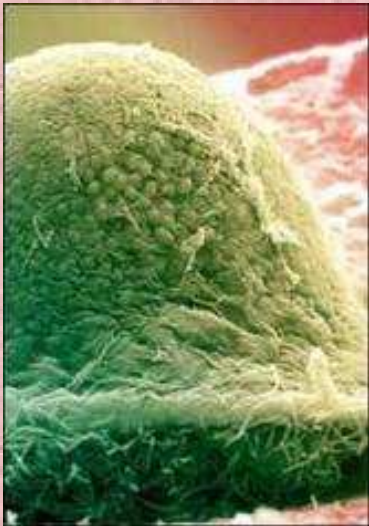
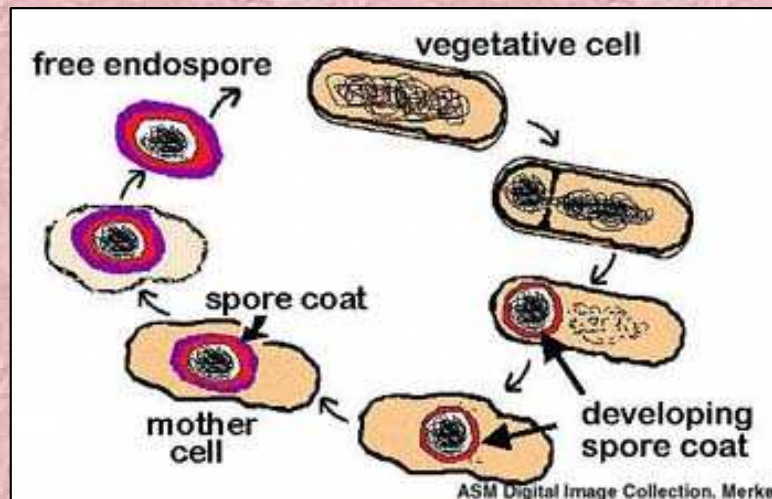


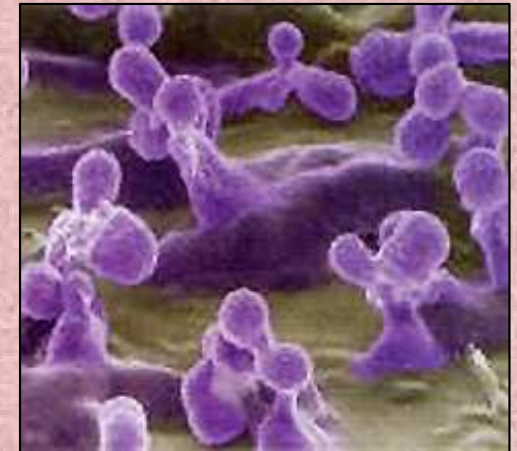
Růstové cykly bakterií



Plodnice
rodu
Myxococcus



Tvorba spory

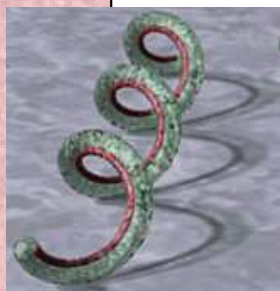
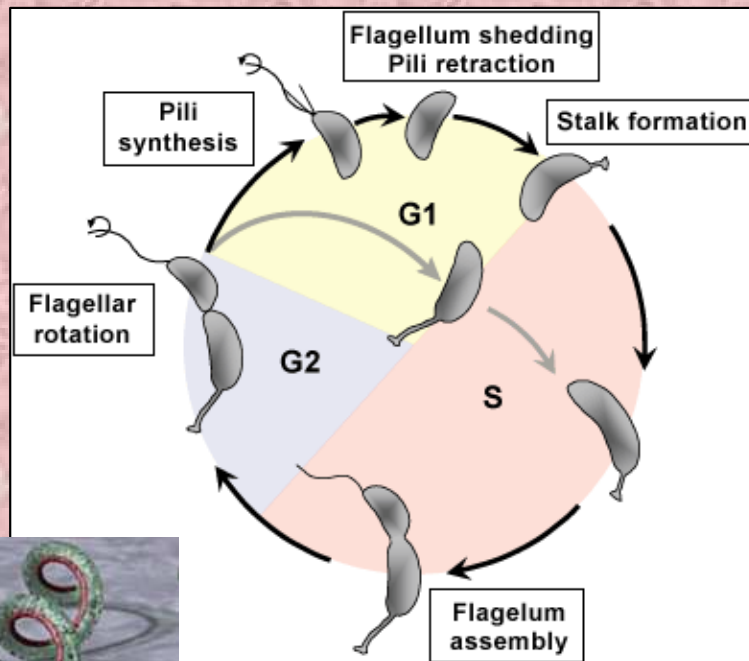
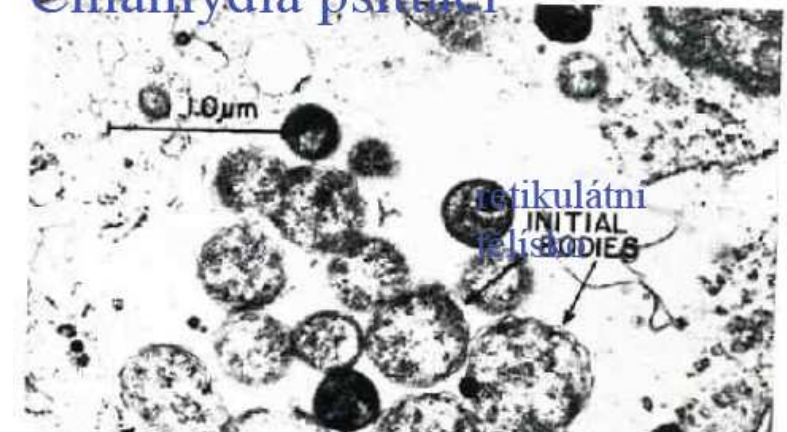


Plodnice
rodu
Myxococcus

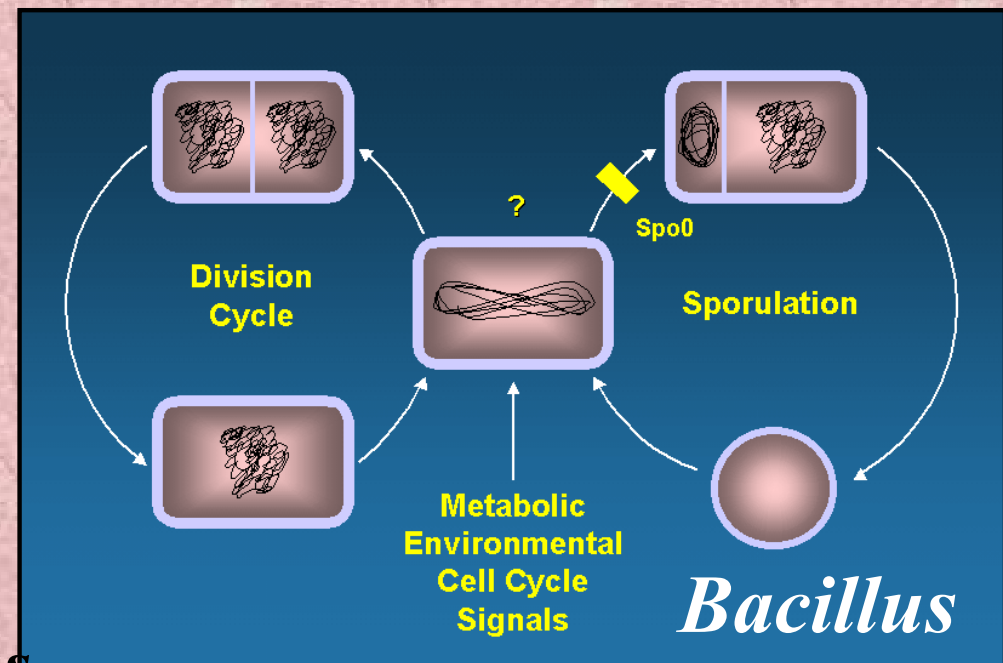
Růstové cykly bakterií

- jednoduché – střídají se 2 stádia
- ◆ rostoucí a klidové
- ◆ přisedlé a volné
- ◆ infekční a reprodukční
- komplexní s více než 2 vývojovými stádii
- ◆ myxobakterie
- růstové cykly vedoucí ke vzniku diferencovaných populací
- ◆ sinice - *Anabaena*

