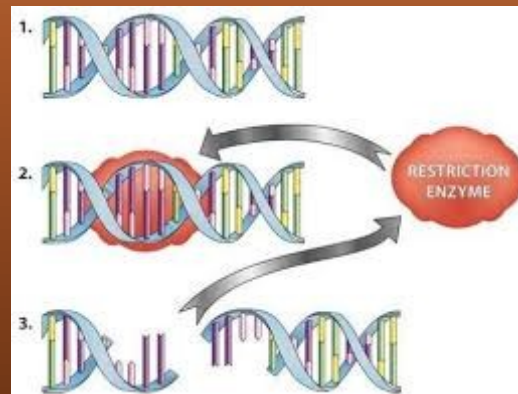
- procesy, které vnesou systematické změny do frekvence alel - mutace, rekombinace a genetický drift (náhodná změna ve frekvenci alel v populaci)
- **genetický drift** - změny v frekvenci alel jsou způsobené náhodnými událostmi (a ne systematickými rozdíly v ekologických vlastnostech jako je schopnost kompetice)
- může vést až k extinkci jednoho ze dvou selektivně neutrálních kmenů



Genetické výměny v mikrobiálních komunitách – pokr

Existují tři principiální mechanismy genetického transferu a rekombinace vedoucí k novým kombinacím alel:

- konjugace – kontakt mezi dárce a příjemcem
 - transdukce – bakteriofág přenese DNA z donora na recipienta
 - transformace – absorpce volné DNA kompetentní recipientní buňkou
-
- V hustých populacích dost prostoru ke genetické výměně, zároveň ale také dost omezení potencionální rekombinace
 - přítomnost restrikčních enzymů – cizí DNA je jimi štěpena
 - metylace DNA zabraňuje štěpení DNA
 - vazba na jílové minerály – DNA chráněna a stále schopná transformace (adsorpce při pH1, transformace při pH7.5)



