



Bi6420

Ekotoxikologie mikroorganismů

RNDr. Jakub Hofman, Ph.D.

RECETOX, PřF MU

hofman@recetox.muni.cz

Doporučená literatura

Environmental Microbiology

Raina M. Maier, Ian L. Pepper, Charles P. Gerba
Hardcover: 608 pages ; Dimensions (in inches): 1.47 x 11.35 x 8.86
Publisher: Academic Press; ISBN: 0124975704; (February 23, 2000)

Microbial Ecology: Fundamentals and Applications (4th Edition)

by Ronald M. Atlas, Richard Bartha
Paperback: 306 pages
Publisher: Addison-Wesley Pub Co; ISBN: 0805306552; 4th edition (December 1997)

Soil Microbiology and Biochemistry

by Eldor Alvin Paul (Editor), F. E. Clark (Editor)
Hardcover: 340 pages
Publisher: Academic Press; ISBN: 0125468067; 2nd edition (January 15, 1996)

Soil Microbiology, 2nd Edition

by Robert L. Tate
Hardcover: 536 pages
Publisher: John Wiley & Sons; ISBN: 0471317918; 2 edition (January 2000)

Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry

by Kassem Alef (Editor), Paolo Nannipieri (Editor)
Paperback: 576 pages
Publisher: Academic Press; ISBN: 0125138407; 1st edition (January 15, 1995)

Techniques in Microbial Ecology

by Robert S. Burlage (Editor), Ron Atlas (Editor), David Stahl, Atlas Stahl Burlage, Ronald Atlas (Editor), Gill Geesey (Editor)
Paperback:
Publisher: Oxford University Press; ISBN: 0195092236; Spiral edition (March 1998)

Manual of Environmental Microbiology

by Christon J. Hurst (Editor), Ronald L. Crawford (Editor), Guy R. Knudsen
Hardcover: 1138 pages
Publisher: Amer Society for Microbiology; ISBN: 155581199X; 2nd edition (January 15, 2002)

Biodegradation and Bioremediation

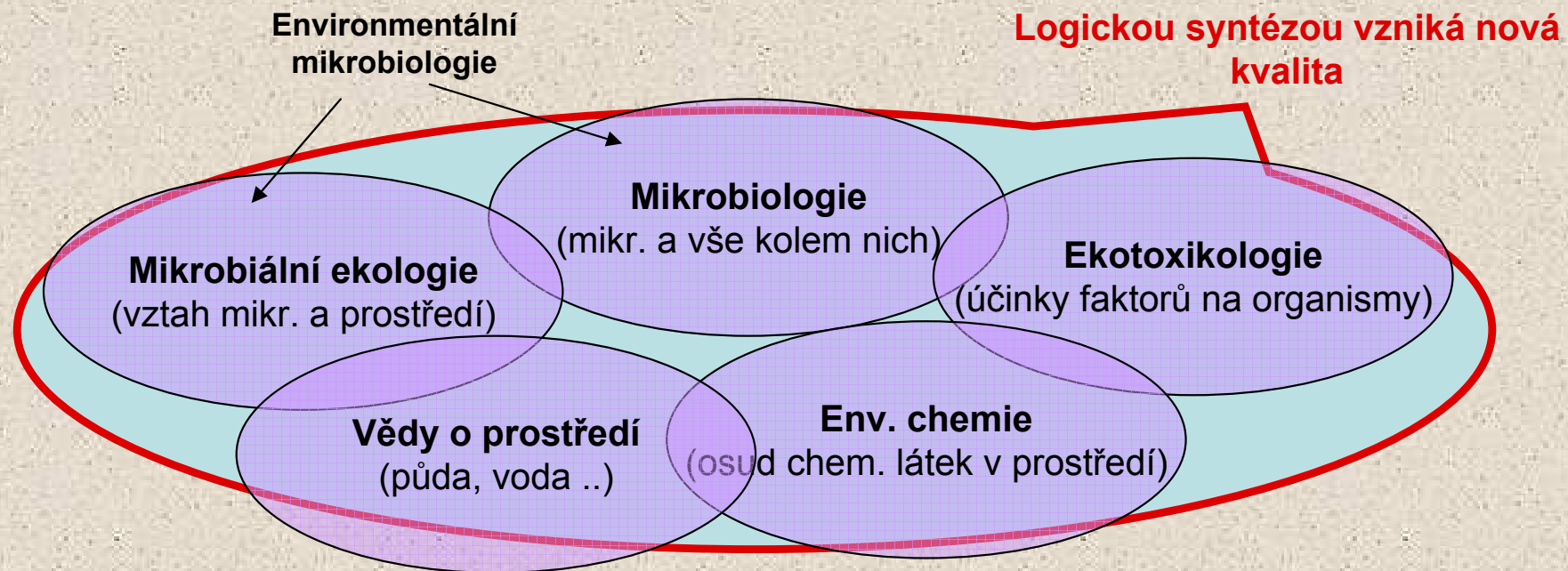
Alexander, M.
Academic Press, Inc, San Diego, CA. (1999)



Úvod

Úvod

- Mikrobiální ekotoxikologie je **průnik několika uznávaných oborů**
- Jejich znalost je **podkladem pro chápání** ekotoxikologie mikroorganismů a to jednak sledovaných parametrů a jednak vazeb mikroorganismů k prostředí a k chemickým látkám



Mikroorganismy jsou součástí prostředí

Mají - li být reakce mikroorganismů studovány v reálném prostředí,

NELZE

je chápat odděleně od vlastností a změn prostředí samotného

Naopak: variabilita vlivem faktorů prostředí často zastíní efekt chemických látek v prostředí.

Mikroorganismy jsou součástí prostředí a podílejí se na jeho vývoji.

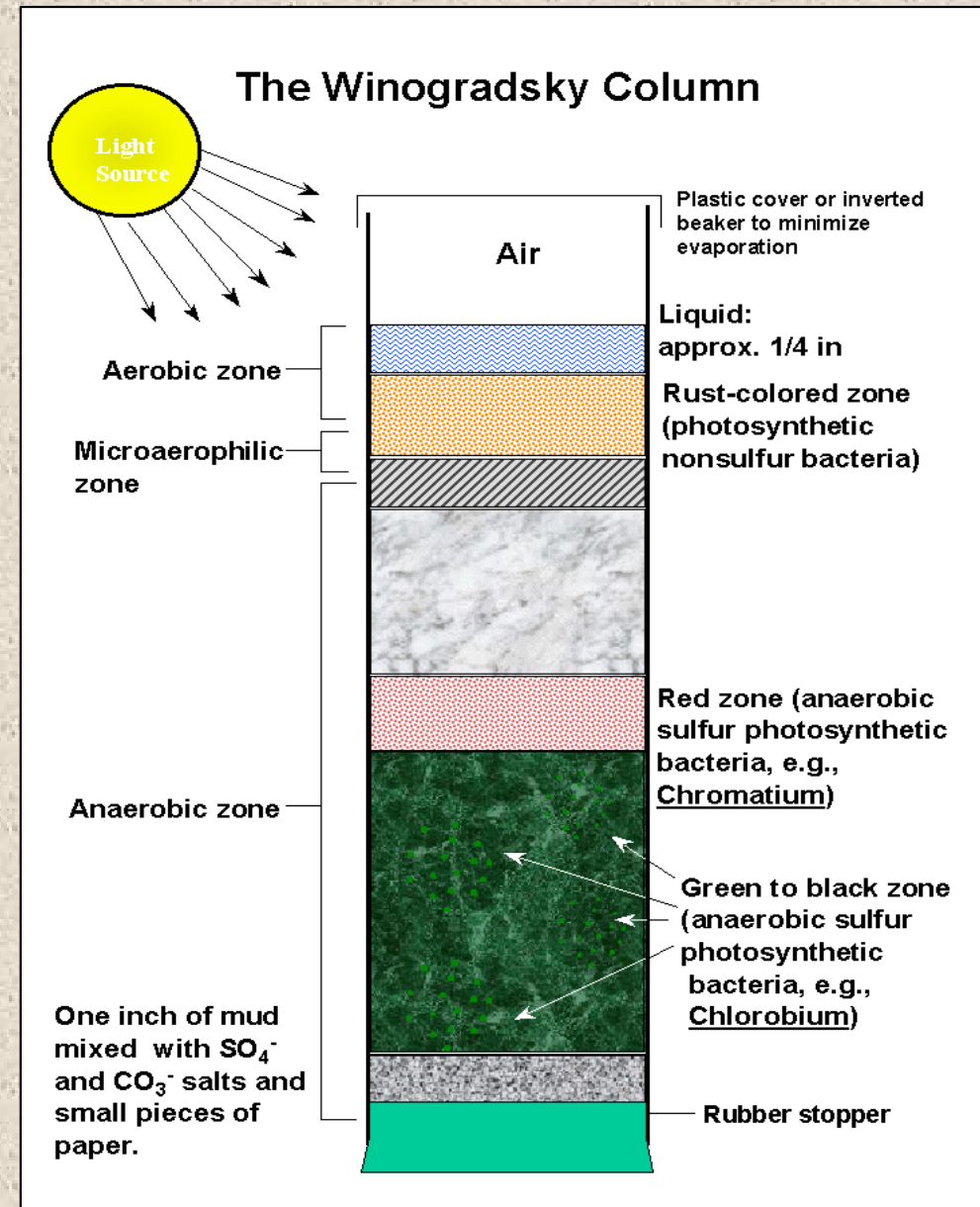
Proto je nutná znalost okolních faktorů prostředí.

Environmentální mikrobiologie

Vývoj mikrobiologie vs environmentální mikrobiologie

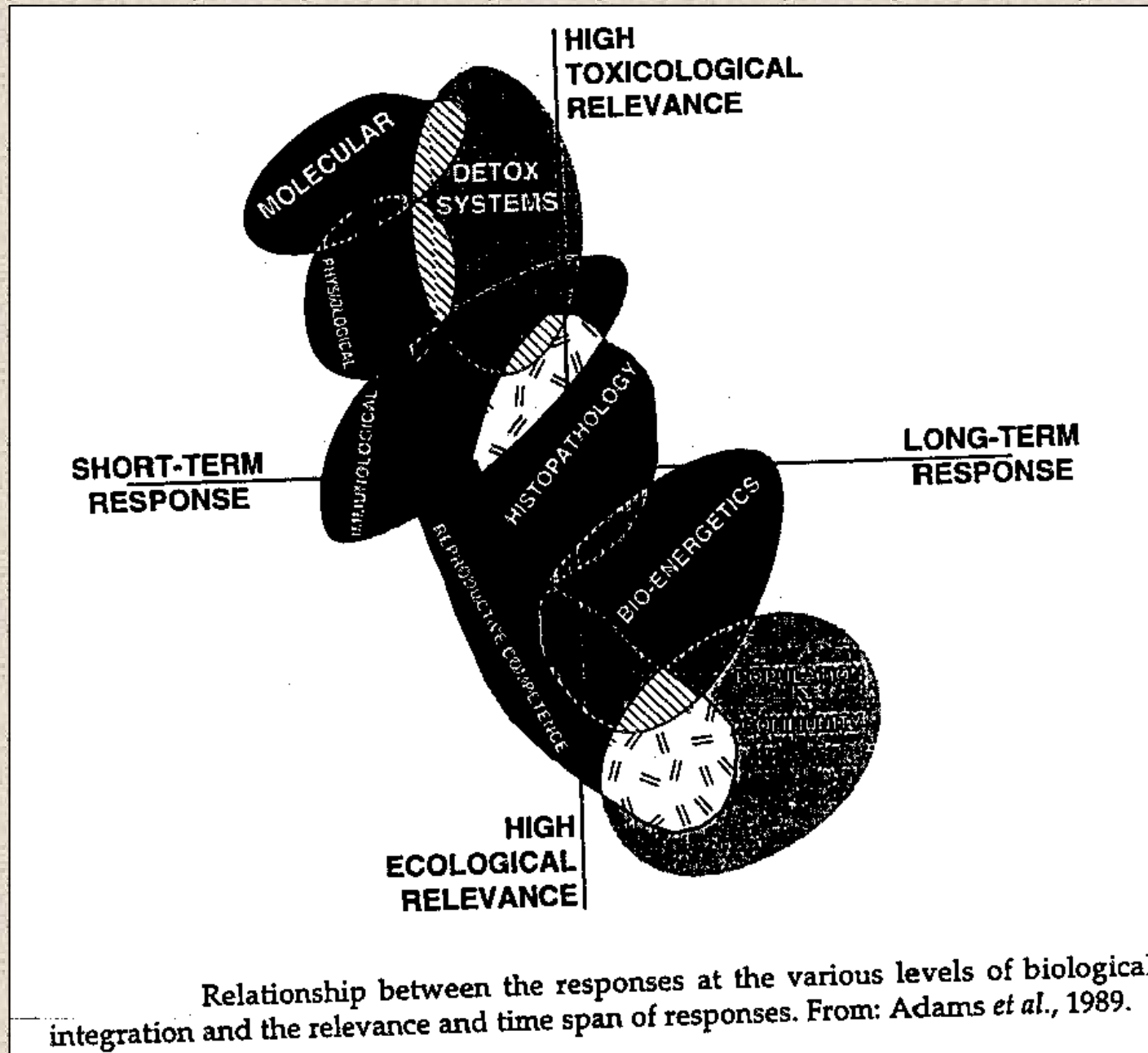
- mikrobiologie existuje už 300 let, mikrobiální ekologie ale až ve 20. století
- dlouho opomíjeny mikroorganismy jako složka ekosystému i přes jejich významné funkce
- důvod = "mikro" - nedostatek metod studia, nepostačující klasická ekologie; R. Koch založil techniky izolace a kultivace čistých kultur - dodnes se užívají; moderní techniky až v posledních 30 letech (např. PCR 1985)
- zlom na přelomu 20. století, uvědomění obrovského rozsahu aktivit mikroorganismů
- S. Winogradskij - sloupce víceméně uzavřený systém