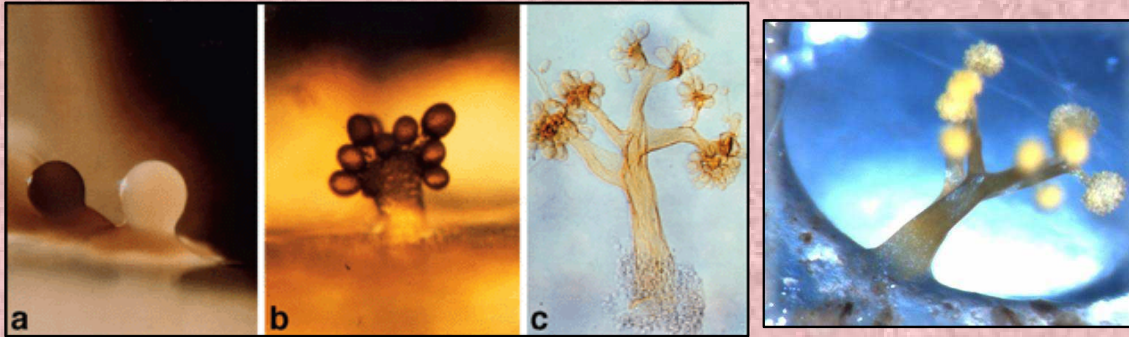
Chlamydia psittaci



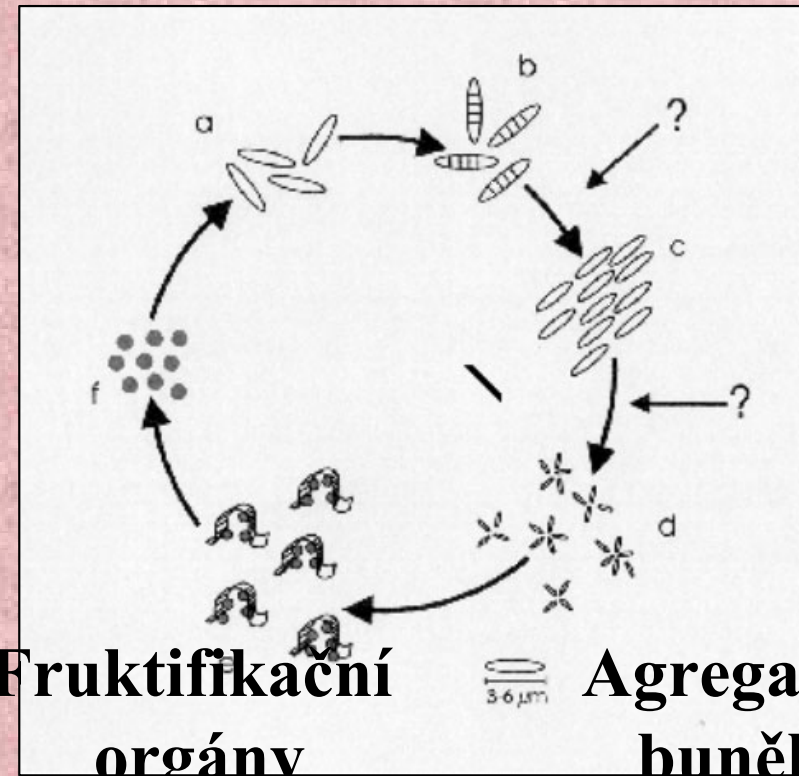
Buněčný cyklus
Caulobacter crescentus



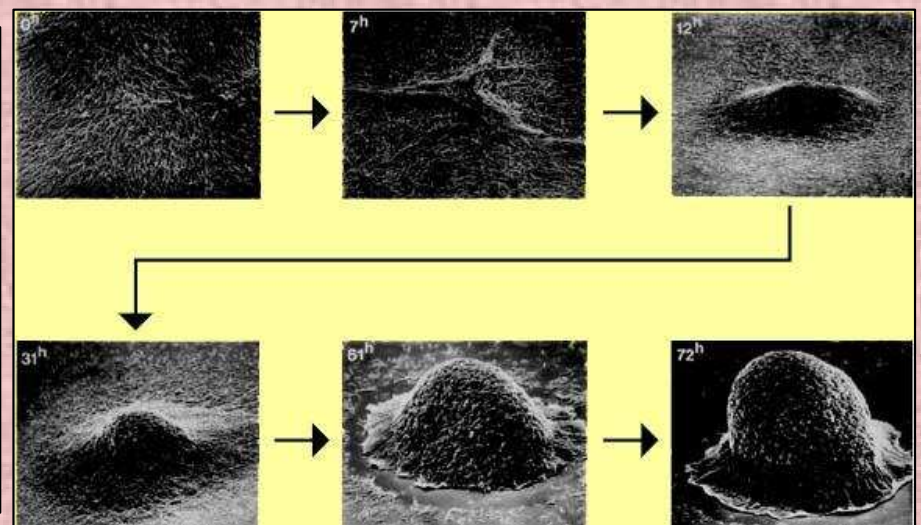
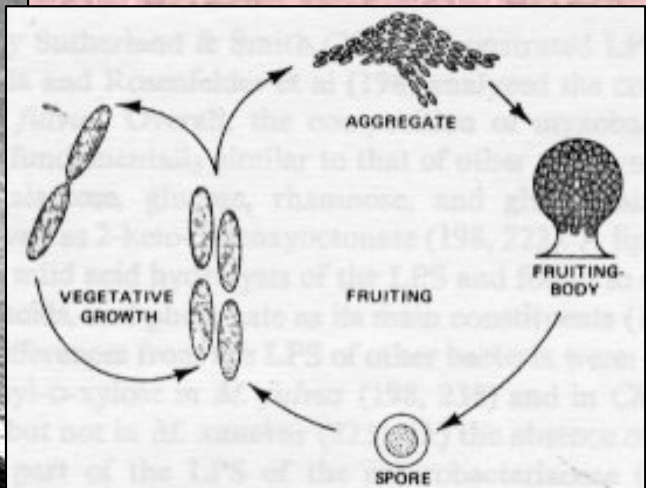
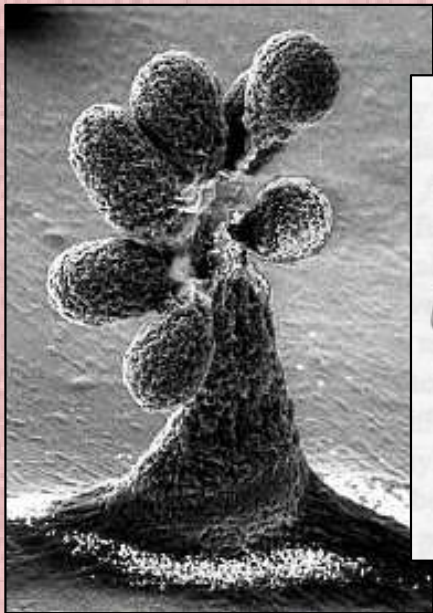
Bacillus



Komplexní růstový cyklus myxobakterií



Fruktifikační orgány **Agregace buněk**



Jednoduché růstové cykly

- Důvodem je adaptace či příprava (u sporulace) na změny podmínek životního prostředí
 - přechod z prostředí těla vyšších organismů ven
- Změny podmínek v půdě



Vegetativní a klidové stadium

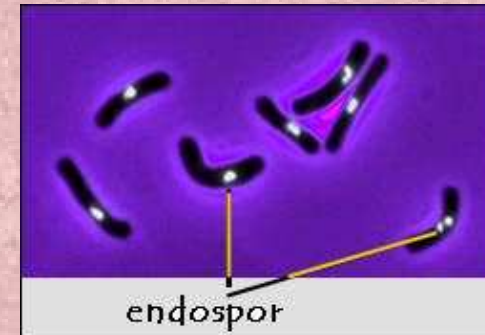
Tvorba spor

- G+ bakterie – endospory

termorezistentní

Bacillus, Clostridium, Sporosarcina,

Sporolactobacillus, Thermoactinomyces



- G- bakterie – exospory



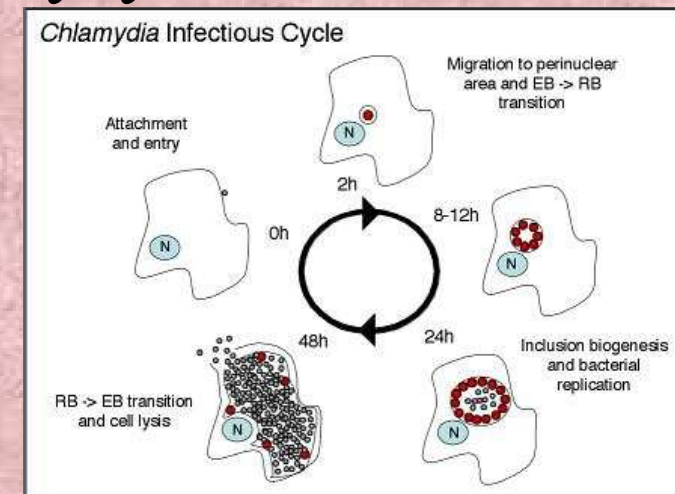
Méně rezistentní, odolné zejm. vůči vysychání

Azotobacter, Methylosinus



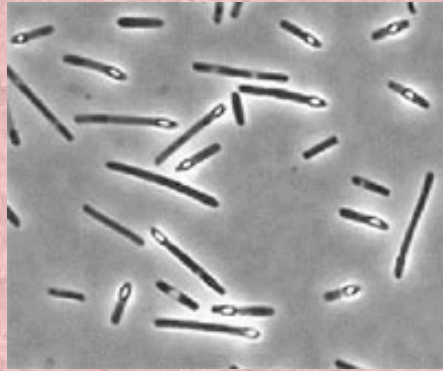
- Chlamydie

Elementární a retikulární tělíska

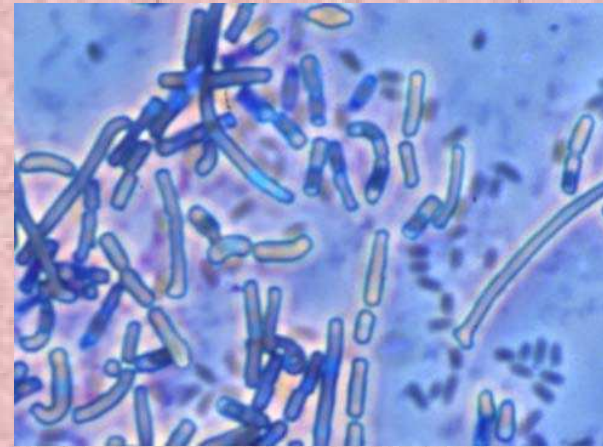




Clostridium difficile



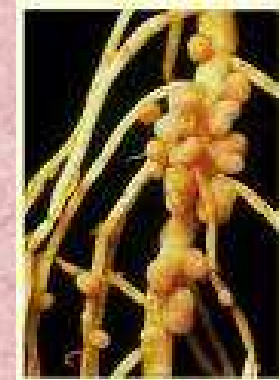
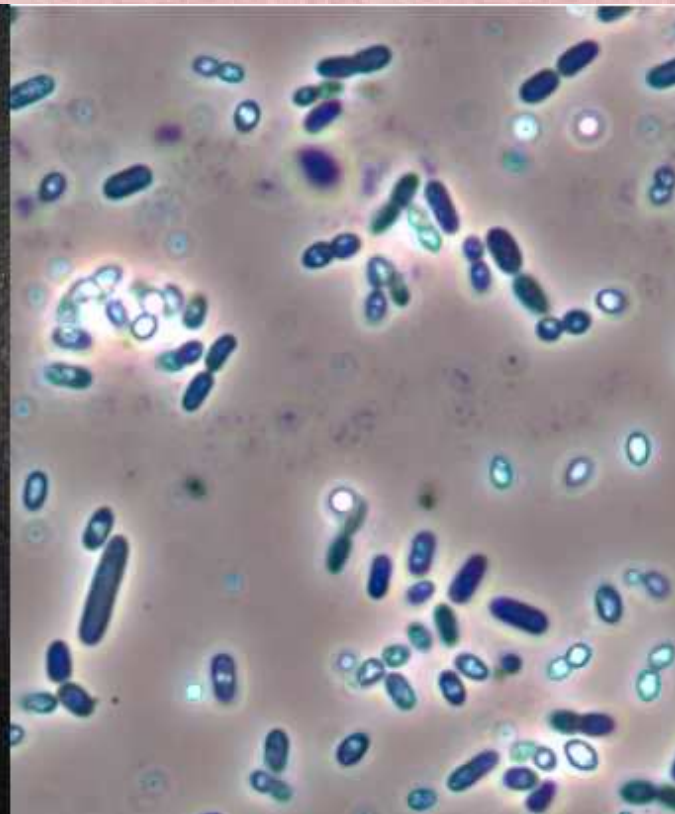
C. botulinum



Bacillus anthracis

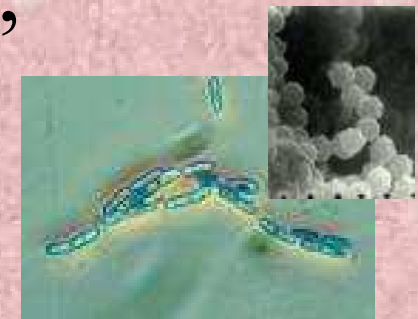


Azotobacter



Endospora, sporulace

- Asporulační medium – glukóza
- odolná, KLIDOVÁ (nereproduktivní) struktura
- převážně G+ bakterie - *Bacillus* (aerobní tyčky),
Clostridium, *Thermoactinomyces* a
Desulfotomaculum (anaerobní tyčky),
Sporosarcina (aerobní koky),
Sporolactobacillus, *Oscillospira*,
Thermoactinomyces
- také některými G - bakteriemi (*Coxiella burnetii*)



- možnost přečkat podmínky nevhodné pro život i po tisíce let



- minimální obsah vody a minimální metabolismus
- prostředkem šíření bakterií i na značné vzdálenosti
- Stabilizace makromolekul spory.
 - přítomnost specifických bílkovin
 - ztráta vody a její náhrada vápníkem.

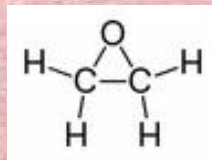


- **odolné k:**

působení UV a γ záření, k vysoušení, lysozymu, teplotním změnám, nedostatku živin a působení mnoha dezinfekčních prostředků. V ethanolu mohou přežívat několik měsíců.

- **Sporicidní látky:**

ethylenoxid, beta-propionlaktón, koncentrované louhy a kyseliny, formaldehyd při prodloužené expozici, kyselina peroctová – Persteril, jodové preparáty, chloramin.



Medicínsky významné jsou spory rodů *Bacillus* a *Clostridium*

Clostridium botulinum:



sporulující buňky odolávají 2-6 hodin teplotě 100 °C
oproti nesporulujícím, které hynou po 30' při 70 °C!

Spory inaktivovány po 20' při 121 °C vodní páry při

2 atm (0,2Mpa) a po 90' - 180' při 160 - 200 °C suchého
tepla, vysoce termorezistentní, přežijí až pětihodinový var



Clostridium tetani – tetanus. Ke zničení spor nutno
působit 100°C po 90 minut

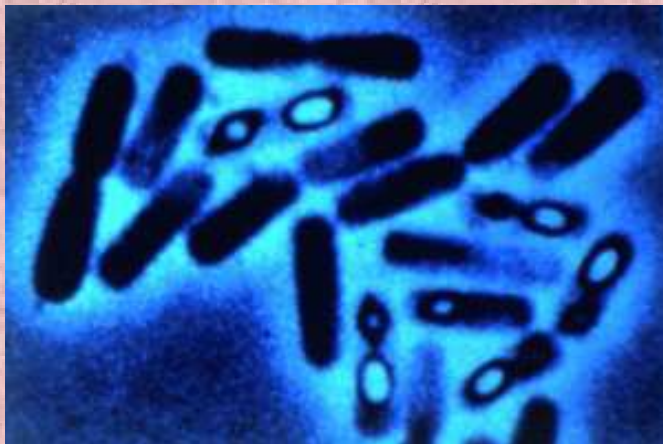


Bacillus anthracis – biologická zbraň, anthrax



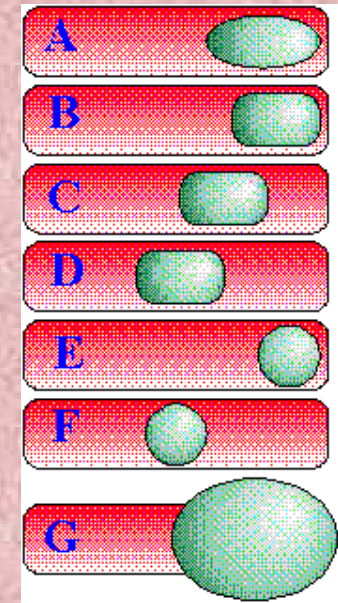
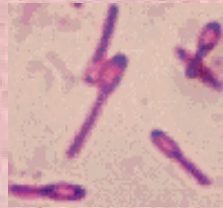


- biopesticidy - Bt toxin transgen - *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*