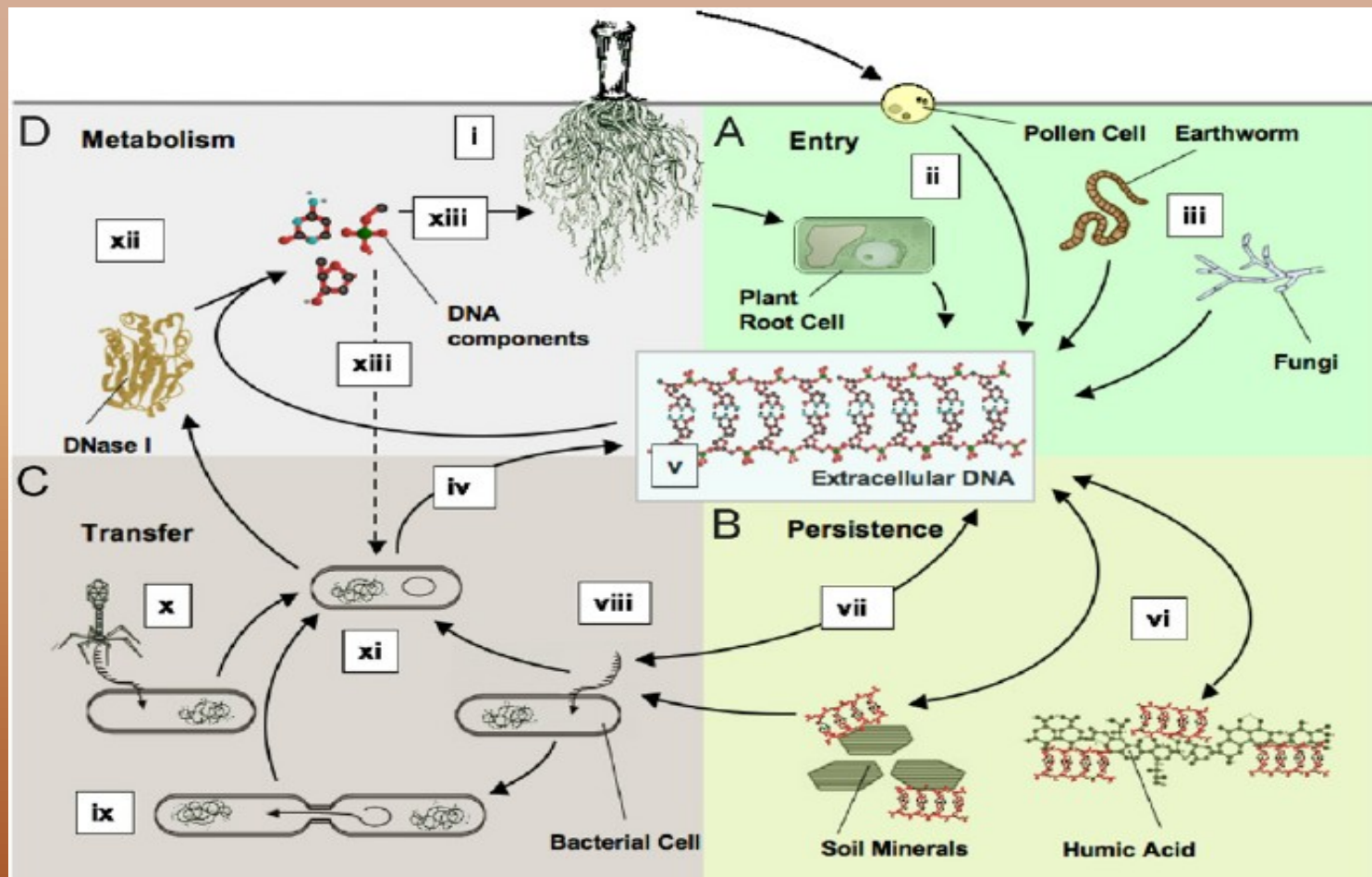
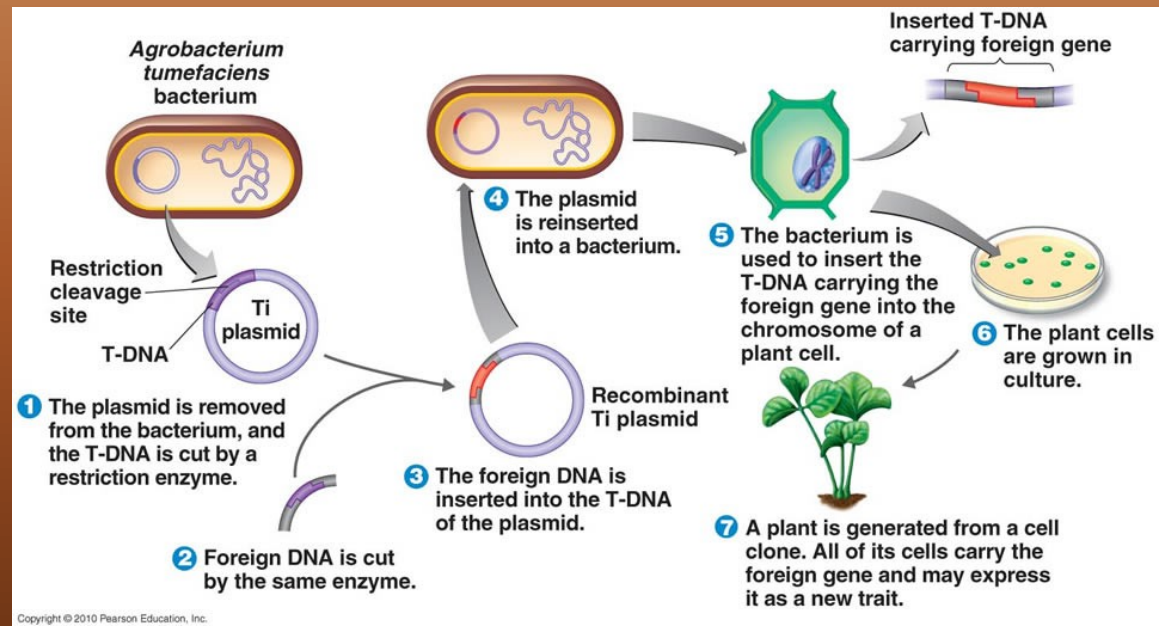


Fig. 1. The DNA cycle in soil. (A) Entry of DNA into Soil: Plant DNA is replicated during growth and cell division. During the later stages of plant development DNA degradation occurs by plant DNases in planta (i). Plant DNA enters soil through pollen release, cell lysis and the addition of plant materials to soils (ii). Soil fauna and fungi also release DNA into the soil environment (iii), as does bacterial lysis (iv). (B) Persistence of DNA in Soil: Following cell lysis, extracellular DNA persists in soil (v) where it can be protected by binding to soil humic acids (vi), clay minerals and sand particles in soil (vi), processes that are facilitated by cations (e.g., Ca^{2+} and Mg^{2+}) and/or low pH. Note: bacterial transformation by the loosely held portions of bound DNA may still occur. (C) Transfer of DNA in Soil: Competent bacteria can integrate extracellular DNA into their genome (transformation) (viii). Bacterial DNA can be transferred to recipient bacteria through a conjugation bridge (conjugation) (ix). Bacteriophages insert DNA from a donor cell directly into a recipient bacterial cell (transduction) (x). Bacterial growth and cell division replicates (amplifies) integrated DNA (xi). (D) Degradation of DNA in Soil: Unbound DNA is restricted and digested by extracellular DNases of microbial origin (xii), which are ubiquitous in the soil environment and provide oligonucleotides and nutrients that are used in metabolism by microorganisms and plants (Levy-Booth et al., 2007)