mikrobiální ekologie, na rozdíl od makroekologie, se odehrává až na odběr vzorků v laboratoři, postupy jsou složitější

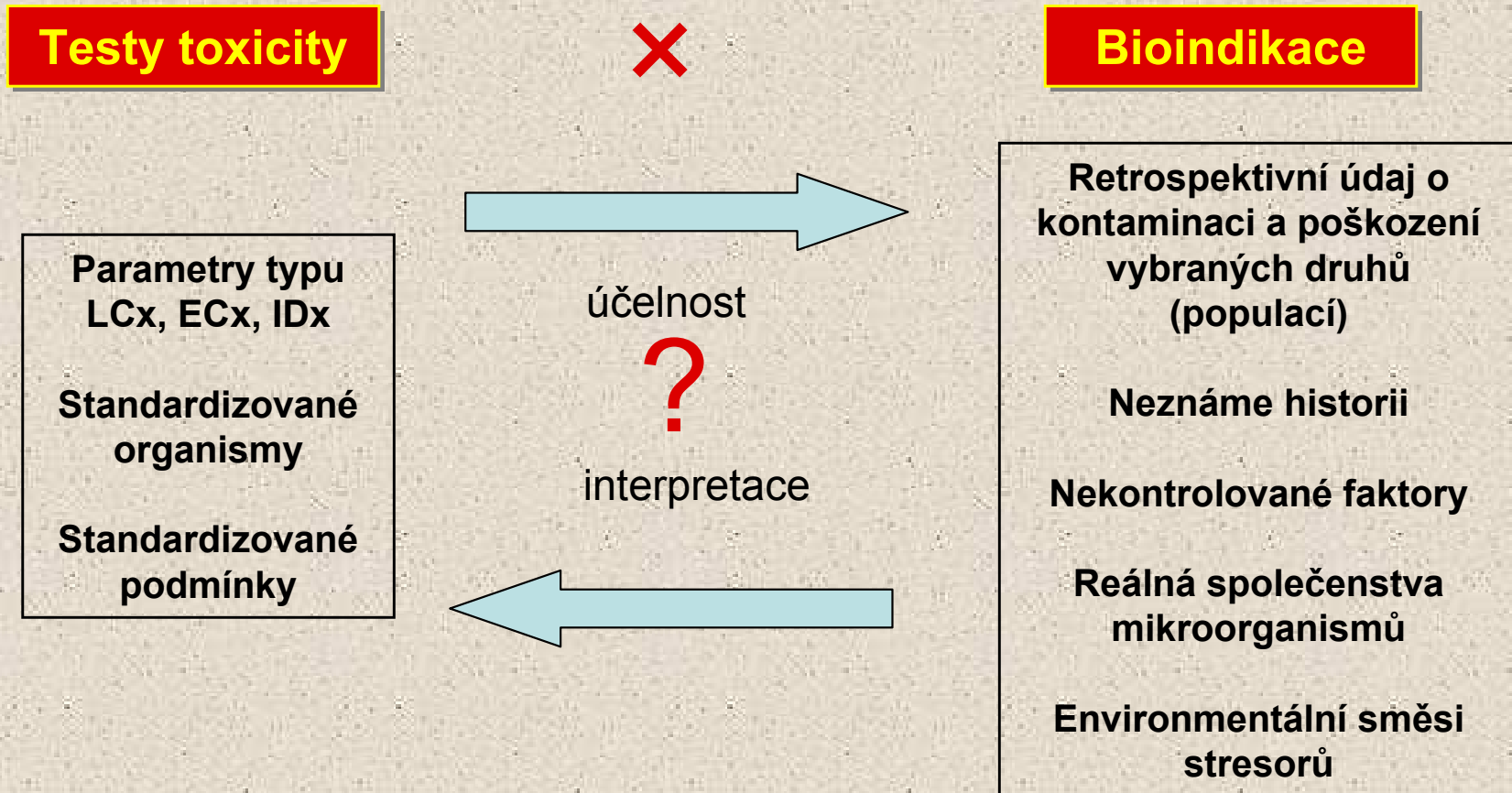


- **Mikrobiální ekotoxikologii lze rozdělit na několik dílčích znalostí:**
 - Mikroorganismy a faktory na ně působící v reálném prostředí
 - Testovací systémy využívající mikroorganismů
 - Aplikované obory - biodegradace, bioremediace, biotechnologie
- **Ekotoxikologicky relevantní jsou zejména následující vlastnosti mikroorganismů:**
 - Množství
 - Růst
 - Metabolické aktivity
 - Diverzita společenstev

ME – škála úrovní biologické integrace



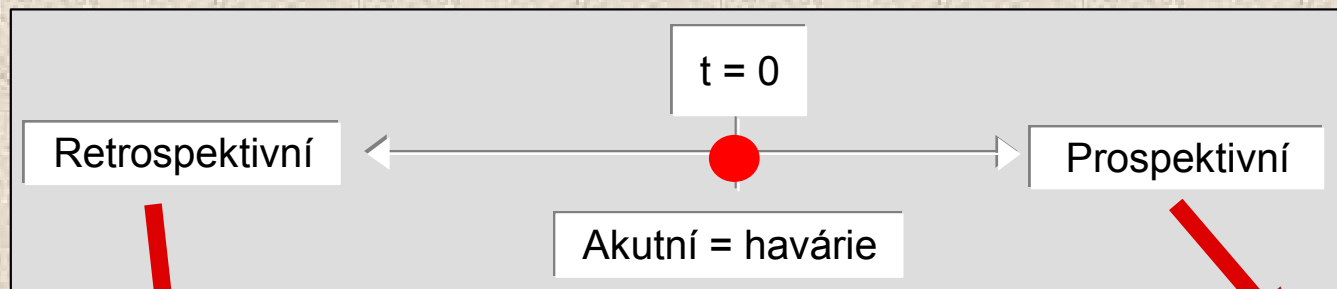
Přístupy mikrobiální ekotoxikologie



Každý metodický přístup má svá omezení a může být interpretován pouze s ohledem na svůj informační obsah a zaměření

Přístupy mikrobiální ekotoxikologie

Přístup k hodnocení ekologických účinků:



- hledáme kauzalitu
 - propojení mezi účinky a stresory
 - může dojít k prohození fází
- EcoRA

“Klasika”:

- vím co je stresor (komplex stresorů)
- od jednoduchého ke složitému dle:

		Zasažený biologický systém		
		Organismus (1 druh) [1]	Společenstvo (ekosystém) [2]	Krajina (region) [3]
Kontaminant	Jeden faktor [1]	11	12	13
	Definovaná směs (kombinace) [2]	21	22	23
	Neurčitá kombinace [3]	31	32	33

Roste neurčitost, složitost a náklady
Klesá možnost exaktních testů
Narůstá nutnost expertních posudků

I. Terénní studie - mikroorganismy jako bioindikátory

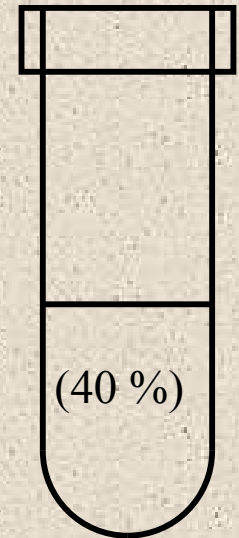
- jsou velmi **smysluplné** vzhledem k zapojení v cyklech živin a v biotransformacích a biodegradacích
- jsou velmi **pragmatické** díky existenci rychlých a jednoduchých testů
- umožňují dobré **modelování** a extrapolace na vyšší organismy a jiné chemické látky
- jsou **podstatné** z hlediska celého ekosystému - stojí na nižších trofických úrovních a fungují jako „**early warning**“
- jsou **moderní**, neboť využívají nejnovější metody (molekulární techniky apod.)

II. Testy (eko)toxicity - pozitiva

BIOTA
mikroorganismus(y)