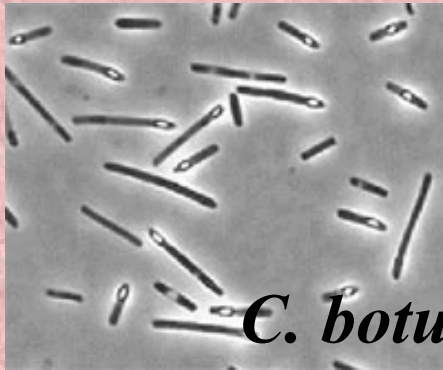


Morfologie spor

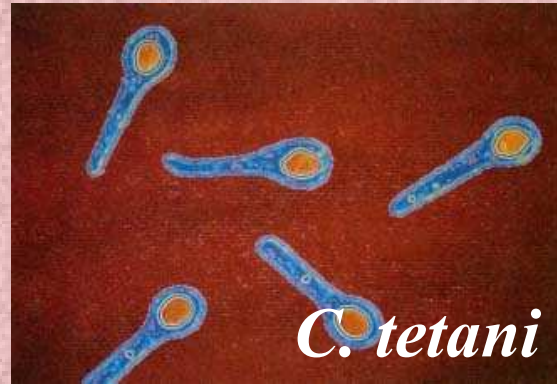


- **Mikroskopie:** vysoce světlolomné útvary nepřijímající Gramovo barvivo
- **Tvar, velikost a uložení** – charakteristický znak pro identifikaci
- **Velikost** – všímáme si, zda a ve kterém místě spora vyklenuje buňku. Zda je průměr spory větší, než tloušťka vegetativní buňky

- Rozšíření buňky: *C. botulinum*, *C. tetani*, *Bacillus stearothermophilus*



C. botulinum

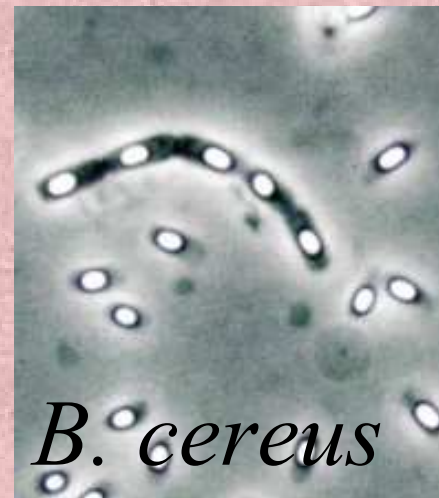


C. tetani



Clostridium botulinum

- mírné rozšíření: *C. histolyticum* a *C. novyi*).
U některých druhů spora buňku nezduřuje:
B. anthracis, *B. cereus*.

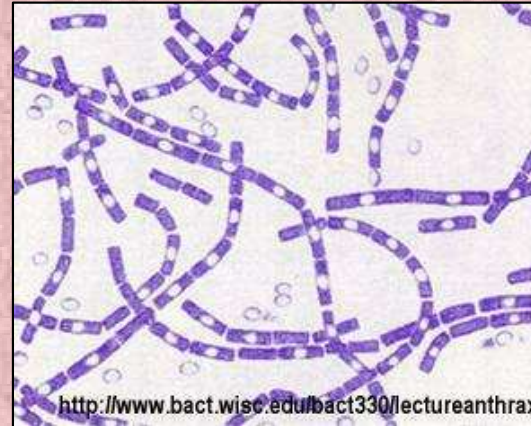
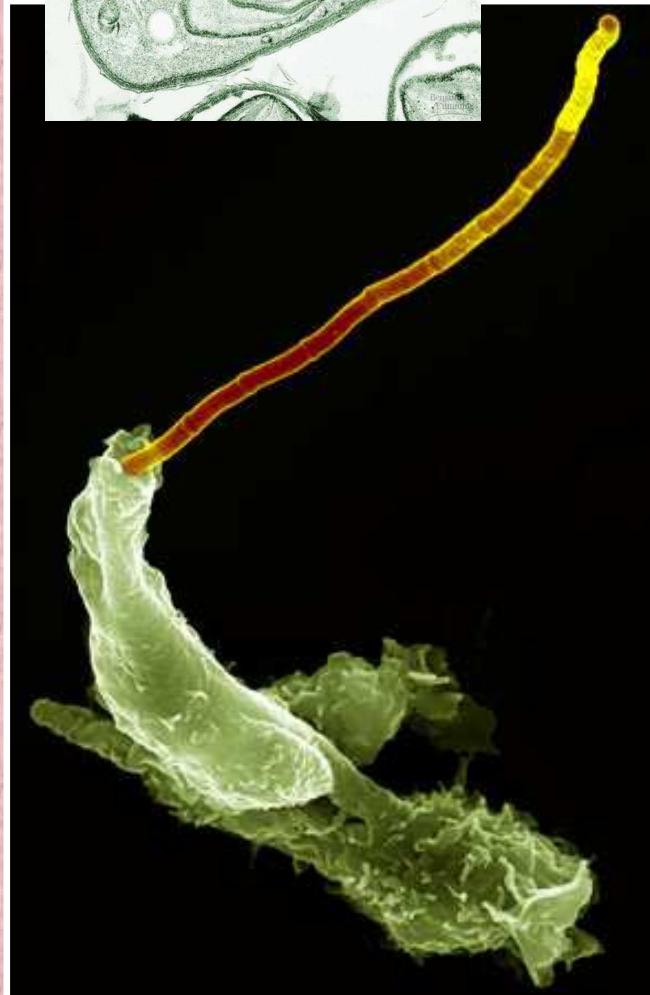


B. cereus

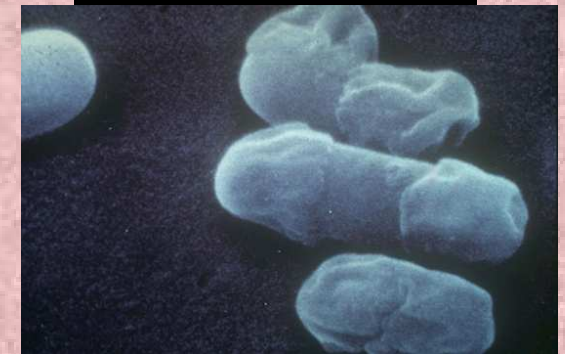
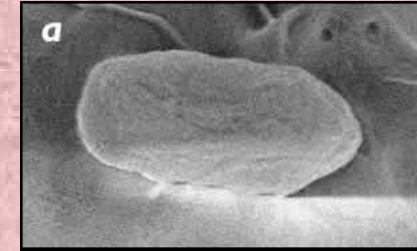


Clostridium difficile

Bacillus anthracis



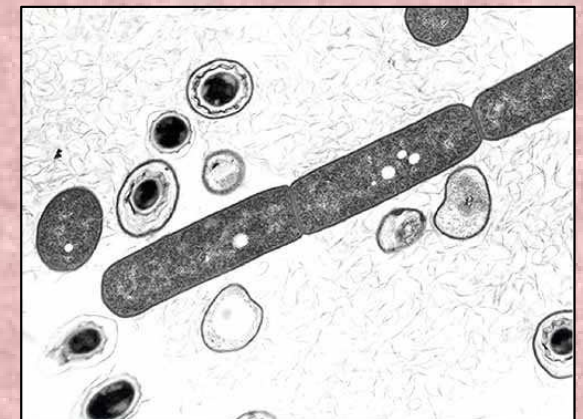
<http://www.bact.wisc.edu/bact330/lectureanthrax>



spory



Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.



Lidský neutrofil útočící
na *Bacillus anthracis*

Tvar spory

- Oválné - *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, *Clostridium botulinum*
- Kulaté – *Cl. tetani*, *B. sphaericus*
- Cylindrické, elipsoidní.

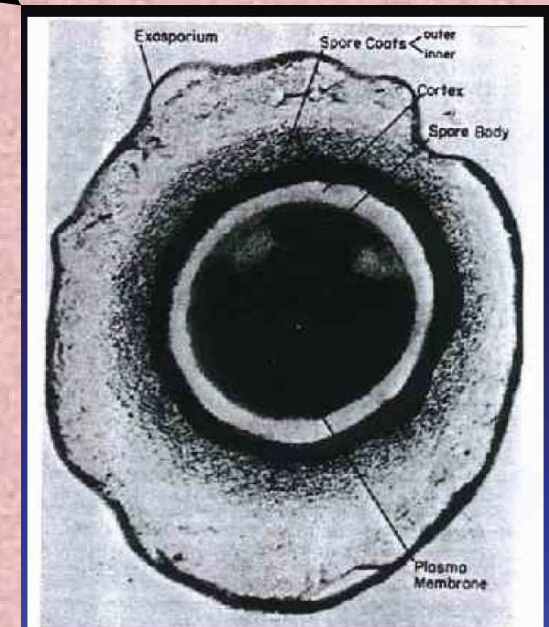
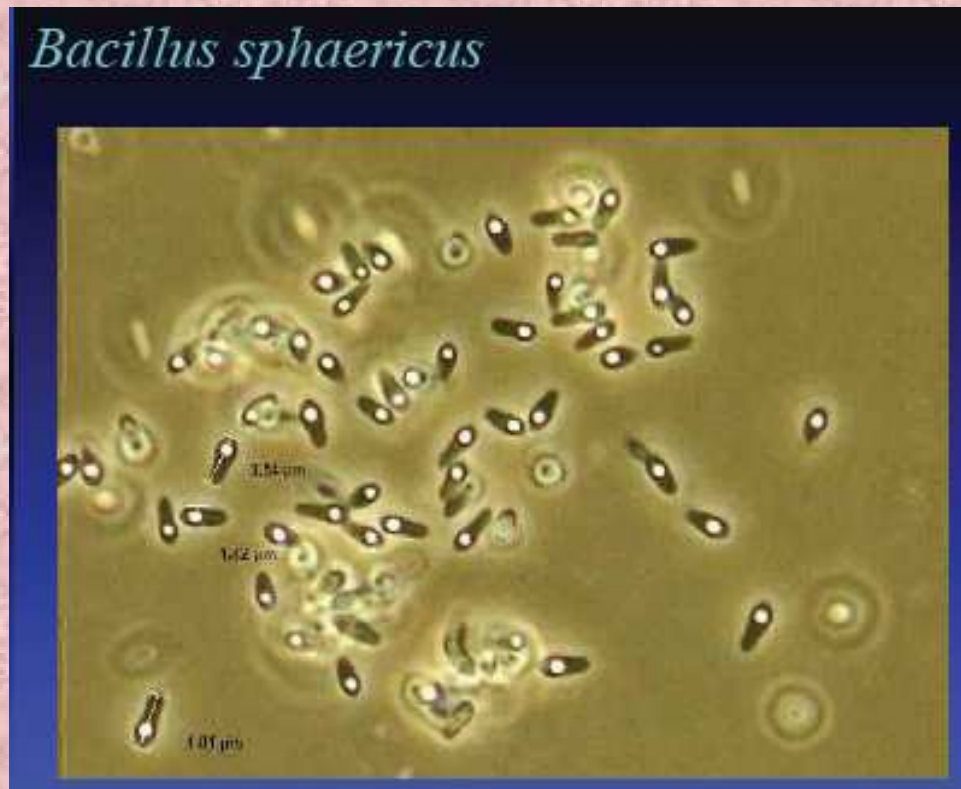
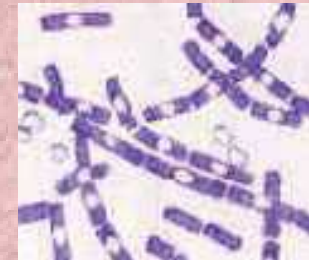
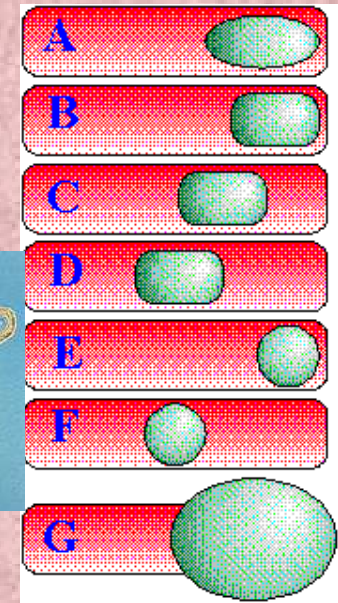
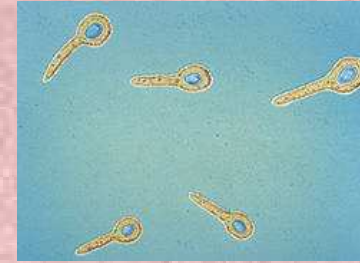


Fig. 2. Electron micrograph of a thin section of a spore of *Bacillus sphaericus*. (Courtesy of Dr. S. Holt.)