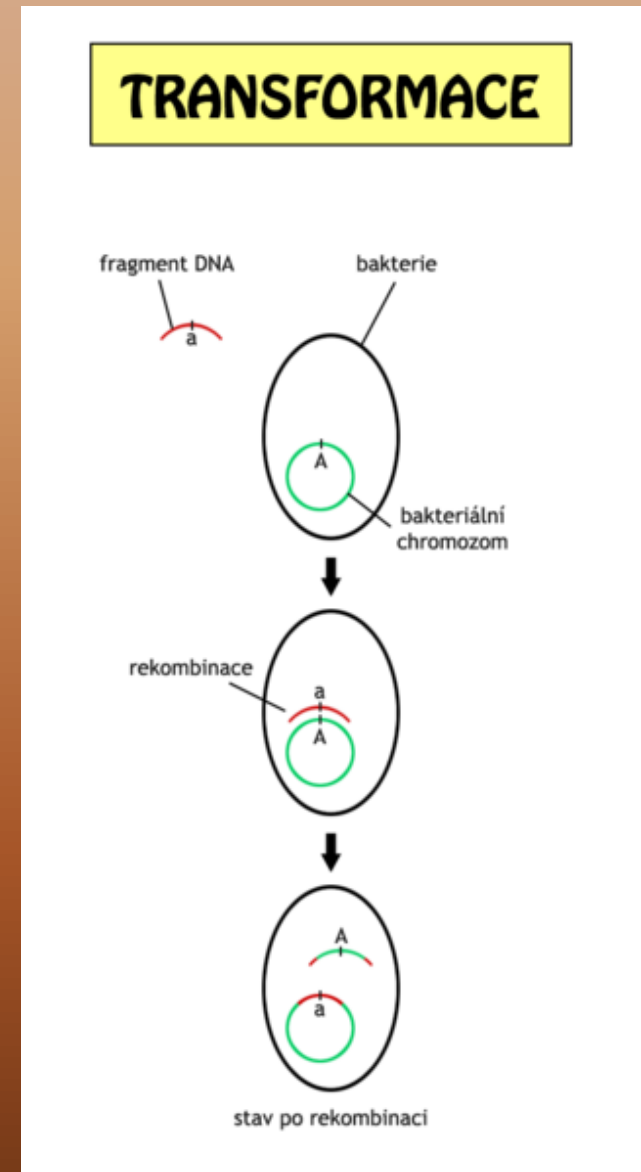
Plazmidy

- rychlý přenos genetické informace – odpadní vody nemocnic, surové kaly a produkty čistíren odpadních vod, vodní prostředí, výkrmny zvířat, rostliny, půda
- geny rezistence k antibiotikům
- geneticky modifikované plazmidy – využití v průmyslu, transgenní rostliny
- skupina 640 lidí – 356 jedinců, kteří nebyli v nedávné době vystaveni antibiotikům – u jedinců, kteří měli vysoký výskyt rezistence k rtuti v zažívacím traktu, byla vysoká pravděpodobnost výskytu rezistence ke dvěma nebo více antibiotikům (Hg uvolňovaná z plomb může působit selekci k rezistenci na antibiotika v mikroflóře úst a zažívacího traktu)