+

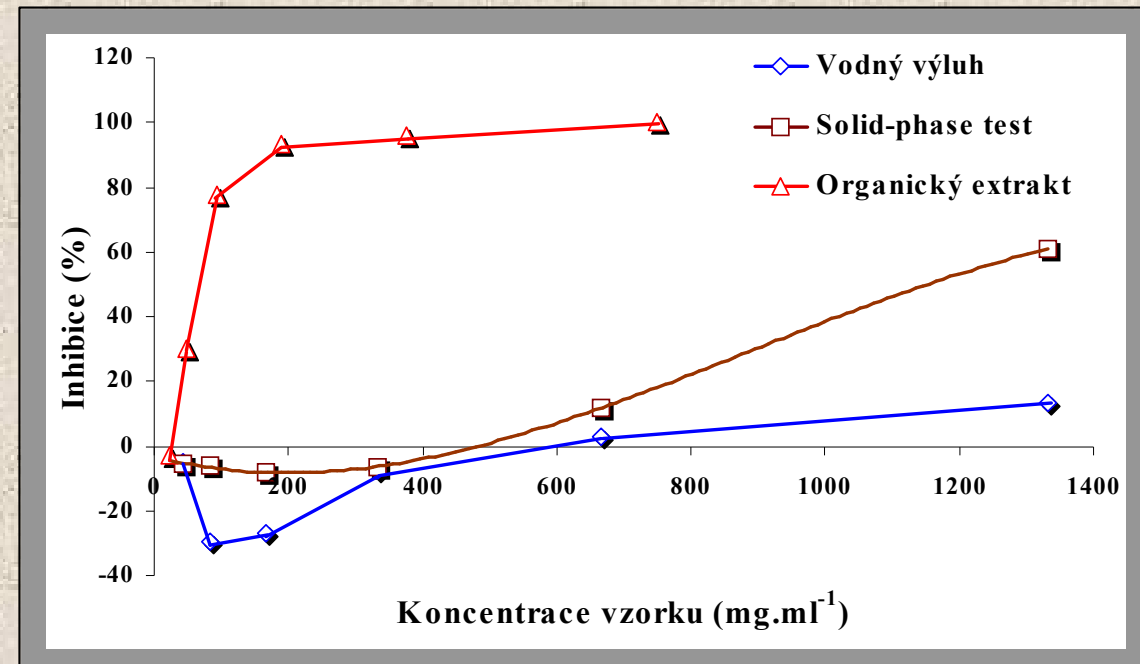
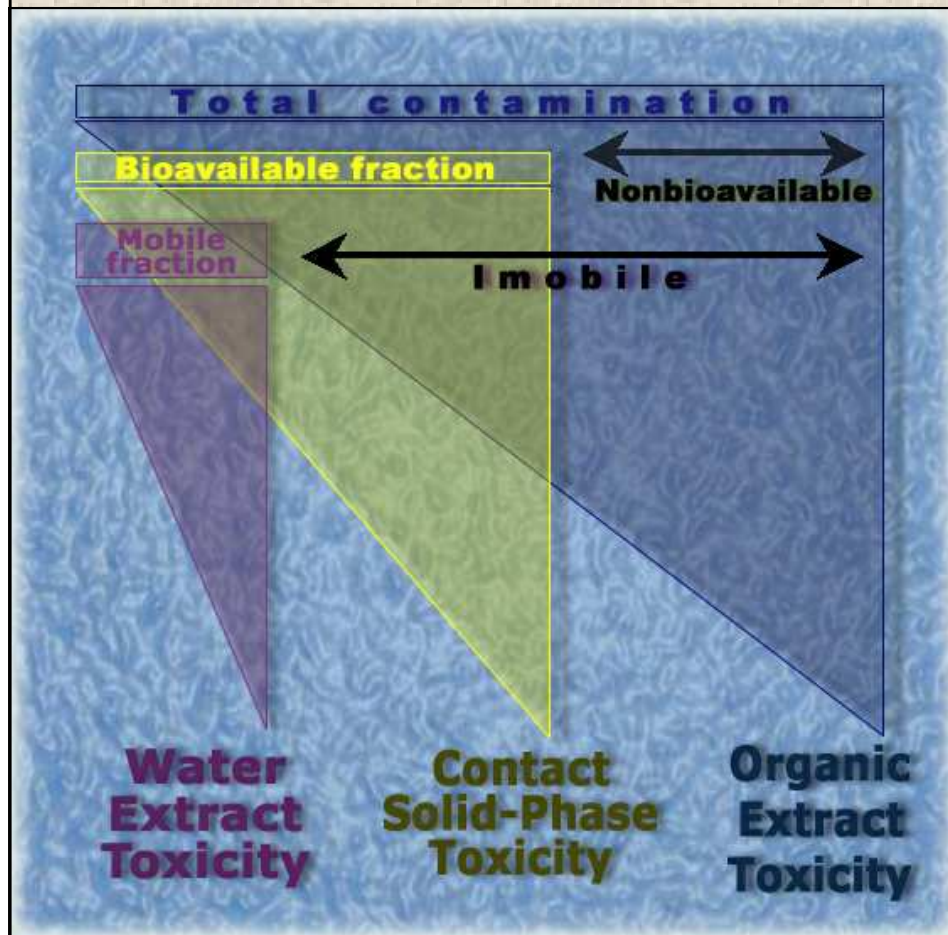
KONTAMINANT
↗ čistá látka(y)
↘ vzorek z ŽP



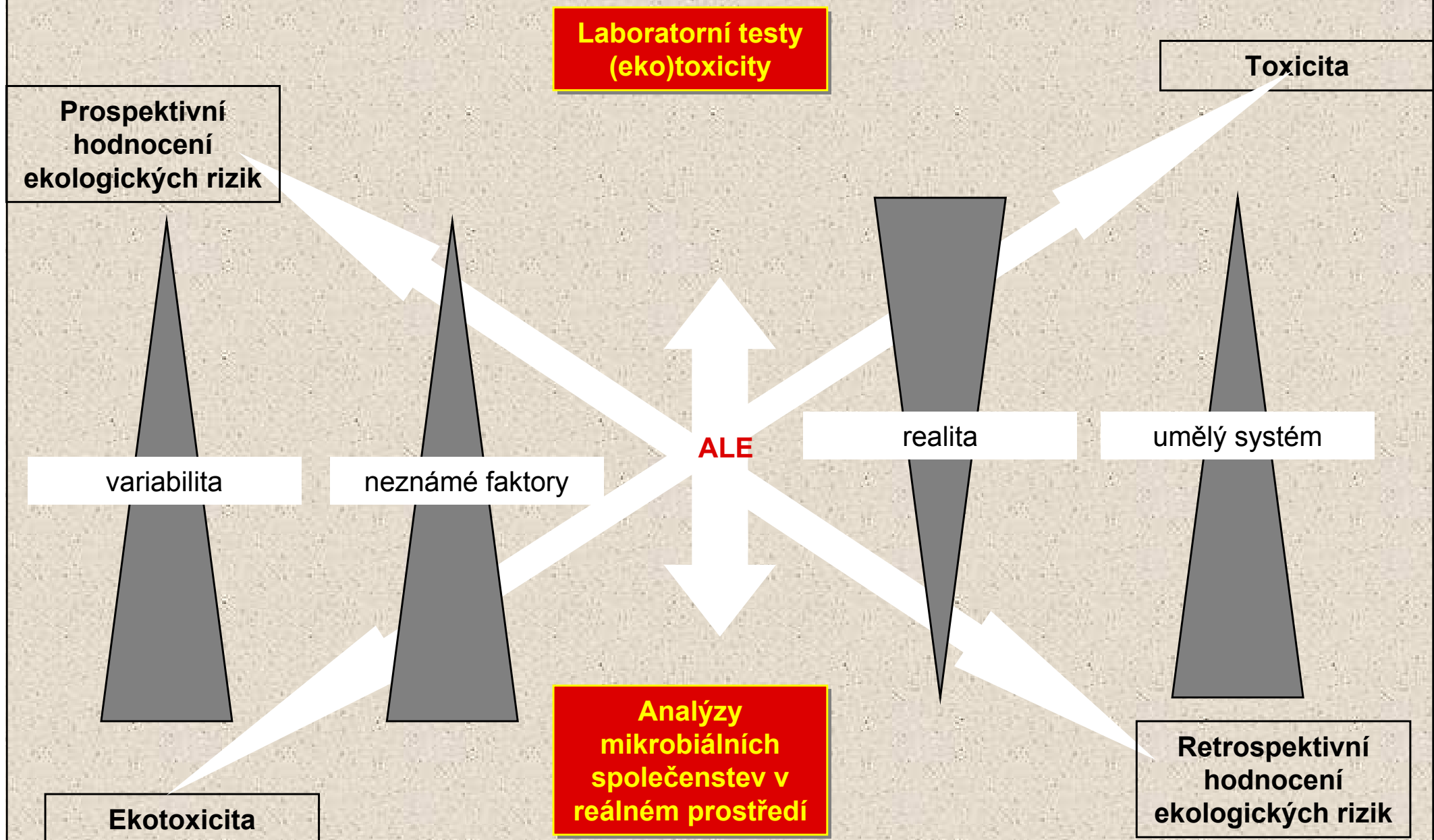
- testy jsou prováděny v adekvátní ředící řadě
- biologický materiál jen ve stejné kvalitě
- standardní podmínky testu
- výstupy NOEC, LOEC, LC₅₀, EC₅₀, IC₅₀ ...

II. Testy (eko)toxicity - problémy

U pevných matric je důležité hledisko, zda pracovat s extraktem z prostředí či s pevnou matricí.



Přístupy k ME výzkumu vs hodnocení ER



ZÁVĚR

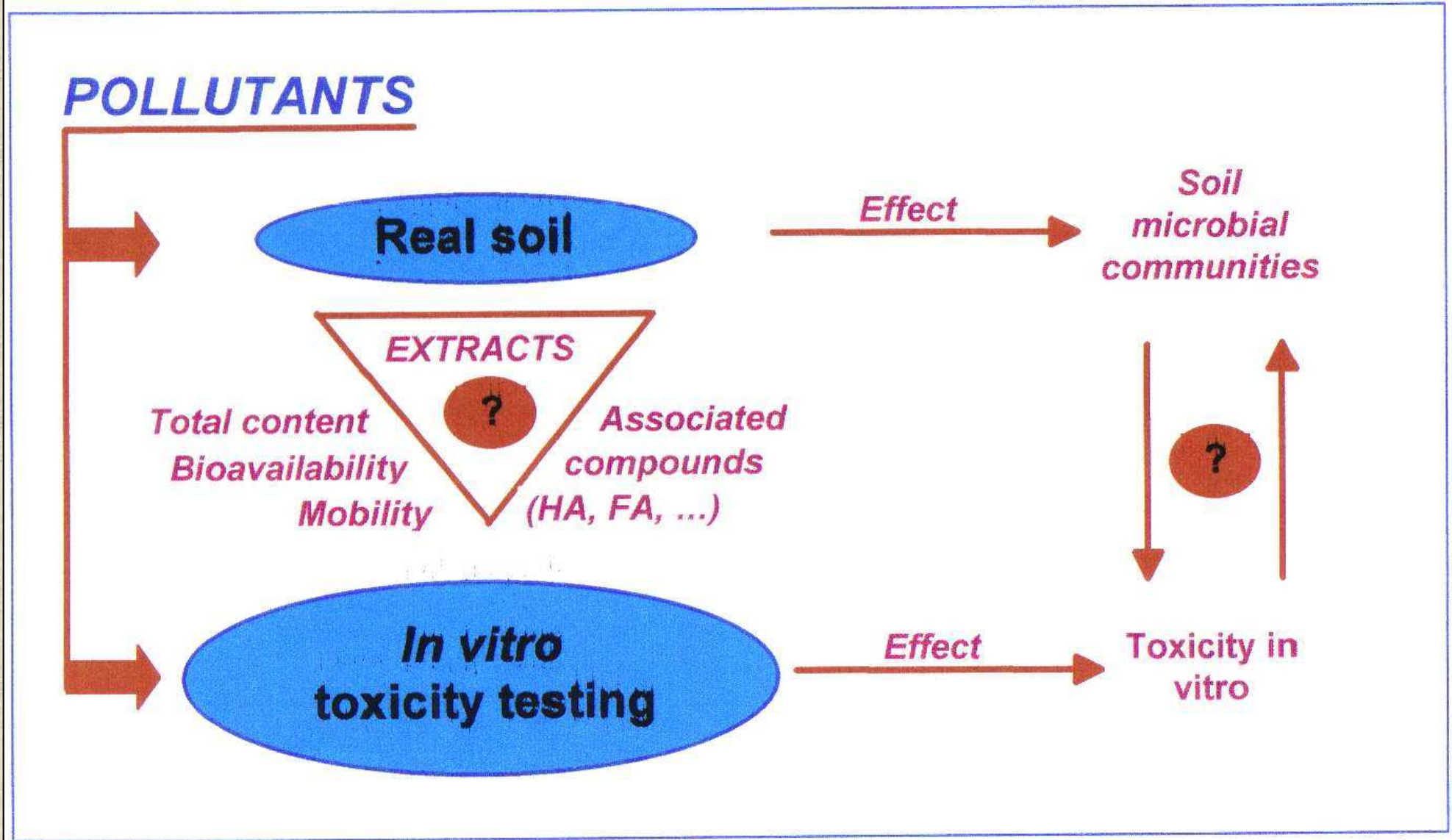
**nutnost optimálního kompromisu
mezi laboratorními testy a terénními
studiemi**

NAVÍC:

možnost oba přístupy kombinovat!