Uložení spory v buňce

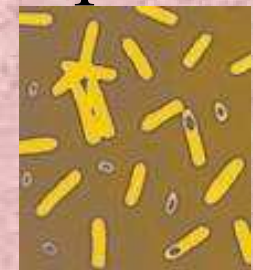
- terminální = na konci tyčinky
(*C. tetani* jakoby paličky, proto byl dřívější název „Plectridium tetani“, pléctron = řec. kladivo), *B. stearotermophilus*



- centrální (*C. histolyticum*, *C. novyi*, *C. septicum*, *B. anthracis*, *B. cereus*)

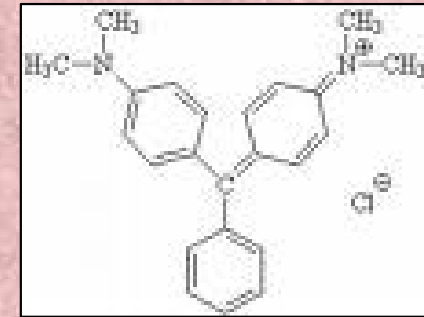


- subterminální = paracentrálně = mezi středem a pólem buňky, většinou (*C. botulinum*, *C. sporogenes*, *B. brevis*)





Barvení



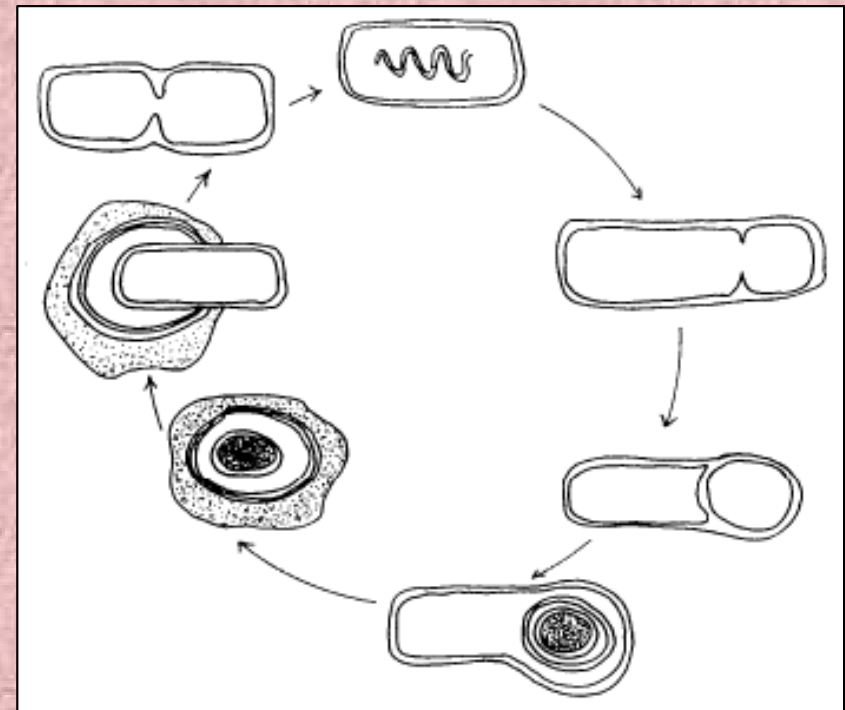
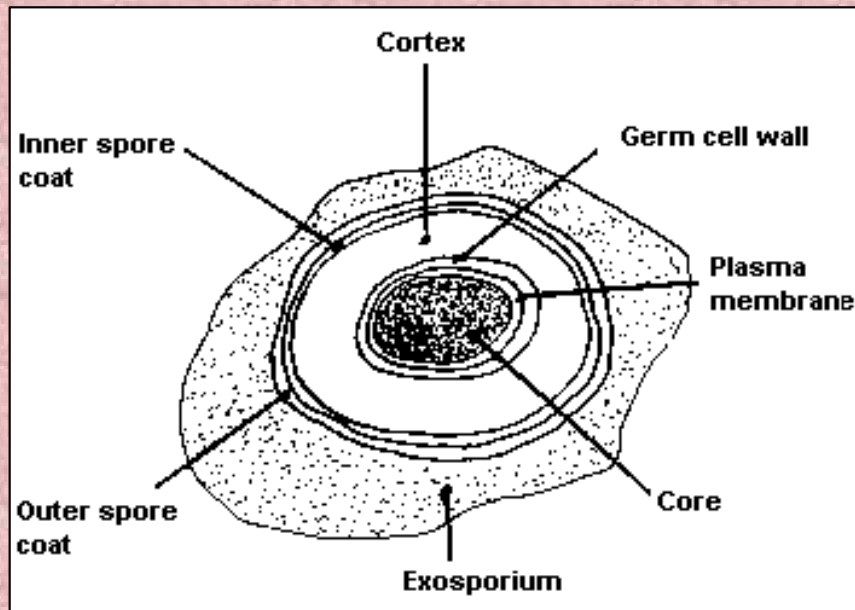
Obdobné postupu barvení acidorezistentních tyčinek (barvení za horka).

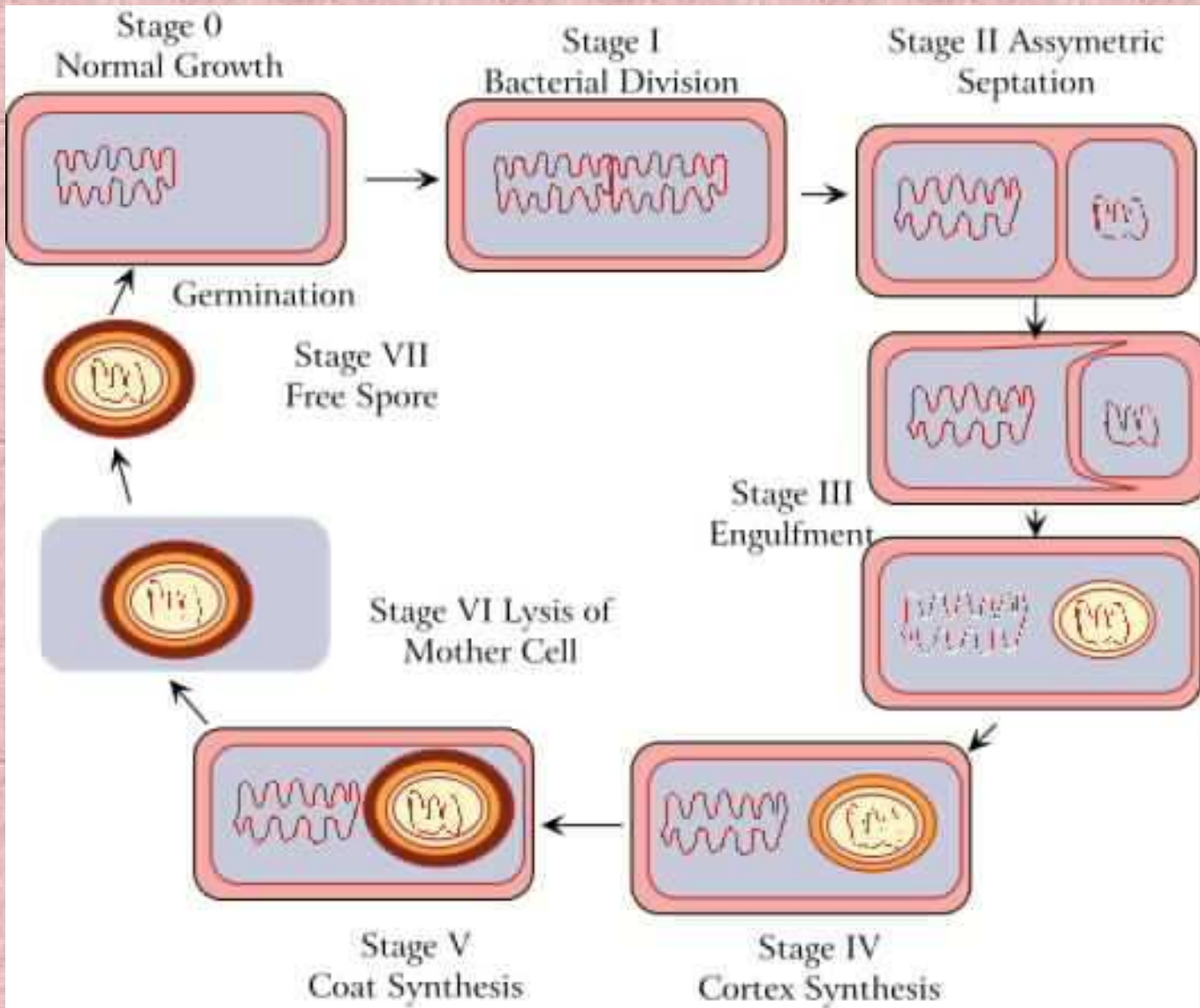
Poté vzdorují odbarvování i roztokem HCl+ethanol.



Proces sporulace

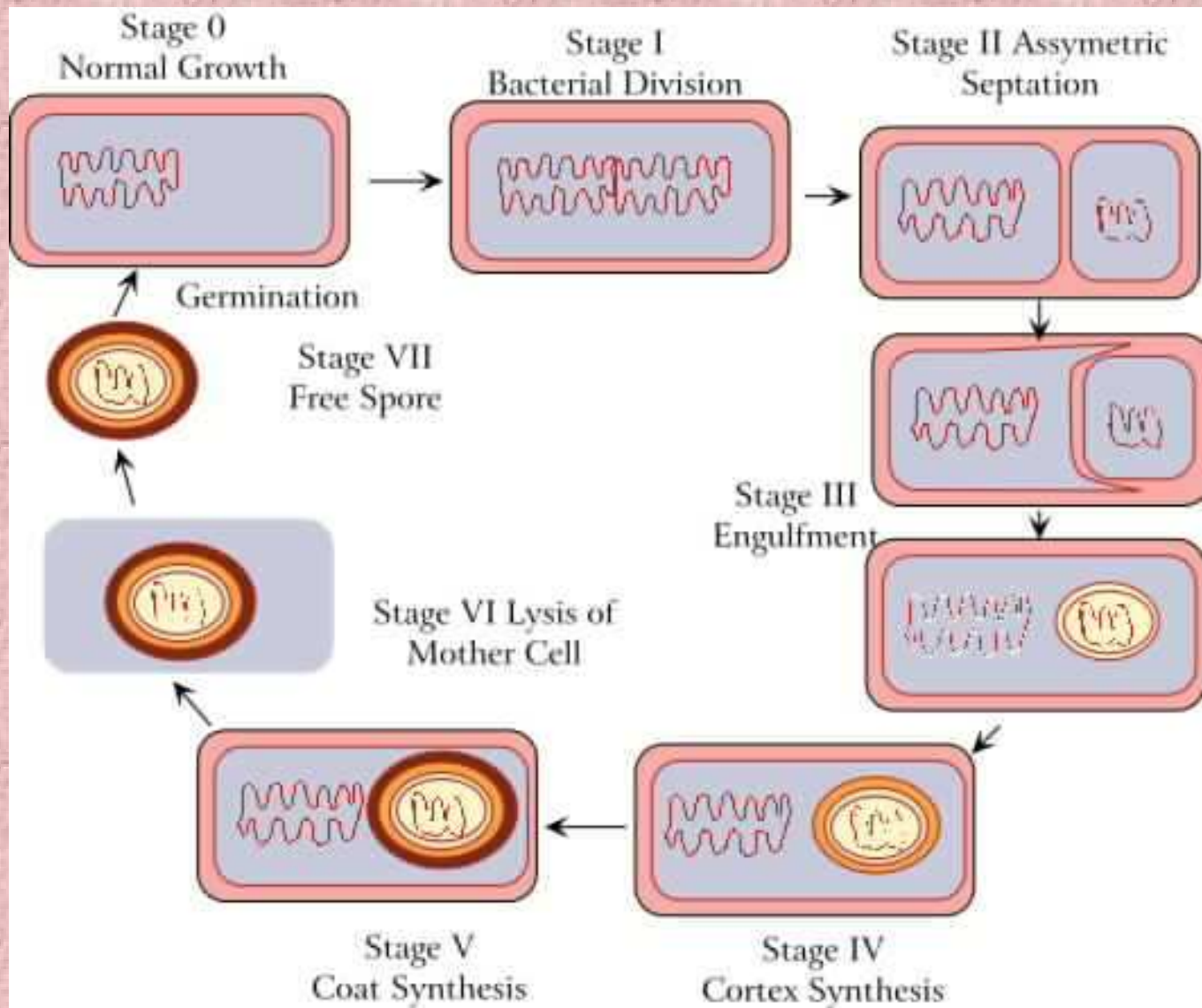
- Začíná ve fázi G1 přechodem od binárního k asymetrickému dělení
- Hlavně stacionární fáze