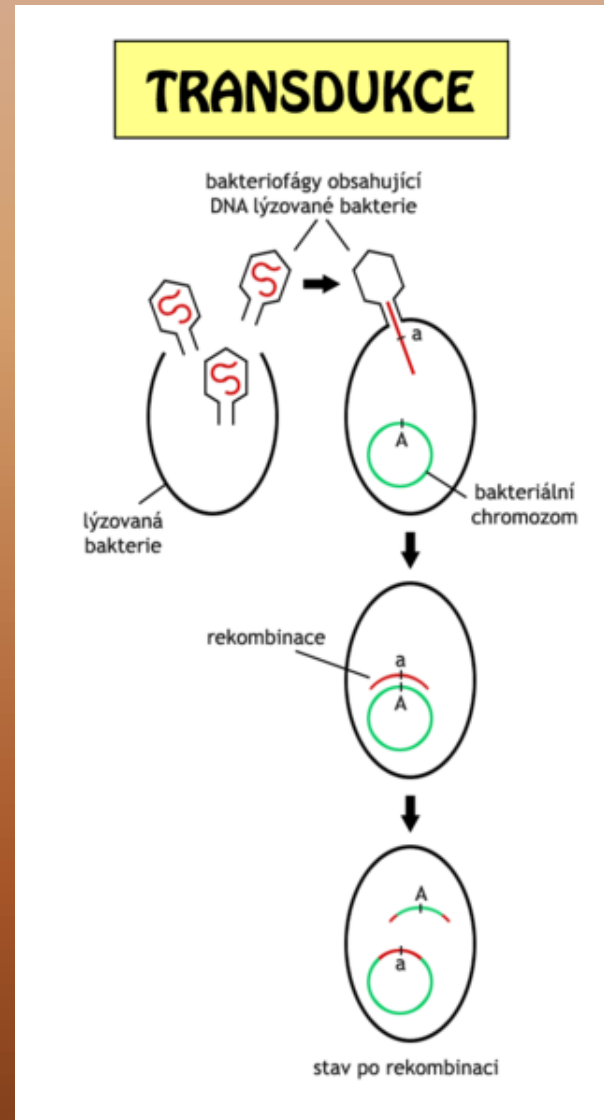
Transformace

- přímé přijetí exogenní DNA
- Kompetence buněk – v určitých fázích růstového cyklu - při změně nutričních podmínek
- Tři fáze transformace
 - navázání cizí DNA na buňku
 - transport genetického materiálu přes buněčné obaly
 - integrace transformující DNA do genomu buňky jako replikon, nebo rekombinace do existujícího replikonu



Transdukce plazmidu

- za využití bakteriofága
- Plazmid „přibalen“ při kompletování fágové částice
- buď se udrží a replikuje celý plazmid
- nebo se fragment plazmidu zabuduje rekombinací do recipientní DNA
- ev. bude DNA dormantní a případně později degradovaná



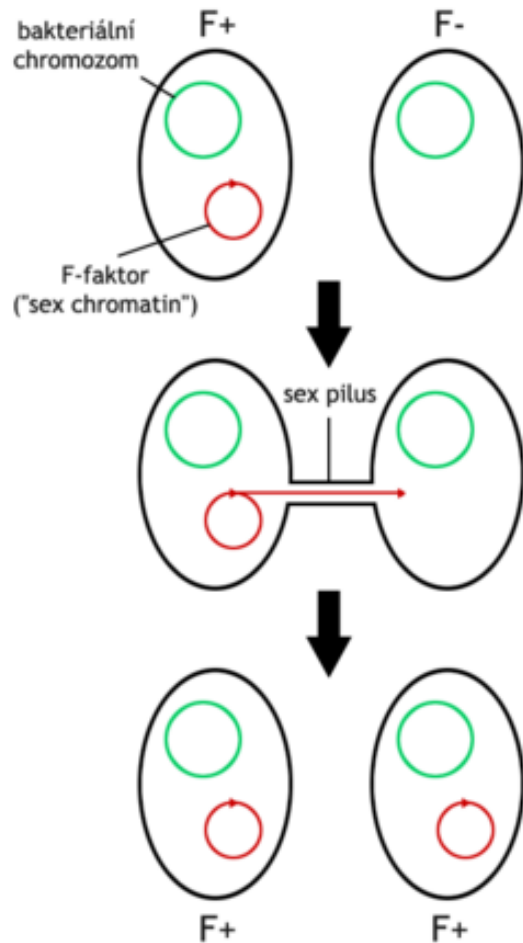
Konjugace

- transfer genů z jedné prokaryotické buňky do druhé přímým kontaktem buněk
- kódováno samotným plazmidem
- výsledkem je přítomnost plazmidu v donorové i recipientní buňce
- komplexní proces, ne všechny bakterie to umí (G⁺ adheziny, hlavně G⁻)
- sex pilusy G⁻
- přenos plazmidů s geny rezistence k antibiotikům nebo s geny kódujícími degradační metabolické dráhy
- plazmidy se chovají v prostředí dynamicky – geny přispívající ke zdatnosti populace jsou udržovány, ostatní jsou rychle ztraceny
- neesenciální geny neudržovány zvláště pokud je silná kompetice o ekologickou niku (exprese takovýchto genů má inhibiční efekt na růstovou rychlost hostitelské buňky)
- transfer genů ale může udržet alelu nebo extrachromosomální element i navzdory selekci - i méně zdatný kmen se může udržet opakující se mutací nebo migrací z jiné populace
- méně zdatná alela se také může udržet, když je v asociaci s pozitivní alelou taková vazbová nerovnováha převládá u bakterií z důvodu jejich asexuální reprodukce a rekombinace konjugací, transformací a transdukací