Umožňuje kombinace přístupů

MOTTO: Reliable risk assessment focused on real soil environment requires combination of different approaches



Příklad studie: Effects of Road Deicing Salts on Soil Microorganisms

- 3 místa v KRNAP intenzivní solení
- Sledován efekt na mikroorganismy

Table 1: Physical-chemical characteristics of the studied soils

Transect points	pH (H ₂ O)	C _{org} (%)	BS ^a (%)	CEC ^b (me/100g)	E.C. ^c (μS/cm)	Ex.Ac. ^d (me/100g)	Cd total extraction (mg/kg)	Zn total extraction (mg/kg)	water extraction (mg/kg _{dw})				0,1 M BaCl ₂ extraction (mg/kg _{dw})			
									Ca ²⁺	Na ⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	Ca	K	Mg	Na
A control	3.78	12.00	21.4	10.5	71	8.24	0.35	49.9	31	11.9	10.1	41	331	53.1	46	17.2
A 1 m	7.63*	4.52*	99.3*	19.0*	64	0.14*	0.35	201.0*	18*	74.3*	4.7*	15*	2910*	76.8	379*	239.0*
A 10 m	5.00	11.90	94.5*	20.8*	62	1.14*	0.82*	108.0*	32	20.3	18.3*	35	3180*	180.0*	400*	40.0
A 30 m	4.10	22.50*	61.4*	21.4*	119*	8.25	1.08*	72.2*	32	20.2	-	74*	2000*	190.0*	303*	44.0
B control	3.89	5.57	13.6	9.4	55	8.15	0.35	65.7	22	5.3	4.2	43	152	65.8	40	6.8
B 1 m	7.70*	7.35	99.4*	18.9*	96*	0.11*	0.35	180.0*	12*	104.0*	4.2	27*	2380*	139.0*	297*	951.0*
B 10 m	5.50*	10.80*	92.5*	17.3*	104*	1.29*	0.35	90.2*	20	97.0*	20.0*	58*	2210*	125.0*	262*	577.0*
B 30 m	3.97	20.80*	63.2*	15.0*	68	5.52*	0.79*	42.6*	23	7.8	16.7*	28*	1580*	62.7	180*	17.3
C control	3.94	9.83	10.8	9.5	49	8.51	0.35	14.8	17	8.0	14.5	50	138	33.4	25	11.4
C 1 m	8.13*	4.43*	99.2*	12.6*	85*	0.10*	0.35	59.7*	8*	102.0*	3.5*	15*	1220*	25.2	152*	1180.0*
C 10 m	4.33	4.64*	17.6	5.6*	43	4.58*	0.35	10.5	12*	23.3*	20.0	15*	94	61.6*	24	35.8
C 30 m	4.72	5.64*	42.6*	6.2*	93*	3.54*	0.35	19.4	14	59.0*	73.0*	39*	339	22.8	50	107.0

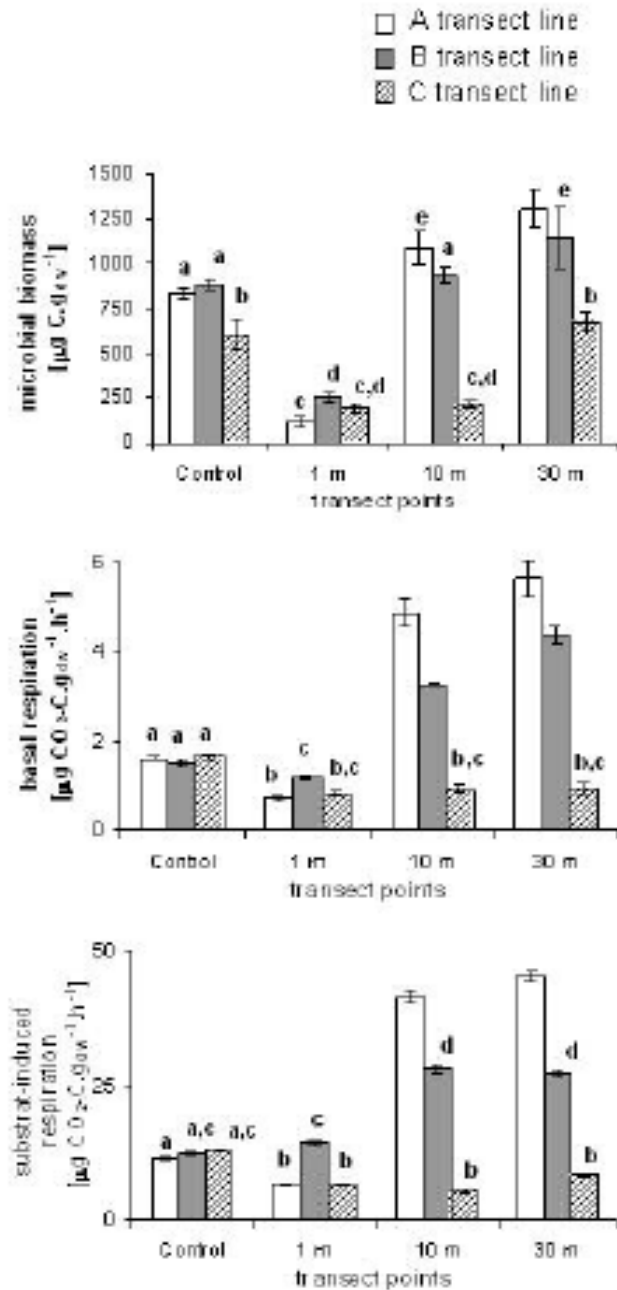
^aBase saturation, ^bcation exchange capacity, ^celectric conductivity at 25 °C, ^dexchangeable acidity.

Asterisk marks statistically significant difference (p<0.05) from the control point of each transect.

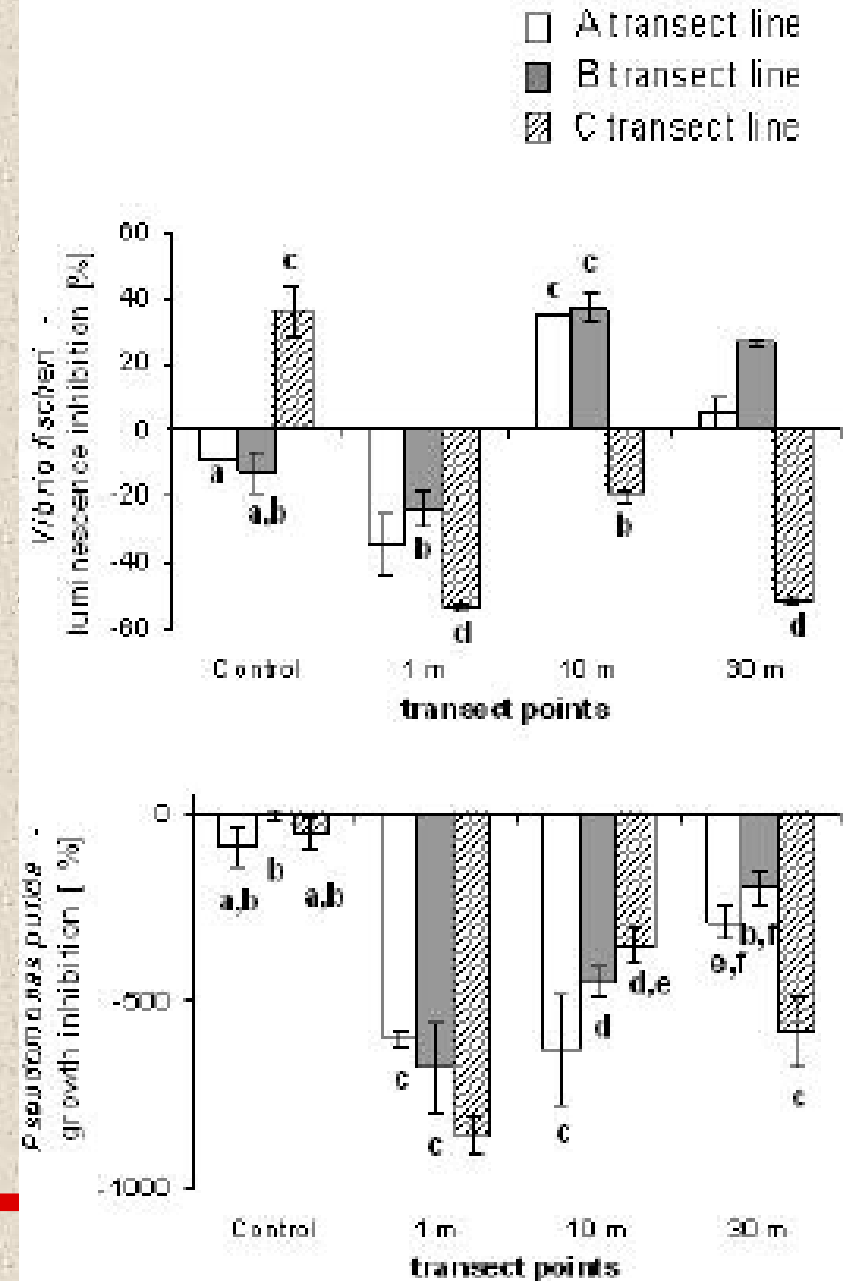
Příklad studie: Effects of Road Deicing Salts on Soil Microorganisms