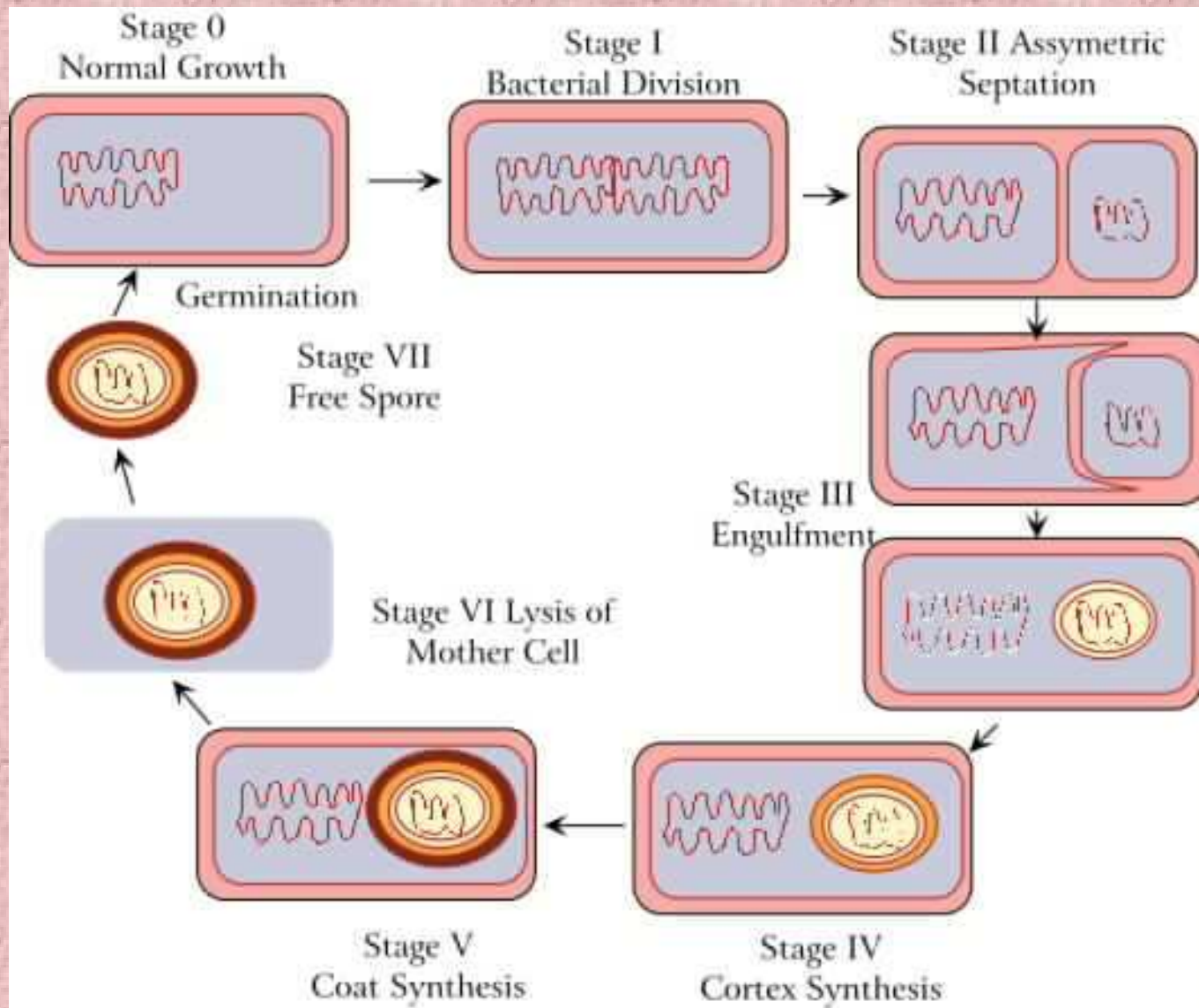
- **7 fází**

- **Fáze 0**
Mateřská vegetativní buňka (sporangium) přechází z binárního k asymetrickému dělení.



- **Fáze I**
- Tvorba axiálních filament k
- **rozdělení bakteriálního chromozomu.**
- Sporogenní zóna – jiná hustota

Jeden z prvních signálů sporulace: vznik kvanta volutinu

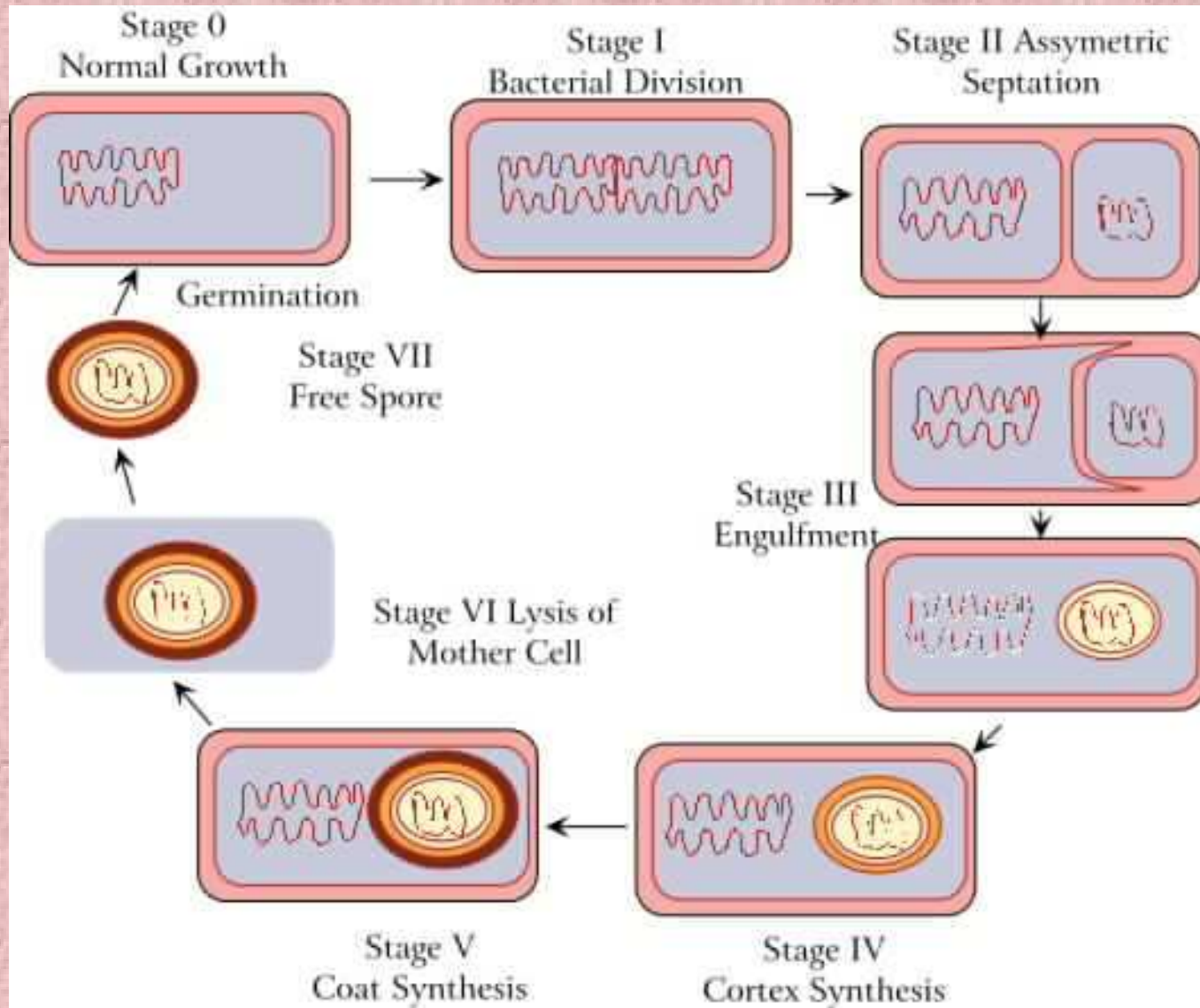


- Fáze II
- ukončena replikace buněčného genetického materiálu, a ten se následně rozestupuje k pólům buňky. Končí invaginace cytoplazmatické membrány.

Dvojité vchlípení CM

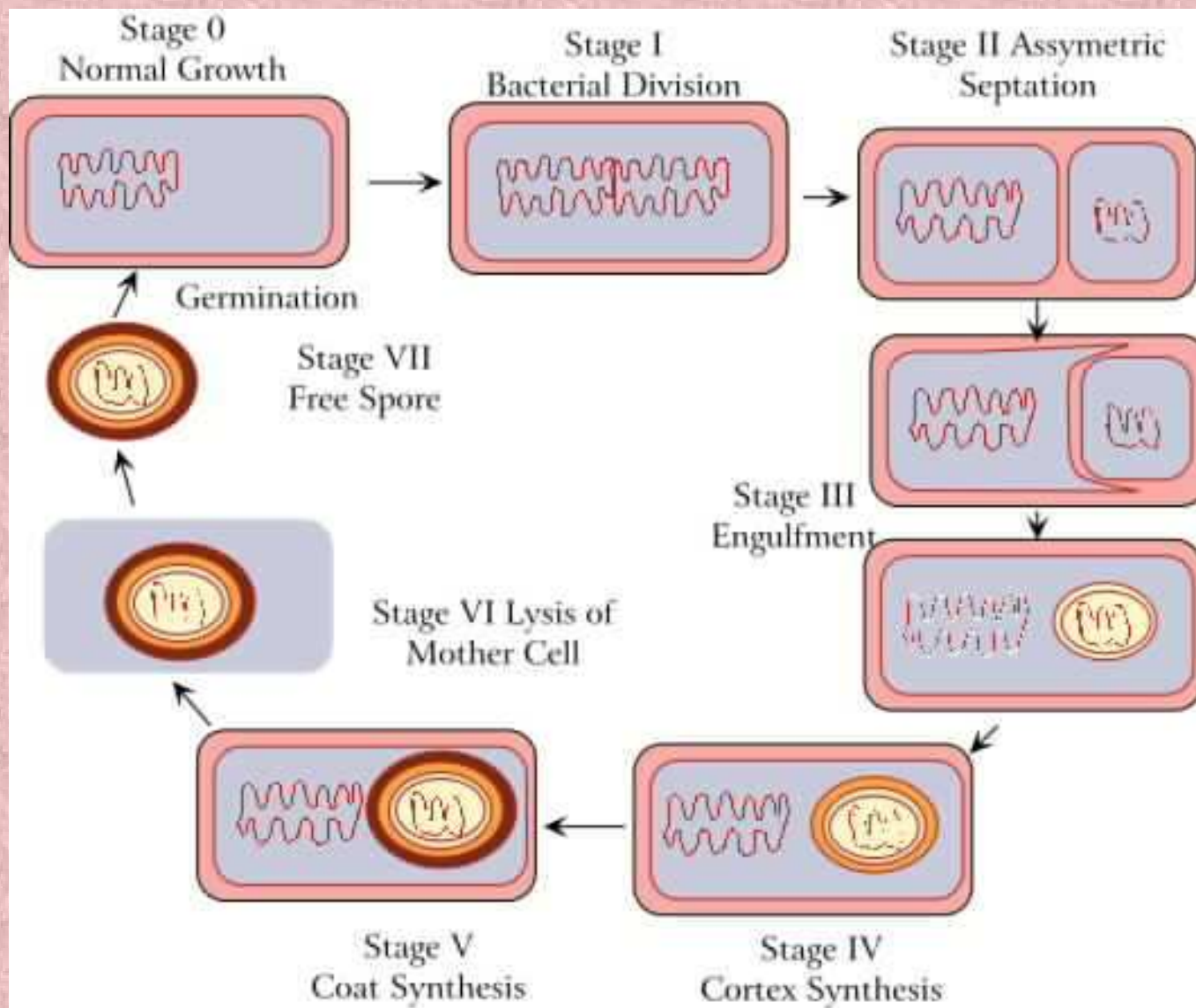
• Fáze III

- **proliferace cytoplasmatické membrány kolem obou vydělených částí buňky, u spory dochází k zaobalení (prospora - barvitelná)**
- Intina. extina



**Není dosud
světlolomná**

→ Spóra se nezobrazí (nesvítí při mikroskopii ve fázovém kontrastu)