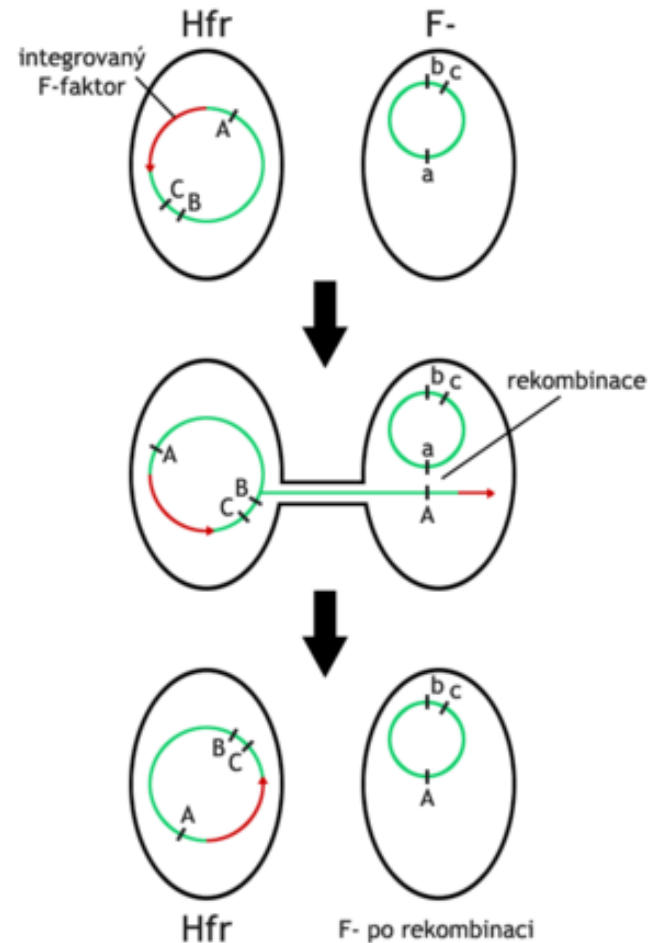


KONJUGACE

Konjugace mezi
F+ a F- bakterií

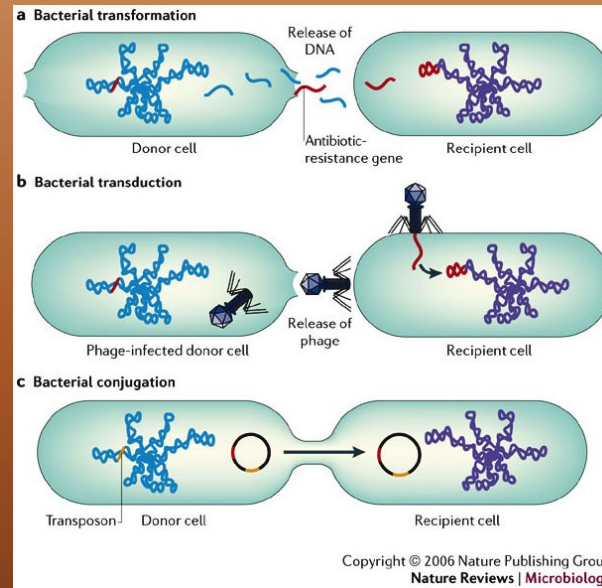


Konjugace mezi
Hfr a F- bakterií



Risk zavedení geneticky modifikovaných mikroorganismů

- jak dlouho se nový organismus nebo jeho DNA udrží v prostředí?
- je možný přenos genů do dalších generací?
- VNC (viable non culturable) - vnesený nový organismus je obvykle brzy nedetekovatelný kultivačními postupy, ale po přidání „svého“ substrátu se opět objeví



Diverzita a stabilita mikrobiálních komunit

Biologická komunita se skládá z:

- **několika druhů s vysokým počtem jedinců**
- **a mnoha druhů s malým počtem jedinců**
- dominantní druhy - většinu toků energie
- **méně početné druhy ale určují diverzitu trofické úrovně i celé komunity**
- pokud jedna nebo více populací dosahují zvýšené hustoty (úspěšná kompetice a dominance jedné populace) – vede to ke snížení diverzity
- **komunita s komplexní strukturou, bohatá na informace (druhovú bohatost) potřebuje méně energie pro udržení této struktury**
- se odráží i v nižší intenzitě primární produkce na jednotku biomasy při udržení stabilní úrovně diverzity
- tato obrácená závislost mezi diverzitou a produktivitou je zvláště patrná v podmínkách, kdy environmentální změny podporují rychlý mikrobiální růst a vývoj komplexních mikrobiálních komunit