Reálné společenstvo mikroorganismů

Testy toxicity s bakteriemi



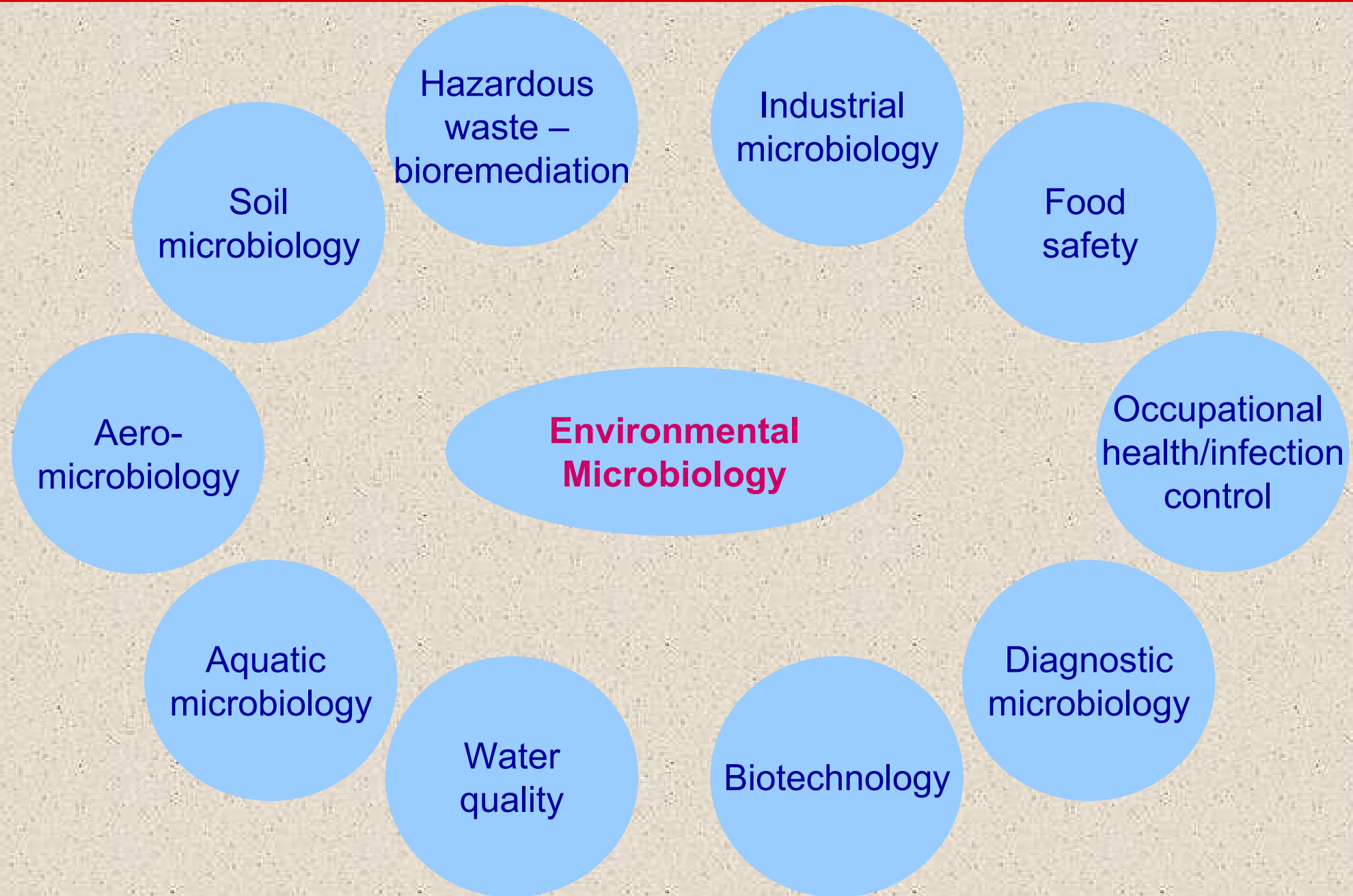
versus



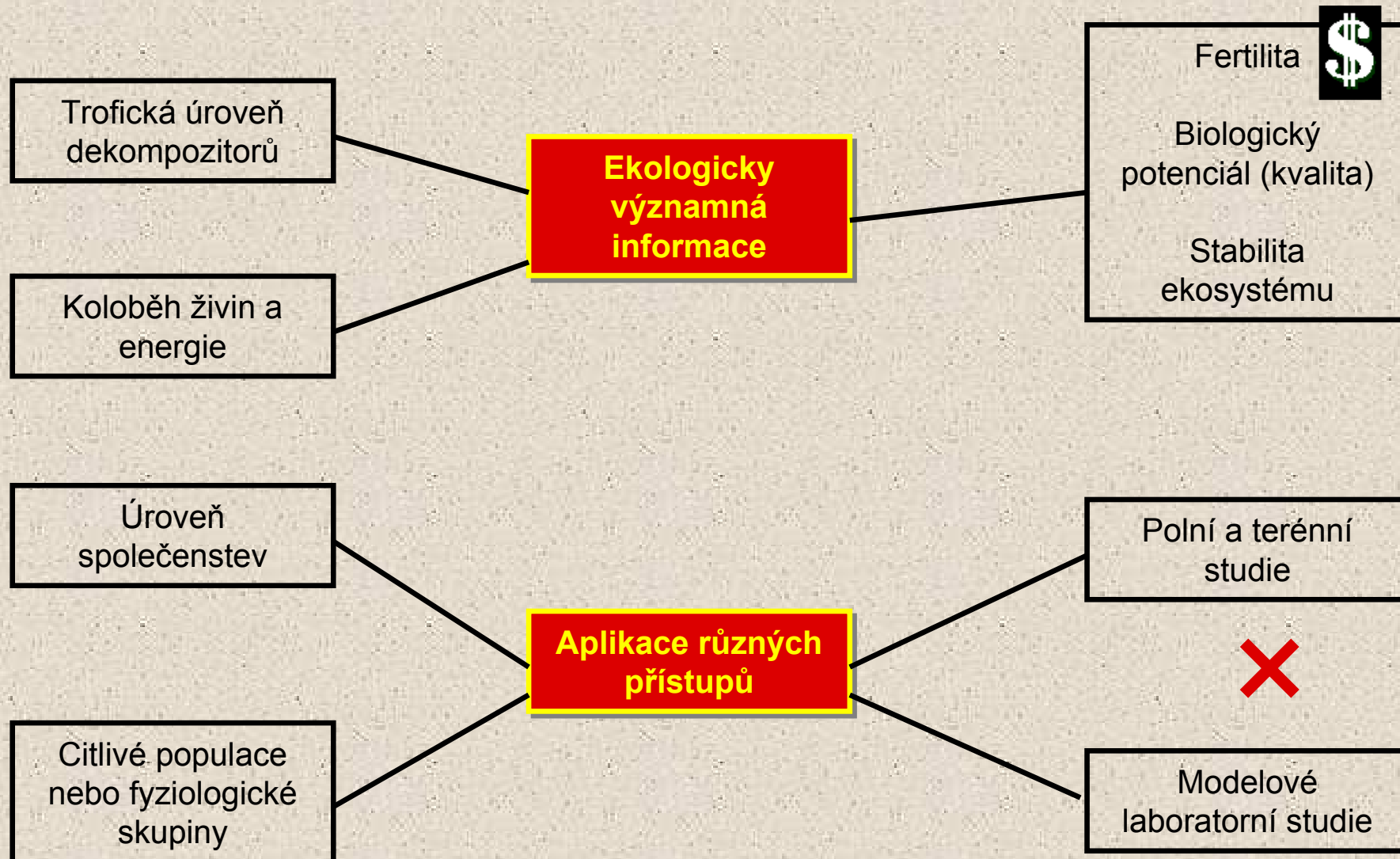


Význam mikrobiální ekotoxikologie

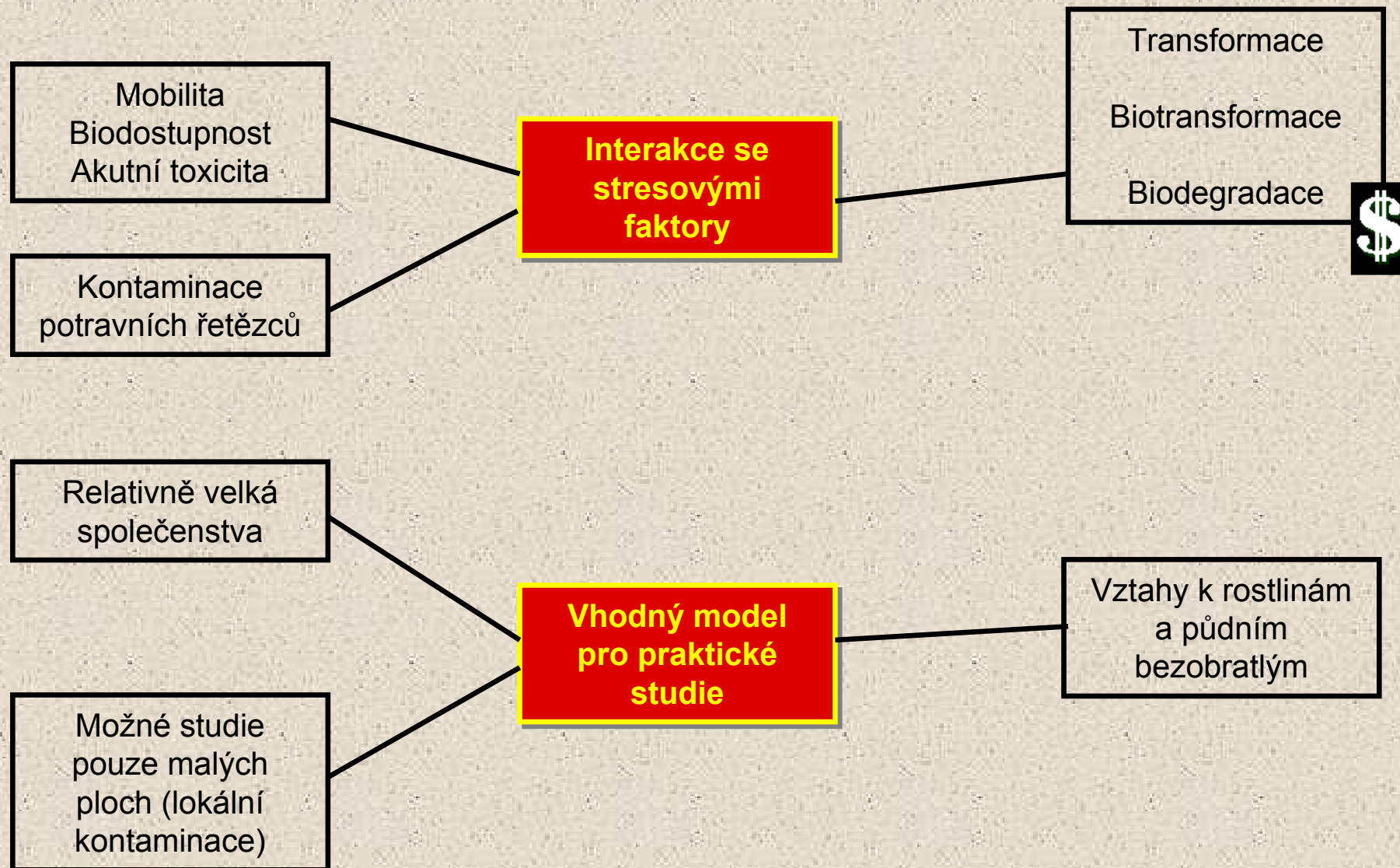
Environmentální mikrobiologie a její aplikace



Proč ME v hodnocení ekologických rizik ?



Proč ME v hodnocení ekologických rizik ?





Mikroorganismy

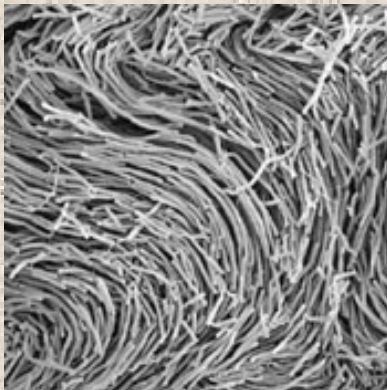
Co jsou mikroorganismy

- primárně jednobuněčné organismy (pseudovícebuněčné - vlákna, hyfy)
- nemusí ale nutně mít nejjednodušší typ buňky! (např. nálevník)
- **prokaryota:** bakterie a aktinomycéty (eubakterie, archaebakterie a sinice)
- **eukaryota:** zelené řasy, houby, prvoci

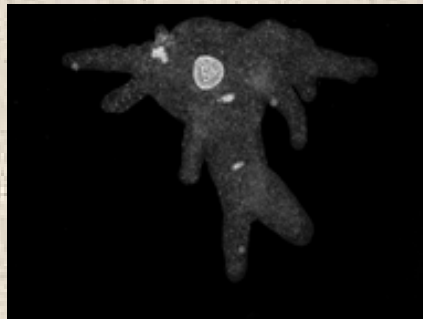
Soil microbiology movies:

<http://www.agron.iastate.edu/~loynachan/mov/>

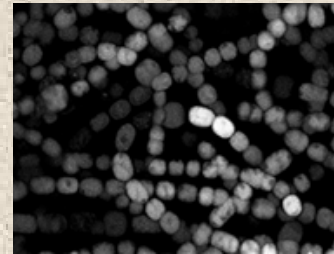
Bacillus cereus



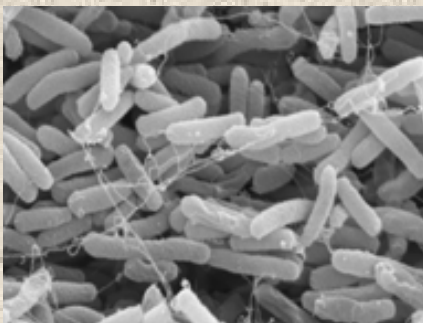
Amoeba proteus



sinice Anabaena



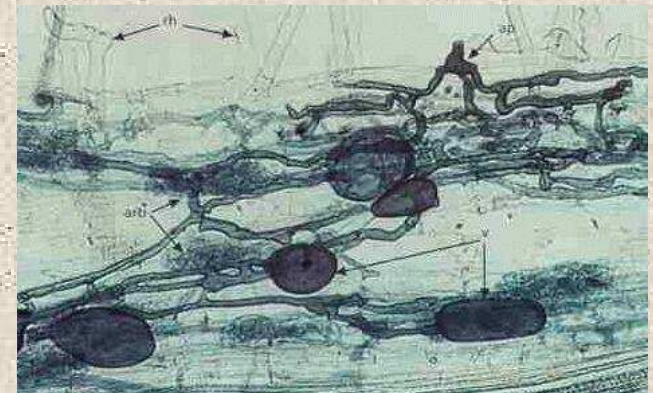
Escherichia coli



rozsivka



mykorrhzyza (houba a jetel)



Aktinomycéty

- vláknité grampozitivní bakterie
- hyfy - 2 μm průřez \times 10 - 50 μm průřez u hub)
- velmi časté v půdách (zejména vyšší pH a sušších)
- způsobují charakteristický půdní odor
- velmi významné při produkci léků, antibiotik

Význam bakterií

- **cykly prvků a látek**
- **fixace dusíku**
- **dekompozice**
- **symbiózy**
- **patogenní**