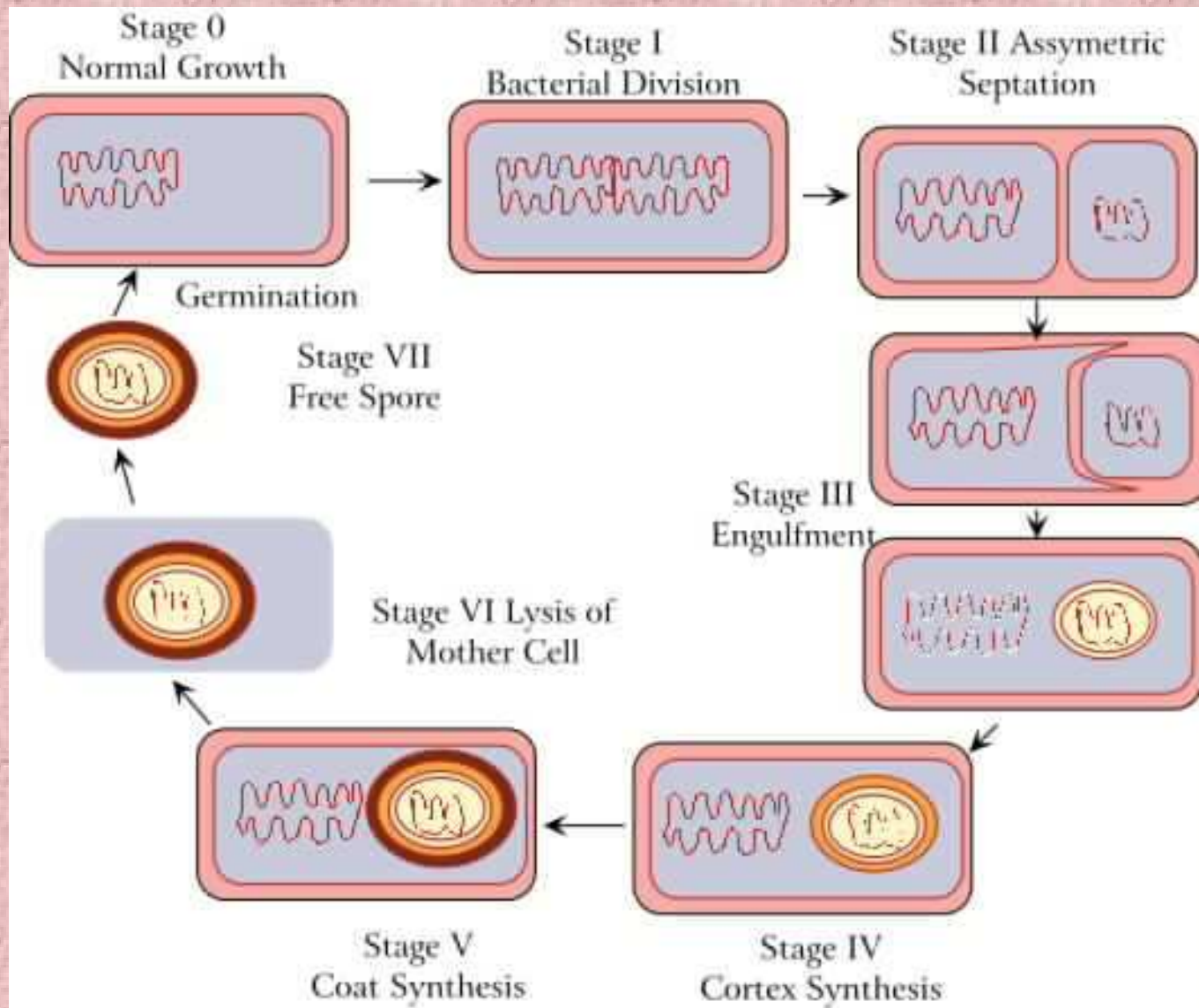
• Fáze IV

Tvoří se **kortex** spóry s PG o složení lišícím se od peptidoglykanu buněčné stěny

- Ve spóře obsažena **kyselina dipikolinová** (stabilizuje kvarterní strukturu DNA ve vazbách) a velké množství **Ca⁺⁺ iontů** – **aktivní transport** - **antiport**.

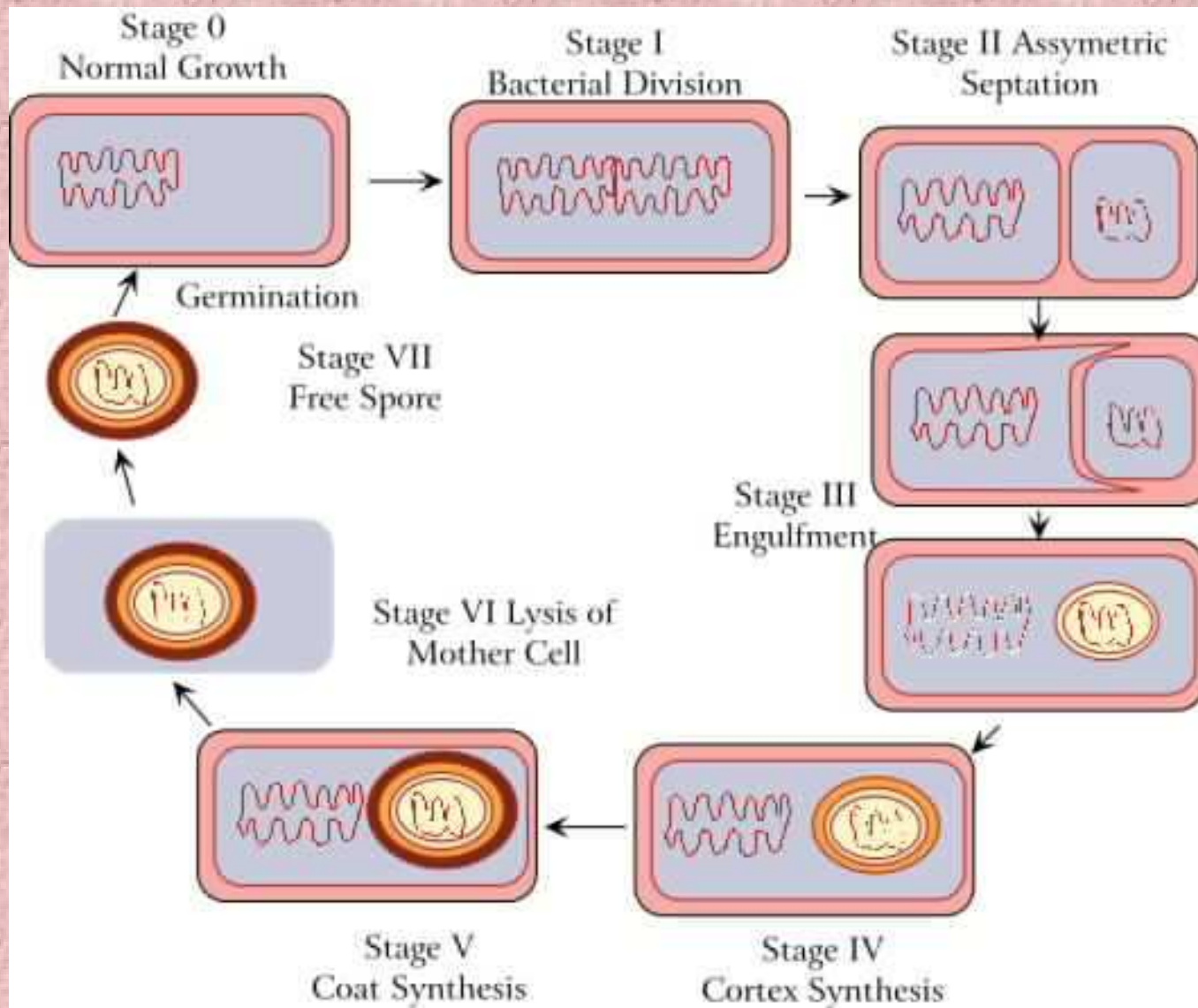
Endospora je již světlolomná – Nomarského a fázový kontrast.

Termorezistence – k. dipikolinovaná transport do prospory

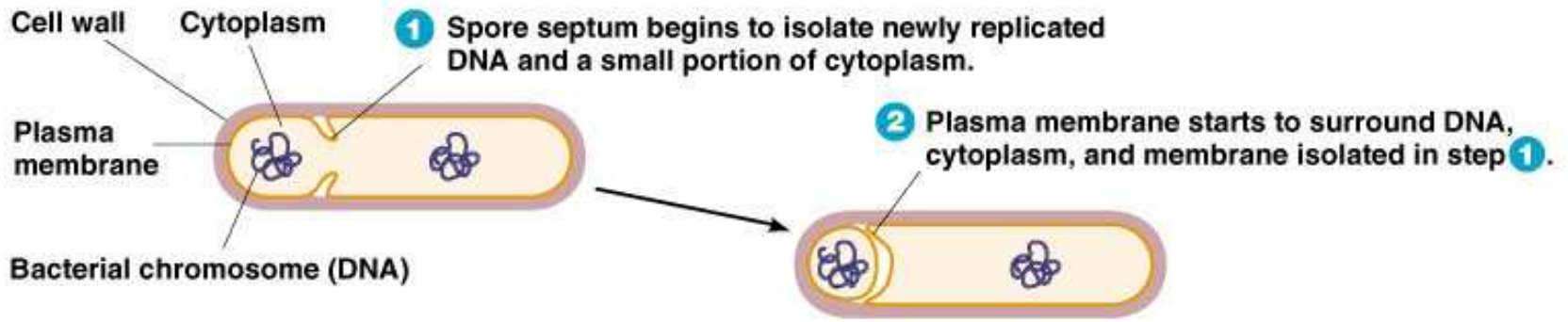


- **Fáze V**
- Syntéza **pláště**.
- Vícevrstevný.
- Již minimum vody.
- U rodu *Bacillus*:
Vzniká **exosporium** složené z deseti proteinů, polysacharidů a lipidů.

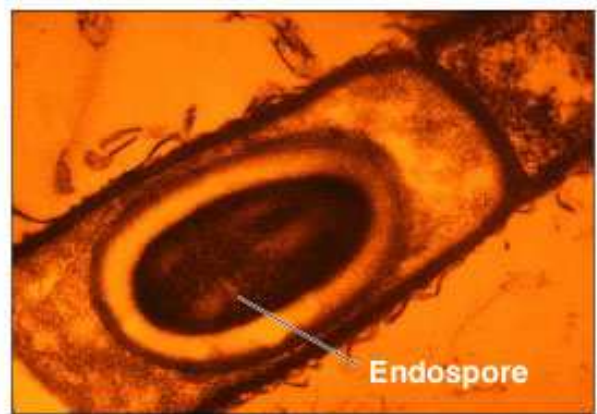
Chemotaxonomie – unikum bílkovin pláště



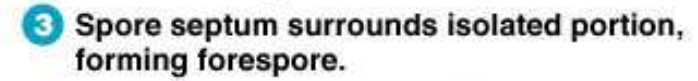
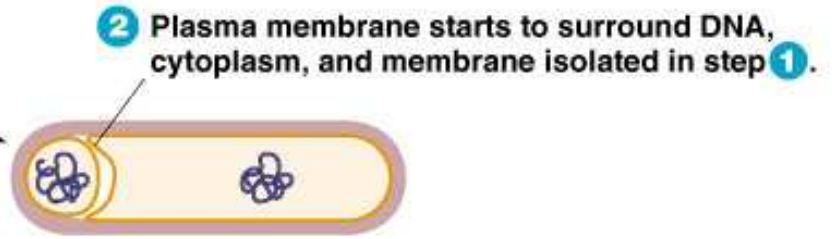
- Fáze VI
- Maturace endospory a lýza mateřské buňky, **uvolnění zralých spór**
- Fáze VII
- **Volná zralá spóra.**



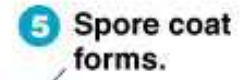
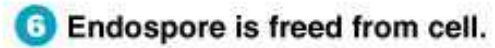
(a) Sporulation, the process of endospore formation



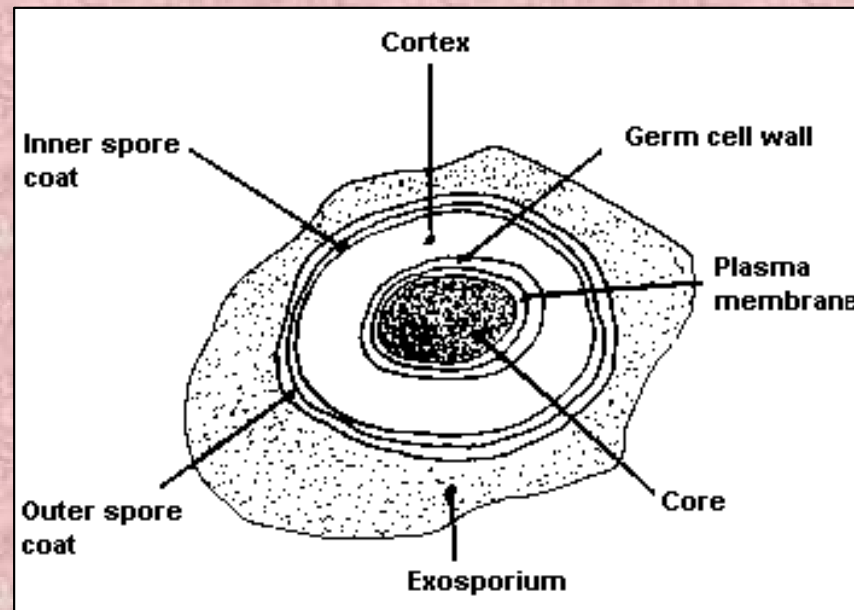
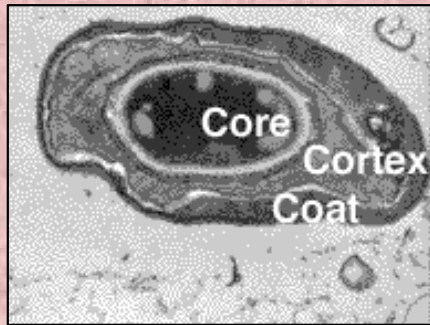
(b) An endospore in *Bacillus anthracis*



Two membranes



Stavba zralé spory



- **Jádro** – obsahující sporoplast či protoplast : stroma spóry představuje gelovou matrix, tvořenou bakteriálním jaderným ekvivalentem – nukleoidem, kalciem dipikolinátem (CDPA) nebo pyridin-2,6-dikarboxylovou kyselinou, jež nahrazuje vodu při udržování kvarterní struktury DNA

- **Kortex**

- **1) vnitřní kortex** (20% kortexu) či stěnu spóry

- **2) zevní kortex** (80 % kortexu).