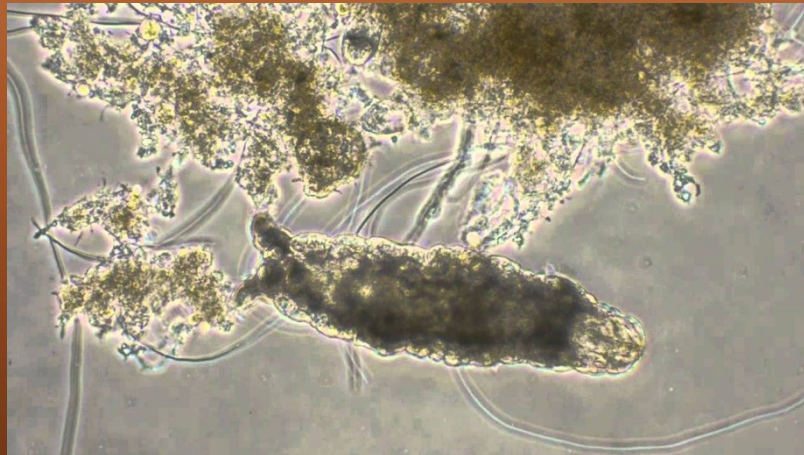
- **druhová diverzita komunity podobná genetické diverzitě populace – umožňuje různé reakce v dynamickém ekosystému**
- pokud je dominantní jeden jednostranný faktor, pak je k udržení stability potřebí méně flexibility – adaptací populace je stenotolerance (vyšší specializace)
- adaptací komunity-dominance několika málo populací:
 - populace solných jezer bude více stenohalinní (vyžaduje užší rozpětí salinity) než populace ústí řeky
 - diverzita populace horkých pramenů je nižší než diverzita řeky bez polutantů



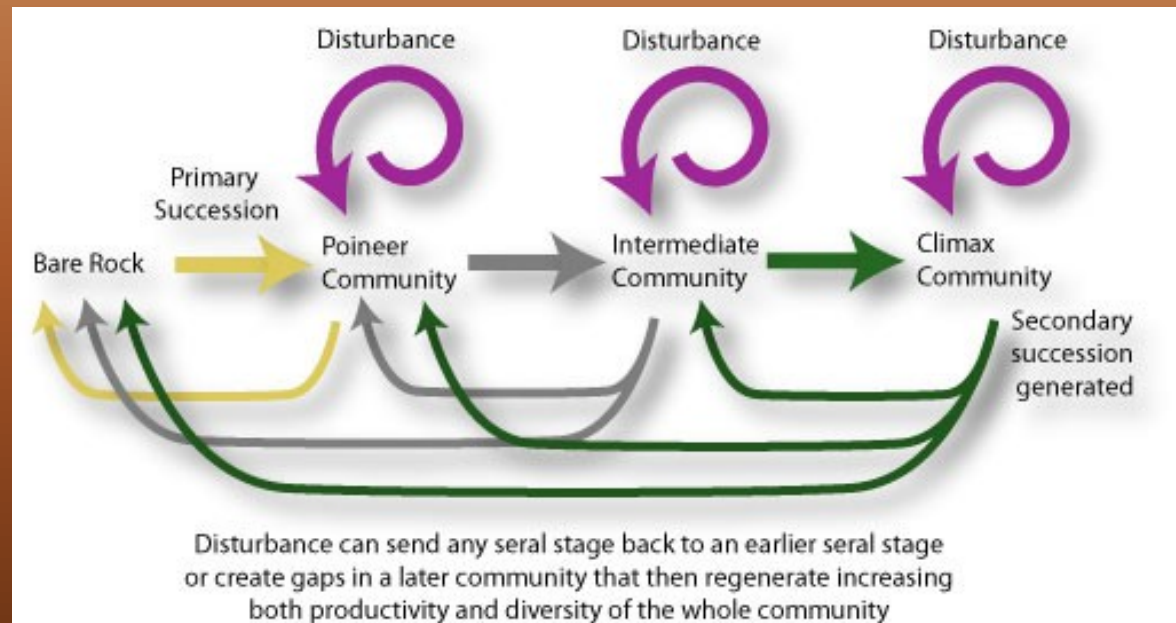
- **Ve fyzikálně kontrolovaných prostředích druhová diverzita nízká** - adaptace k převládajícím fyzikálně-chemickým stresům má vysokou prioritu, neposkytuje místo pro evoluci přesně vyvážených a integrovaných druhových interakcí
- (kyselá bažiny, horké prameny, Antarktické pouštní habitaty)
- **V biologicky kontrolovaných ekosystémech druhová diverzita vyšší** – význam mezipopulačních interakcí převáží význam abiotického stresu – fyzikálněchemické prostředí umožní větší mezidruhovou adaptaci mající za výsledek druhově bohaté asociace (druhová bohatost půdy; naopak stres, narušení – infikovaná rostlinná nebo živočišná tkáň – výrazné snížení diverzity)