Význam hub

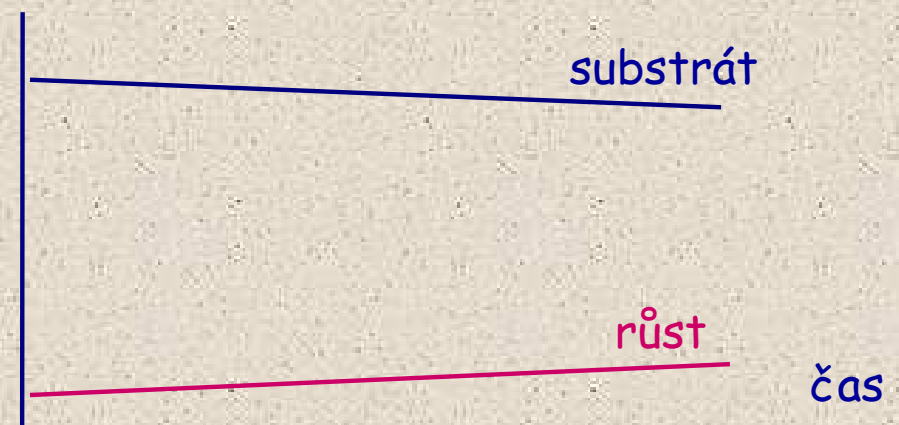
- **symbiotické**
- **patogenní**
- **dekompozice (nabourání komplexů ligninu a humusových látek)**
- **vyšší tolerance k pH než bakterie (v nižších pH dominují houby)**

Význam prvoků

- **potravní řetězce (predátoři + konzumenti + destruenti + producenti)**
- **konzumují bakterie – podporují jejich růst**
- **dekompozice OM**
- **fagotrofie a heterotrofie – cykly látek, uvolnění látek z bakteriální biomasy**
- **autotrofie – řasy - producenti**

Ekologická klasifikace mikroorganismů

- **Autochthonní**
 - přirozeně se vyskytující
 - přežívají, rostou a jsou aktivní
 - obsazují ekologické niky
 - podle fyz-chem vlastností jsou obsazeny kompatibilní fyziologií
 - kompetice
 - nízké ale konstantní aktivity



Ekologická klasifikace mikroorganismů

- Zymogenní
 - přirozeně se vyskytující
 - periodická aktivita

substrát



růst

čas

Ekologická klasifikace mikroorganismů

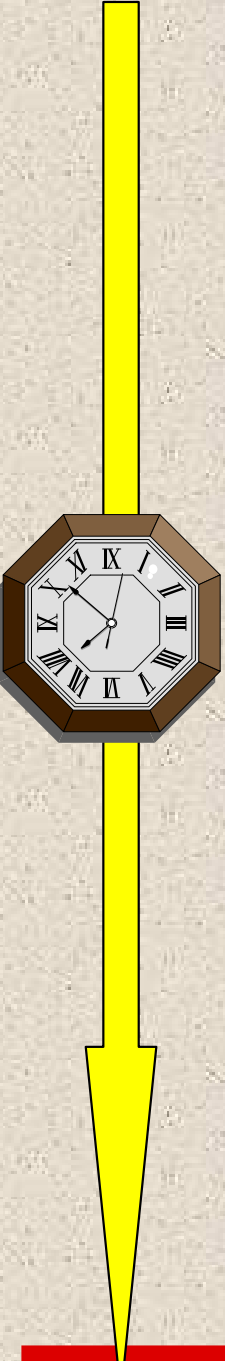
- **Allochthonní**
 - cizí
 - přechodné, nestálé
 - žádná funkční nika

 - do ekosystému vnesené
 - např. *E. coli*

Evoluce mikroorganismů

- existují už 3,5 miliard let (pro srovnání: vícebuněčné organismy „jen“ 0,6 mld let)
- evoluce všech základních biochemických mechanismů byla „složitější“ (tím pádem i delší) než evoluce všech forem života, jak je známe dnes
- ještě před rožštěpením na další větve již muselo existovat:
 - DNA - nese dědičnou informaci
 - RNA
 - ATP - nosič energie
 - H⁺ transportní systémy
 - glykolýza
 - cyklus trikarboxylové kyseliny
 - fotosyntéza
 - fixace CO₂

Fyziologická evoluce

- 
- metanogenní archaebakterie
 - glykolýza, kvašení
 - aerobní respirace využívající S a produkující H_2S
 - fotosyntéza - fotosystém II
 - sinice - fotosyntéza - fotosystém I
- } H_2S je donor elektronů
- fotosyntéza s vodou jako donorem elektronů (cca 2 - 2,5 mld let)
 - O_2 je stále toxický pro většinu bakterií
 - vznik kyslíkové atmosféry => snížení UV 200 nm => snížení abiotické syntézy organických látek => vznik potravních sítí
 - vznik fixace N_2 (nutná ochrana enzymu nitrogenázy před O_2)
 - procesy oxidace - chemoautotrofie - oxidace anorganických látek
 - procesy oxidace - heterotrofie - oxidace organických látek

Výhody mikroorganismů v evoluci

- Beijerinck: "Everything is everywhere, the environment selects"
- mnohem kratší generační doba (30 min) než u vyšších organismů → změny v genetické informaci se mohou velmi rychle uchytit a rozšířit (příklad - mikrobiální resistance vůči antibiotikům) → obrovská přizpůsobivost
- genetická variabilita je základ evoluce - u prokaryot jsou zodpovědné zejména mutace (hlavně vliv prostředí - tzv. periodická selekce), kdežto u eukaryot jsou to rekombinace (menší vliv prostředí)
- víceméně všude nějaká forma sexuálního procesu: konjugace, spájení apod. → výměna DNA

Evoluce Eukaryot

- cca před 2 mld let
- spojovací články byly Archaeozoa - některé znaky bct (chybí mitochondrie, mají 70S ribozómy, nemají Golgiho aparát)
- prvoci se objevují jako první eukaryota (bičík 9+2, fagocytóza atd. atd. ...) a „nejmladší“ jsou bičíkovci
- následují chromista (rozsivky a ruduchy) a zelené řasy
- houby, živočichové a rostliny
- houby před 400 mil let z prvoků (chitin v buň. stěně) - „nejmodernější“ mikroorganismy
- kvasinky jako jednobuněčné organismy až druhotně

Endosymbiotická teorie

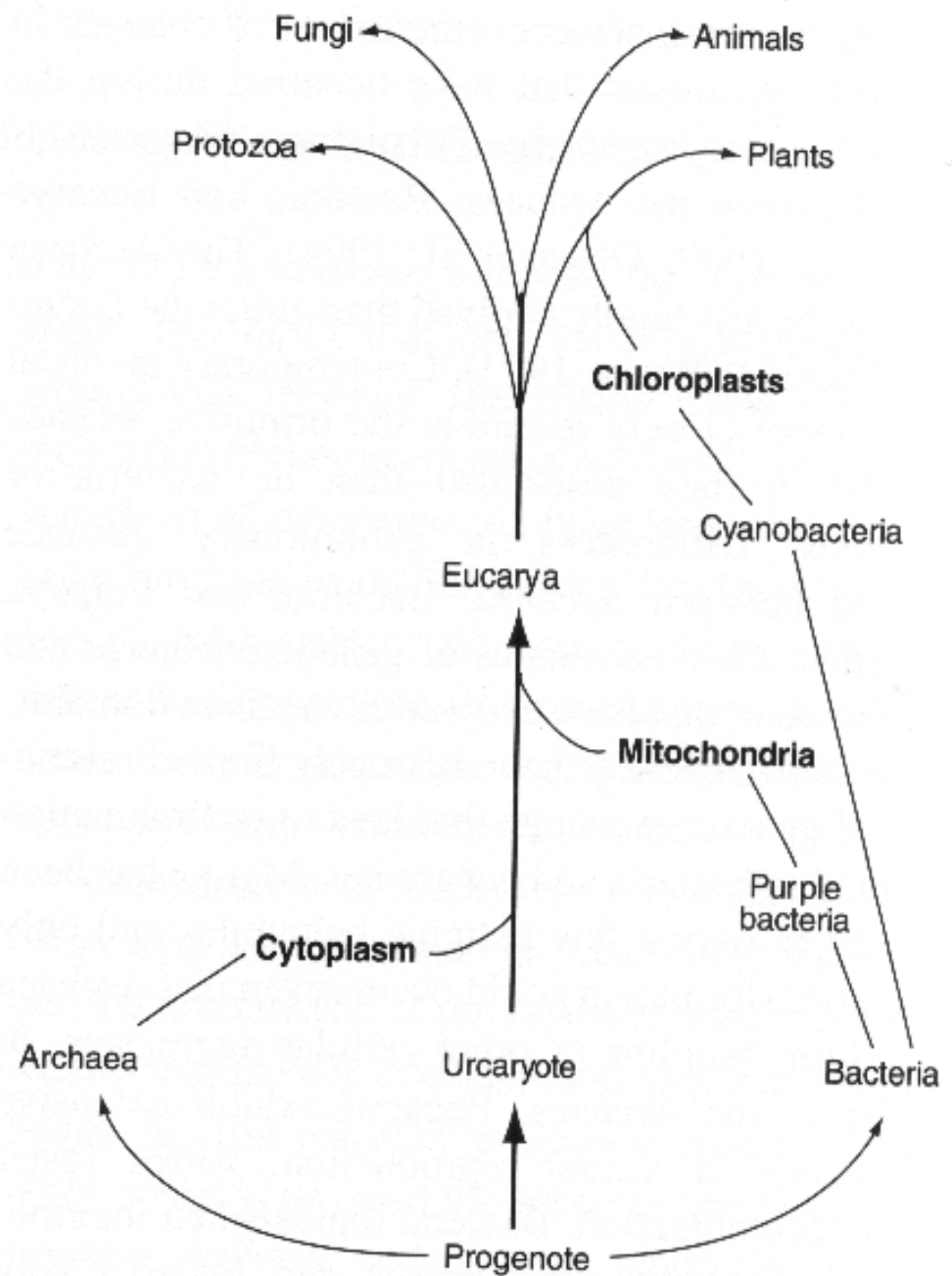


Figure 2.4

The evolution of the Eucarya, involving acquisition of cytoplasm and organelles from Bacteria and Archaea (Source: Woese et al. 1990.)