- Zajišťuje **nepropustnost (nebarvitelný!)**

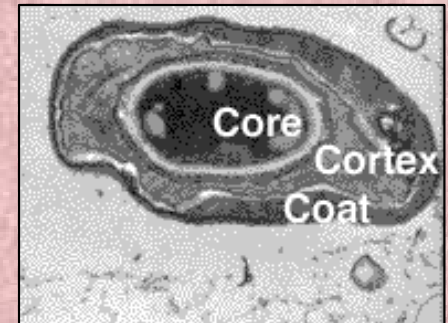
- Kortex tvořen peptidoglykany (PG).

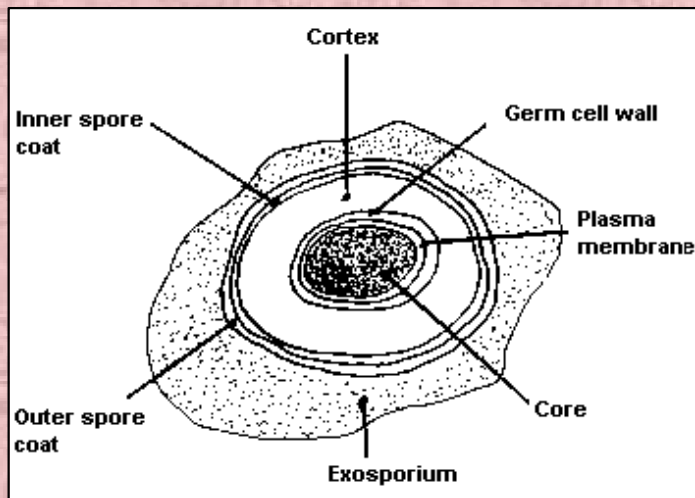
- **Jen 20-30 %** PG jednotek shodných s jednotkami v buněčné stěně.

- Zbylých 50-60 % **N-acetylmuramyl–laktam**,

- dalších 18-20 % kyseliny N-acetylmuramové je spojeno s **L-alaninem** namísto tetrapeptidu.

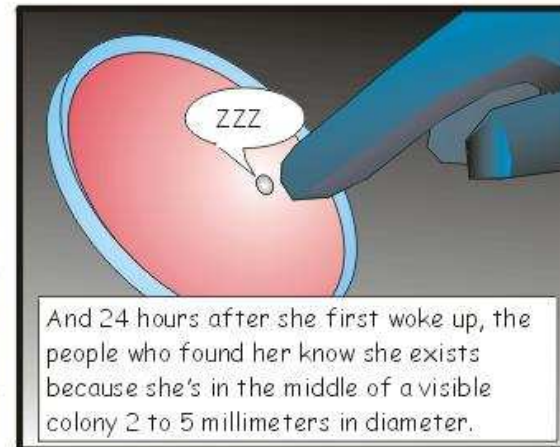
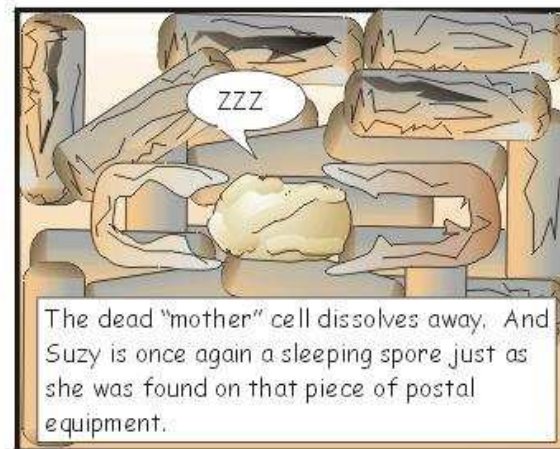
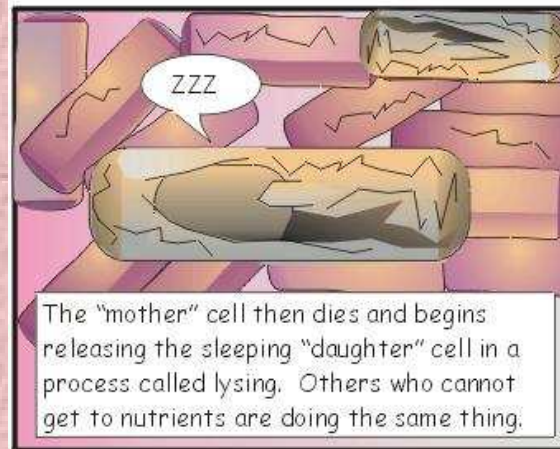
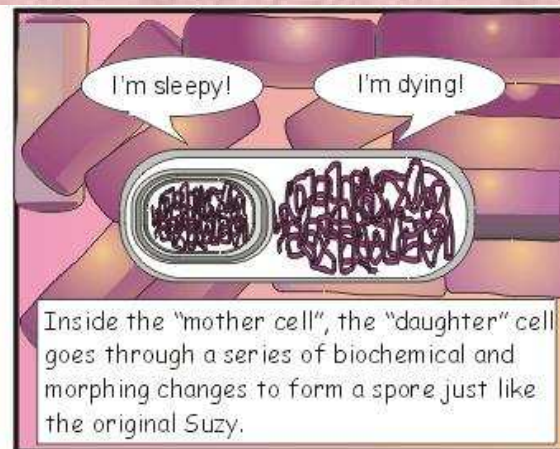
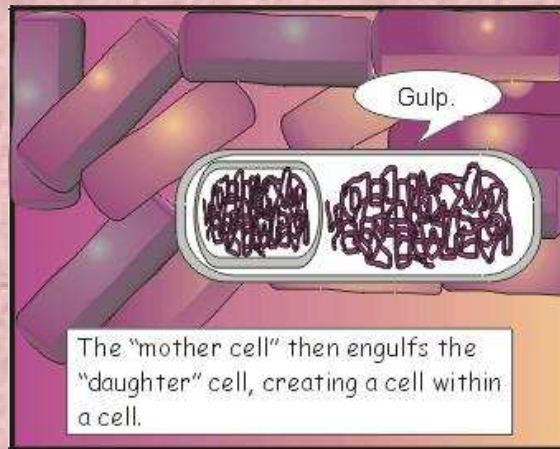
- Tyto modifikace zajišťují enzymy: membránově vázaná Glu-mesoDmp hydroláza a cytosolová Ac-Ala-Glu-mesoDmp lyáza.





- Perikortikální membrána
- Pláště složené z proteinů bohatých na cystein (a podobných keratinu), zajišťují odolnost spór k působení chemikálií.
- výše zmíněné exosporium u rodu *Bacillus*

Jedinečné a charakteristické struktury spory



- Kalcium dipikolinát
- Proteiny stabilizující DNA
- Kortex
- DNA reparační enzymy v procesu germinace

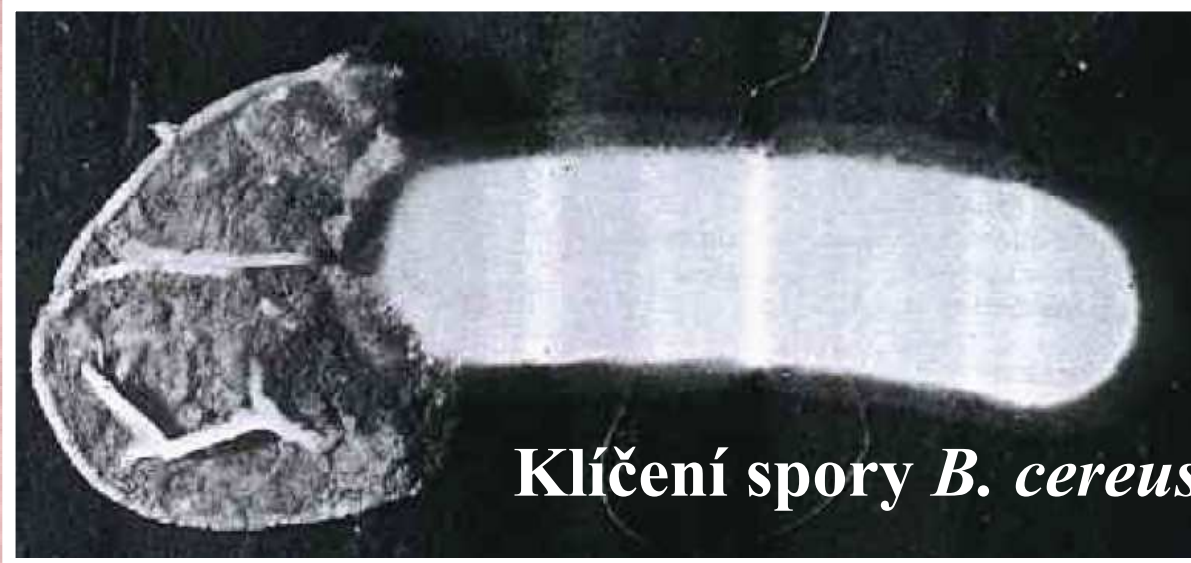
Germinace spory – terminální, centrální

- Germinací rozumíme **rychlý proces** klíčení spory. Začíná spontánní aktivací spory
- **Aktivace** – destabilizací pláště – působením teploty 70-85 °C po 5 – 10 min,

další aktivátory: malé organické molekuly, L-Ala, Ado a Ino, vyšší obsah bází

V laboratořích zahřátí v přítomnosti vody.

Aktivovaná spora přijímá vodu a ztrácí rezistenci – bílkoviny se začínají rozkládat, vzniklé AMK - stavební kameny nových proteinů



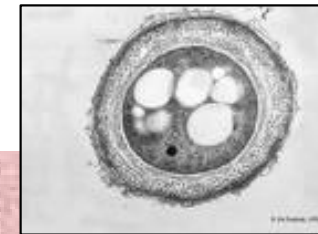
- Lytický enzym: p68 => p29
(kortikohydroláza) – depolymerizuje
kortex pro nástupný průnik vody. Po
dvou hodinách po germinaci spory
následuje dělení vegetativní buňky.
- Inhibice klíčení: D-Ala, $MgCl_2$, PMSF

Exospory = cysty

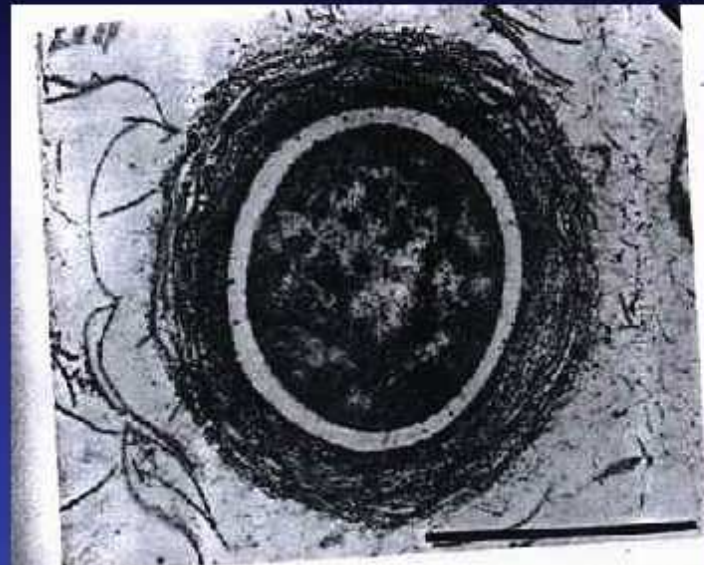
- Nejsou tolik rezistentní vůči teple
- Rezistentní vůči vysychání
- Granula PHB
- Odlišné obaly

Růstový cyklus *Azotobacter vinelandii*

- exospory = cysty
- vznikají vytvořením pevného obalu na vnější straně zakulacené buňky
- nejsou rezistentní k extrémním teplotám
- jsou rezistentní k vysychání a některým fyzikálním a chemickým faktorům
- poly-b-hydroxybutyrátová granula – typická pro cysty
- encystaci lze navodit poly-b-hydroxybutyrovou kyselinou