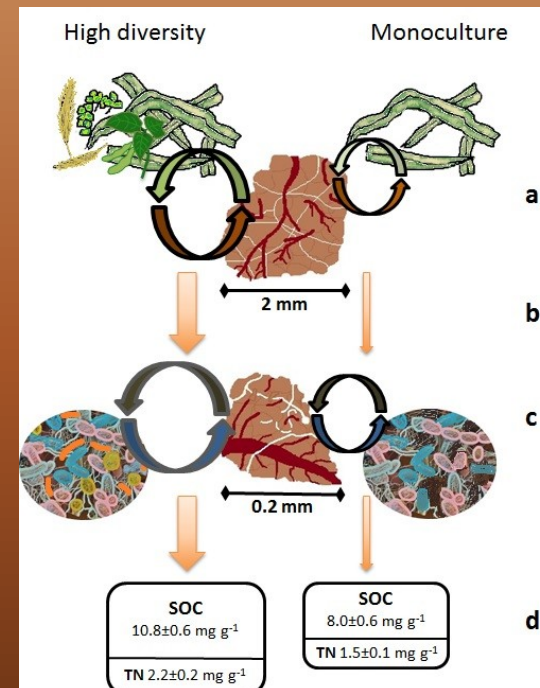
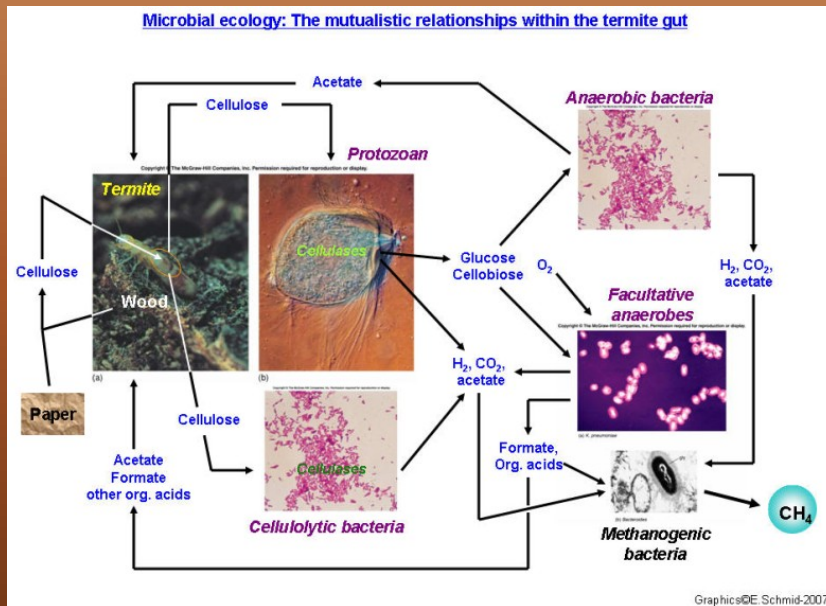
- stabilita je spojována s vysokou diverzitou, ale neexistuje zde přímá příčinná souvislost mezi diverzitou a stabilitou
- v komunitě s vysokou diverzitou neexistuje nejdůležitější populace – i když je jedna populace eliminována, komunita se nezhroutí
- není ale jasné, jaká úroveň diverzity je nutná k udržení stability komunity
- i komunity s vysokou diverzitou nejsou schopné snášet obzvláště silné a neustálé narušování -různorodá stabilní komunita aktivovaných kalů
- toleruje přítok mnoha toxických chemikálií v nízké koncentraci
- vysoký přívod nějaké toxické substance může způsobit kolaps komunity



- jak druhy kolonizují (invade) prostor, rychlost zvyšování siverzity klesá, ale zvyšování počtu zástupců druhů
- v komunitě nemusí změnit biomasu komunity
- nakonec počet druhů dosáhne úroveň stability
- během raných fází sukcese komunity má počet druhů tendenci se zvyšovat
- druhová diverzita vrcholí během raných nebo středních fází sukcese a může se nadměrně snížit v stabilní klimaxové komunitě



- významnou otázkou - vztah mezi diverzitou a stabilitou komunity
- studie vlivu interakcí predátor-kořist na diverzitu a stabilitu komunity
- model - protozoa a bakterie: stabilita komunity predátorských protozoí se zvýšila se zvýšením diverzity na bakteriální úrovni
- stabilita populace protozoí záleží na:
 - nejen na diverzitě přítomných druhů (komunita dvou protozoí byla stabilnější než komunita tří protozoí – interakce mezi nimi)
 - ale i na vlastnostech druhů sloužících jako kořist