Moderní rozdělení – 3 skupiny

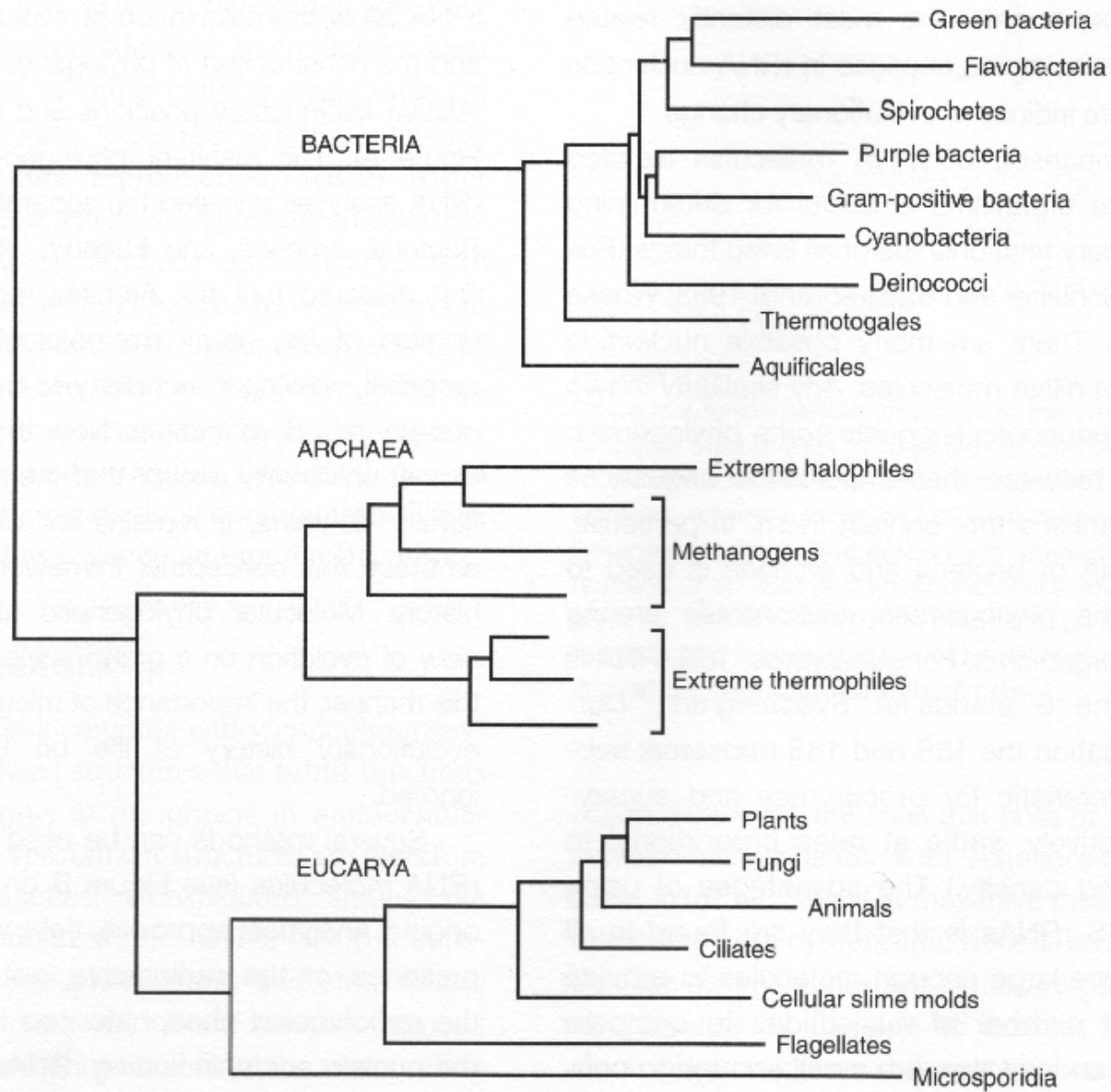


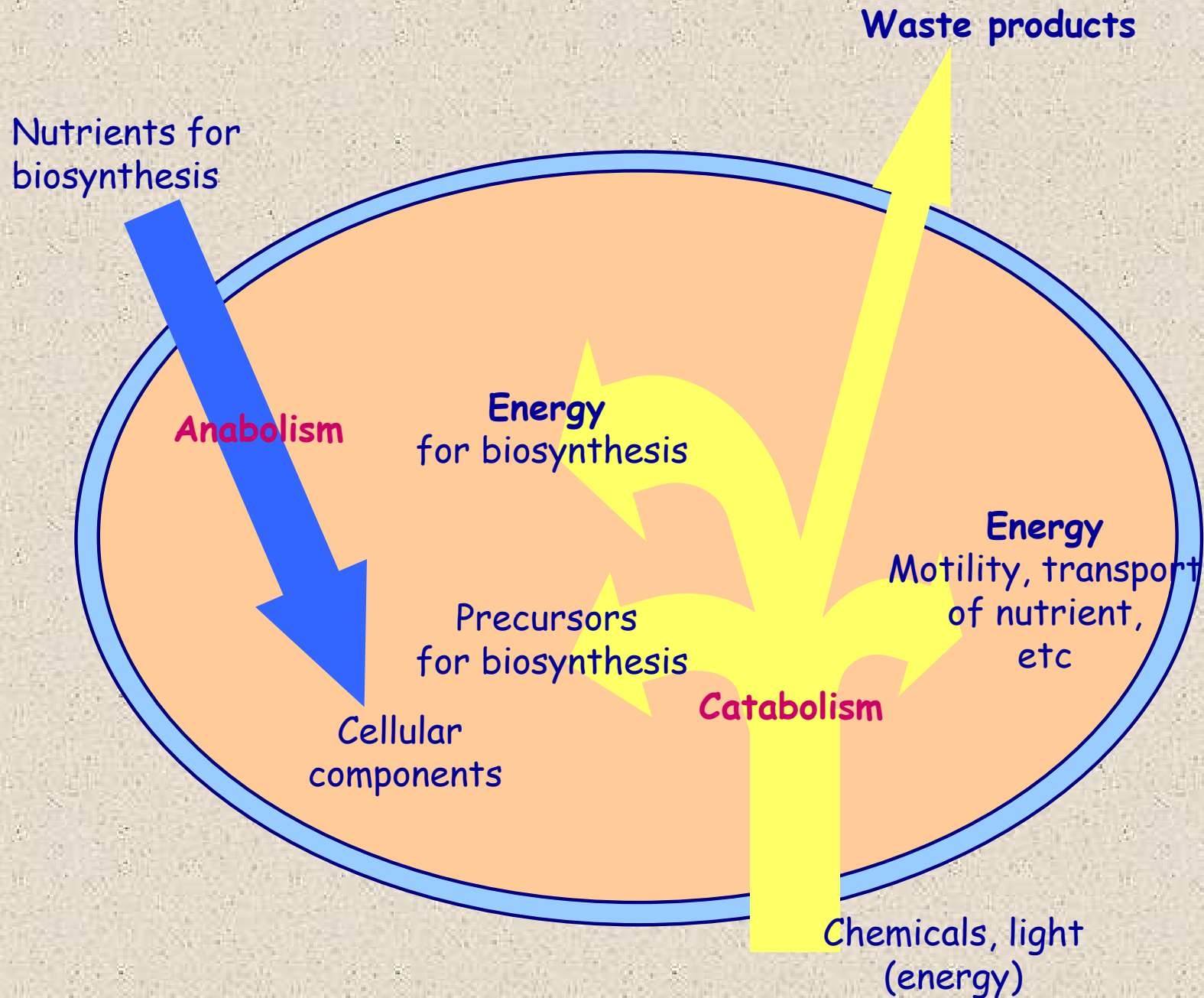
Figure A

The three domains of life (Bacteria, Archaea, and Eucarya) and the major evolutionary lines of descent within those domains. (Source: Based on Woese et al. 1992.)



Biochemie a metabolismus mikroorganismů

Metabolismus mikrobiálních buněk obecně



Autotrofie

Všechny buněčné složky syntetizují z anorganických látek (H_2O , CO_2 , NH_3 a H_2S).

1) Fotoautotrofie (fotolitotrofie)

- zdroj E je světlo, fotosyntéza, Calvinův cyklus fixace CO_2
- bct. mají bakteriochlorofyl a zdroj H a e- je H_2S či H_2
- sinice + rostliny mají chlorofyl a zdrojem H a e- je H_2O

2) Chemoautotrofie (chemolithotrofie)

- pouze u některých bakterií - energie z oxidace anorganických látek (H_2 , S, Fe^{II} , Mn^{II} , NO_2^- , NH_4^+ , H_2S , CH_4 , CS_2 , CHOH atd.) molekulovým kyslíkem - striktně aerobní
- velmi malá energetická účinnost (jen 8% celkové energie) - evolučně nevýhodné, citlivé vůči stresu
- CO_2 je zdroj uhlíku

Heterotrofie

- potřebují organické látky, které nejsou schopni syntetizovat

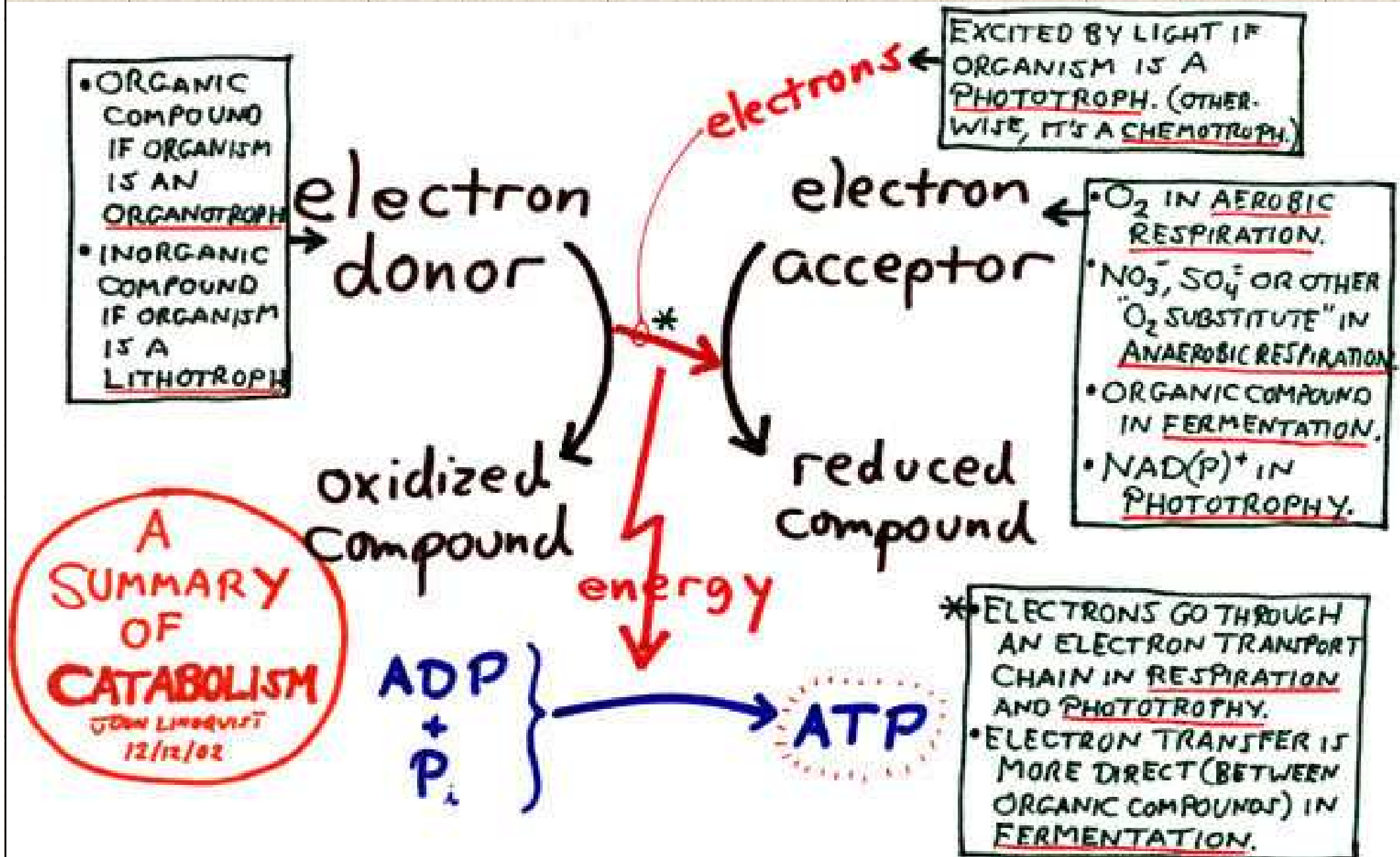
1) Fotoorganotrofie

- zdroj energie je světlo, ale zdroj uhlíku není CO_2 ale acetát, pyruvát, fumarát apod., které slouží také jako donor vodíku