Cysta *Azotobacter vinelandii*



Růstový cyklus *Azotobacter vinelandii*

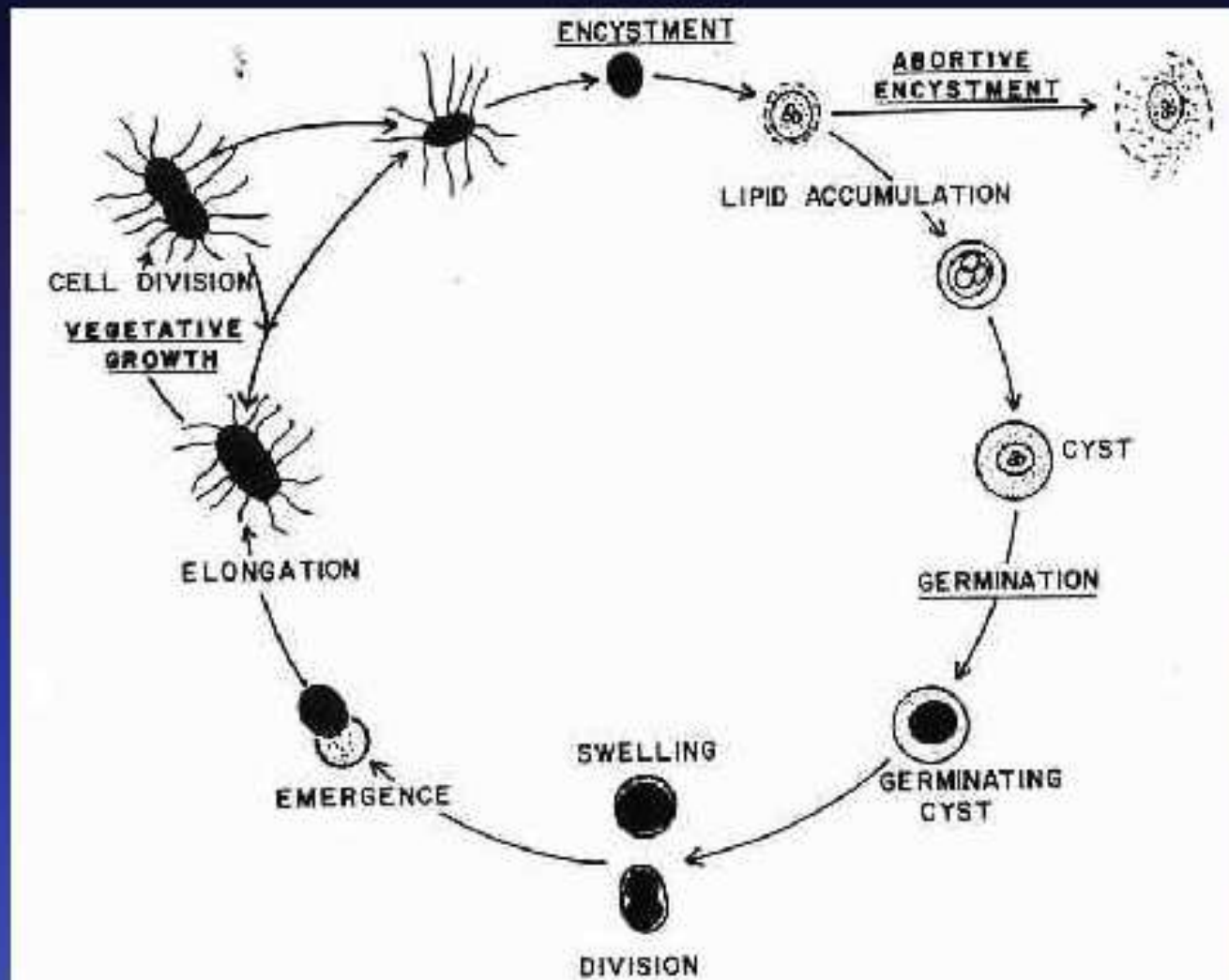
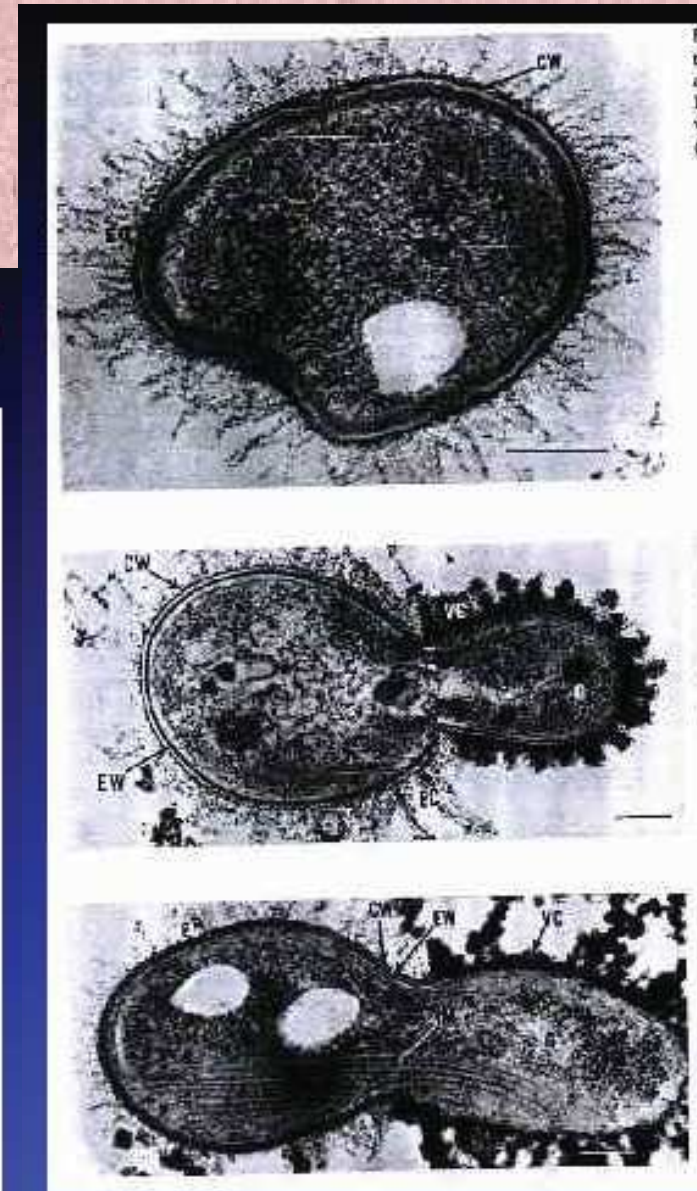
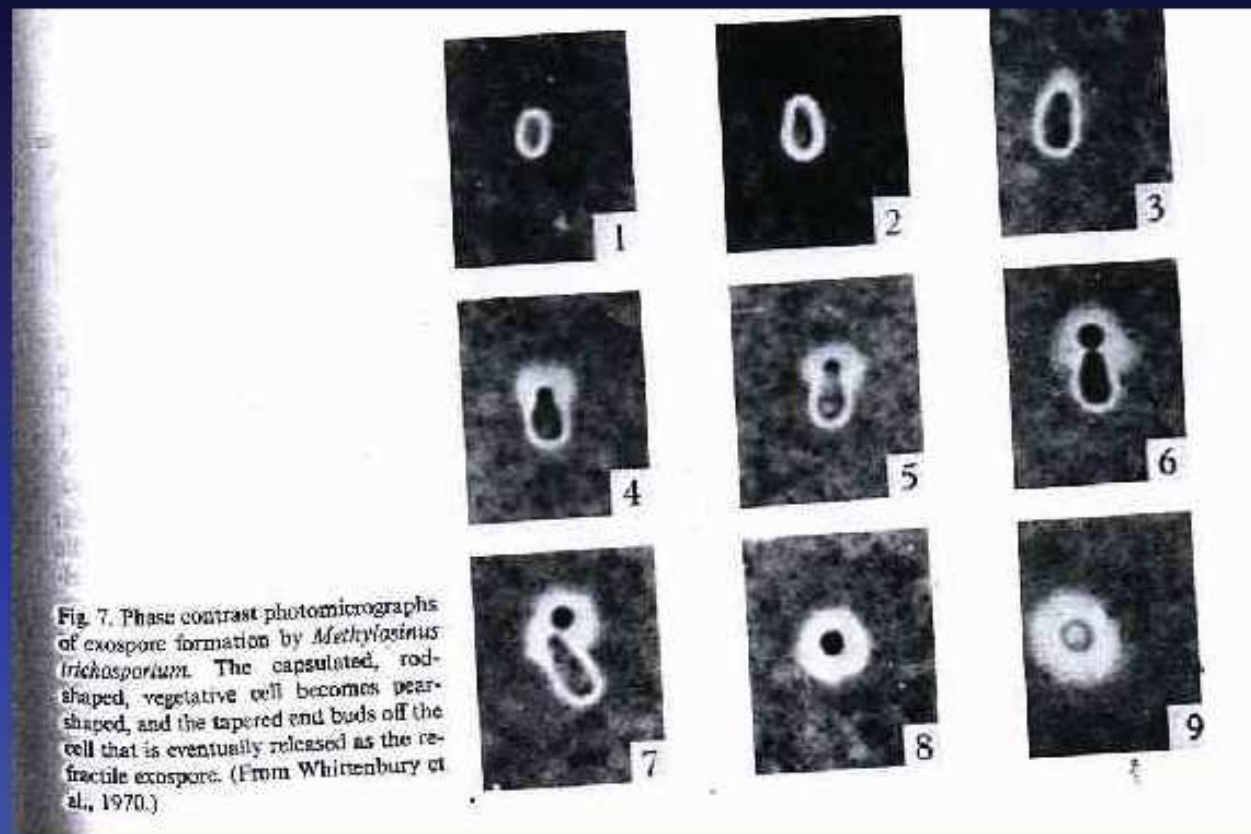


Fig. 4. Schematic diagram of the life cycle of *Azotobacter vinelandii*. (From Sudof, 1975.)

Methylosinus trichosporium

- metanotrof, opouzdřený
- exospory rezistentní vůči vysychání a teplotě do 78°
- stacionární fáze
- prodlužování buňky do hruškovitého tvaru
- pučení na zúženém konci
- uvolňuje se kulatá exospora
- za vhodných podmínek klíčí

Tvorba exospory u *Methylosinus trichosporium*



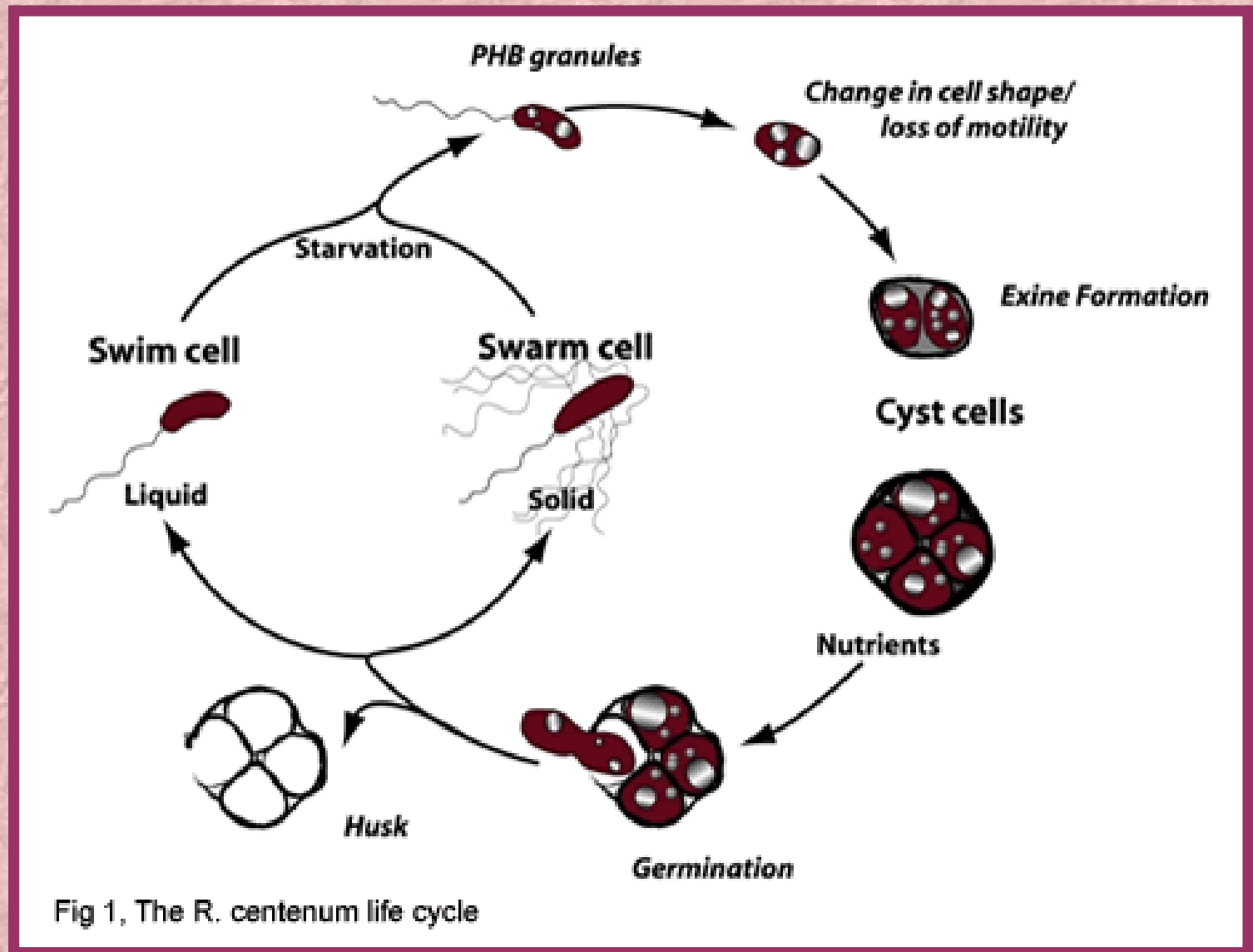


Fig 1, The *R. centenum* life cycle