Indexy diverzity

- mnoho matematických ukazatelů popisujících druhovou bohatost a poměrné zastoupení druhů v komunitě
- především pro makroekologii - problém určení druhu v mikrobiologii (70-97%)
- mikrobiální ekologové používají numerickou taxonomii
 - mnoho charakteristik (i fenotypových)
 - následuje klastrová analýza – určení podobnosti organismů - podobné organismy = stejný druh
- ukazatele druhové diverzity dávají do souvislosti počet druhů a relativní význam jednotlivých druhů (druhovou bohatost a vyrovnanost/vyváženost)
- druhovou bohatost lze vyjádřit jednoduchým poměrem mezi celkovým počtem druhů a celkovým počtem individuí
- tento poměr měří počet druhů v komunitě, ale ne kolik jedinců toho kterého druhu je přítomno
- vyrovnanost (ekvitabilita) měří proporci jedinců mezi druhy - je indikátorem, zda jsou zde dominantní populace

Shanon-Weaver index

- je citlivý k druhové bohatosti i relativní druhové hojnosti
- Ale pozor při interpretaci výsledků – je citlivý k velikosti vzorku (zvláště u malých vzorků opatrná interpretace)

Equitabilita – vyrovnanost – nezávislá na velikosti vzorku – se dá vypočítat z Shanon-Weaver indexu

- Indikátory druhové diverzity - odrážejí komplexnost struktury komunity
- měří podíl individuí mezi druhy - indikuje, zda jsou zde dominantní populace

Ředění (rareface) porovnává zjištěné počty druhů s počty vypočtenými počítačovými modely

- tento postup byl použit pro mikrobiální komunity
- problémem u všech přístupů zůstává úroveň podobnosti použitá pro definování mikrobiálního druhu

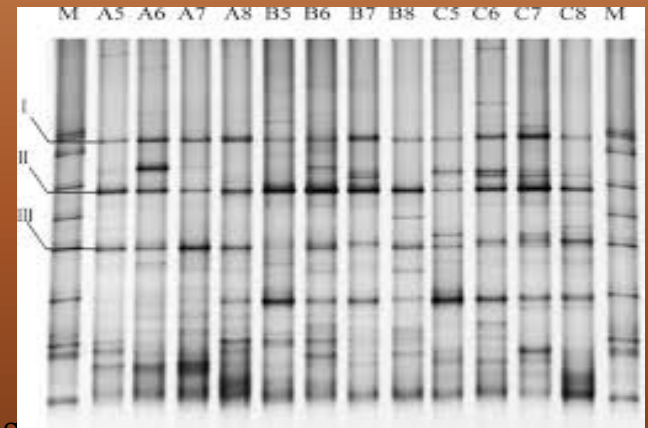
- **Watve a Gangal** (1996) navrhli použít průměrnou taxonomickou vzdálenost mezi všemi páry izolátů jako nedruhový (species-less) index diverzity bakteriálních komunit
- podle tohoto měřítka bakteriální komunity s méně taxonomicky odlišnými dominantními druhy by měly větší průměr (střední hodnotu) doprovázený větší variací/rozdílností, zatímco bakteriální komunity s větším
- počtem středně nepodobných biotypů by měly větší průměr (střední hodnotu) doprovázený malou variací
- teoreticky by se diverzita měla zvyšovat během sukcese
- toto bylo potvrzeno při studiích kolonizace síťoviny ponořené do jezerní vody:
 - Shannon-Weaver index (tedy diverzita) se během prvních 10 dnů zvyšovala
 - během této doby některé pionýrské populace zanikly a relativní zastoupení biomasy se přesunulo od heterotrofních bakterií k řasám a sinicím
- měření prokázaly, že stres snižuje diverzitu Shannon-Weaver index bakteriální komunity povrchové
- vrstvy vody je nižší u Arktického oceánu než oceánech mírného pásma
- narušení systému (nový polutant) – snížení diverzity
- diverzita bakteriálních společenstev je dobrým indikátorem znečištění (polutantů)

Genetické/molekulární indexy diverzity

- měřením heterogenity DNA celého mikrobiálního společenstva
- extrakce DNA celého mikrobiálního společenstva
- ze vzorku odebraného z daného habitatu
- odstranění nečistot (PVPP, hydroxyapatit, CsCl)
- nastříhání, denaturace a reasociace DNA
- půda – 4.000 zcela odlišných genomů bakterií
- cca 200x vyšší než odhad diverzity pro izolované bakteriální kmeny – problém nekultivovatelnosti

(podmínky na petričkách zvýhodňují rychle rostoucí bakterie schopné růst na půdách s vysokým obsahem živin)

- RFLP
- D/TGGE
- FAME (fatty acid methyl ester)
- LH PCR
- REP PCR (repetitive extragenic palindromic sequences)



DĚKUJI ZA POZORNOST