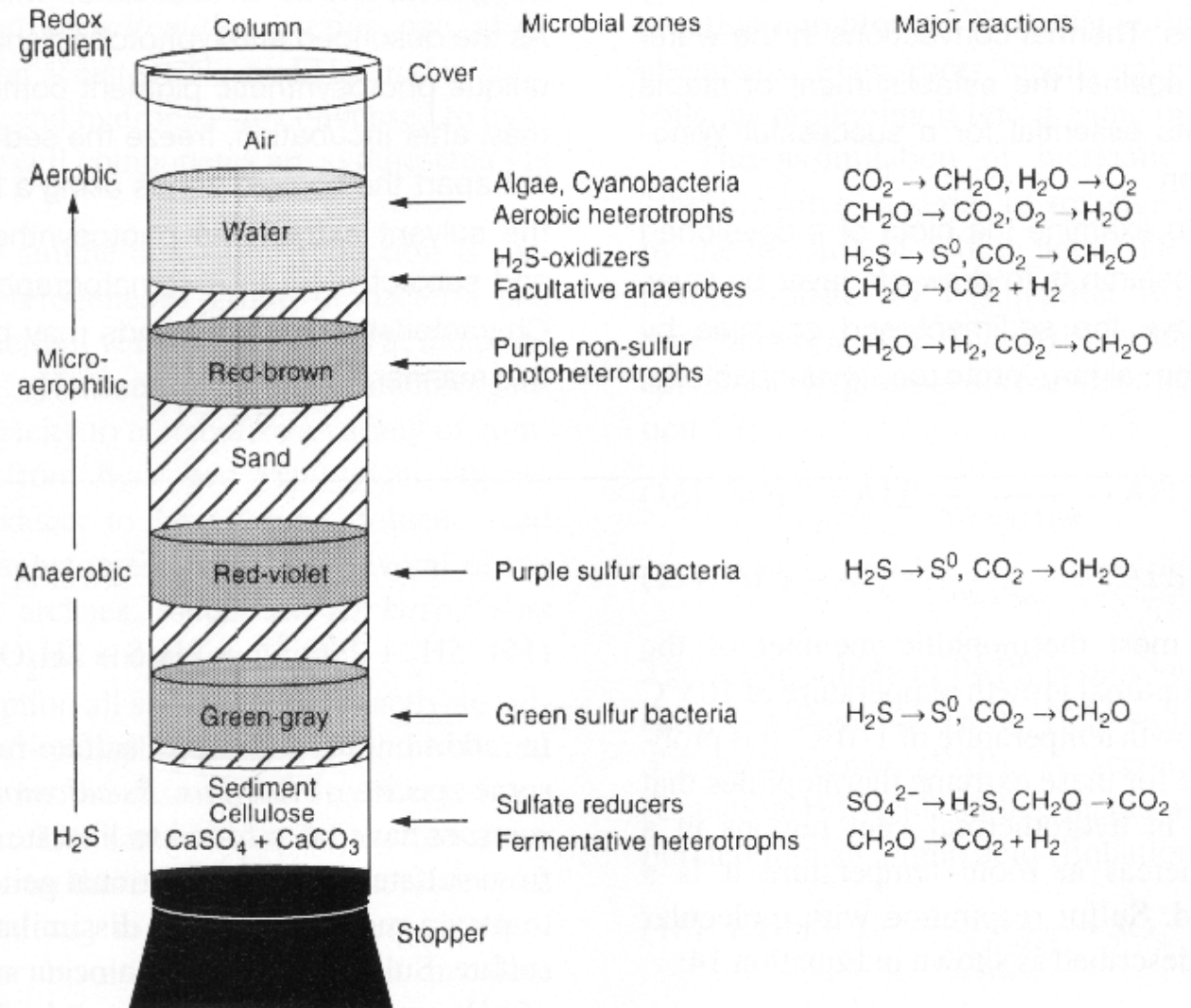
2) Chemoorganotrofie

- většina bakterií a všechny houby a živočichové
- aerobní respirace (oxidace) - kyslík molekulový jako akceptor elektronů
- kvašení
- anaerobní respirace (oxidace) - kyslík z anorganických látek jako akceptor elektronů (denitrifikace, desulfurikace apod.)

Metabolismus - summary



Metabolismus mikroorganismů



A Winogradsky column, prepared in a glass or clear plastic cylinder. Distinct layers of microorganisms develop that model the spatial distribution of these populations in anoxic water columns. The sulfate reducers, the purple and green sulfur bacteria, and the sulfide oxidizers are all involved in the sulfur cycle.

Srovnání prokaryota vs. eukaryota

- velikost cca 1 μm

- cytoplazmatická membrána

- základní cytoplazma

- buněčná stěna

(peptidoglykan, G^+ a G^-)

- vakuoly

- bičíky

(jednoduchý)

- ribosomy

(volné 70S: 5, 16 a 23S)

- jádro

(velmi dlouhá kruhová DNA - nukleoid, haploidní ...)

- buněčné inkluze

- velikost cca desítky μm

- cytoplazmatická membrána

- základní cytoplazma

- buněčná stěna

(nemá peptidoglykan, houby mají chitin)

- vakuoly

- bičíky

(9+2 uspořádání)

- ribosomy

(vázané na ER, 80S)

- jádro

(2 membrány, póry, chromozómy, histony ...)

- buněčné inkluze

- mitochondrie

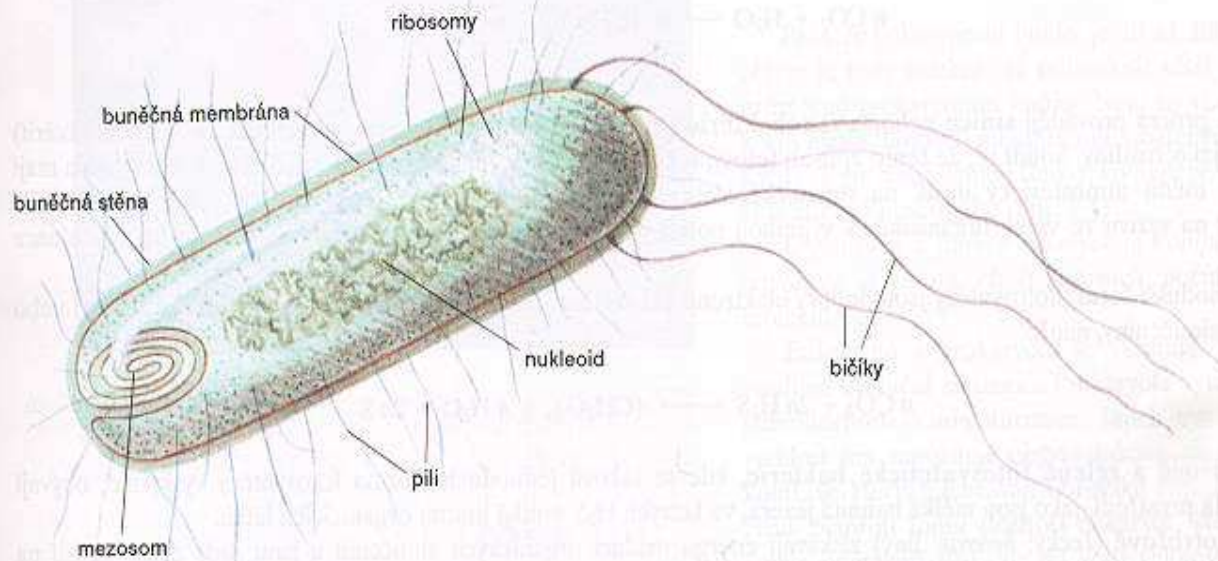
- ER

- jaderná membrána

- Golgiho aparát

- plastidy

- dělicí vřeténko



Obr. 1-2
Schéma prokaryontní buňky.

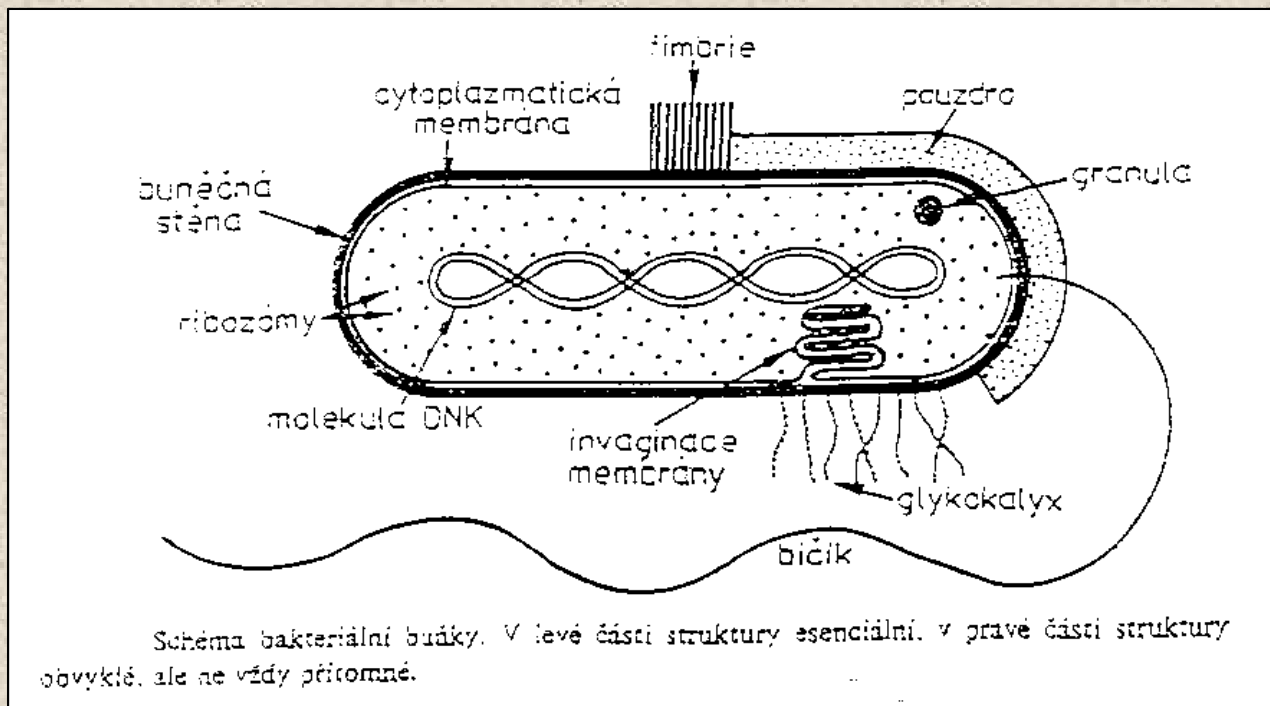
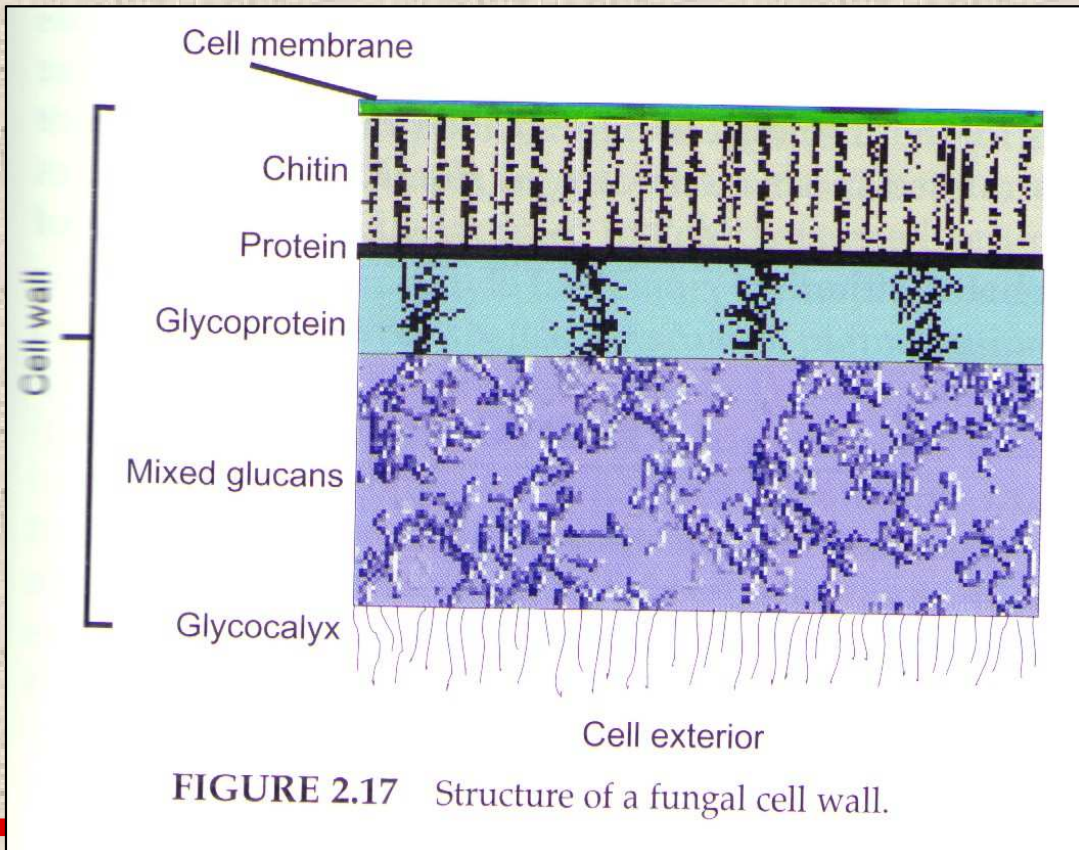
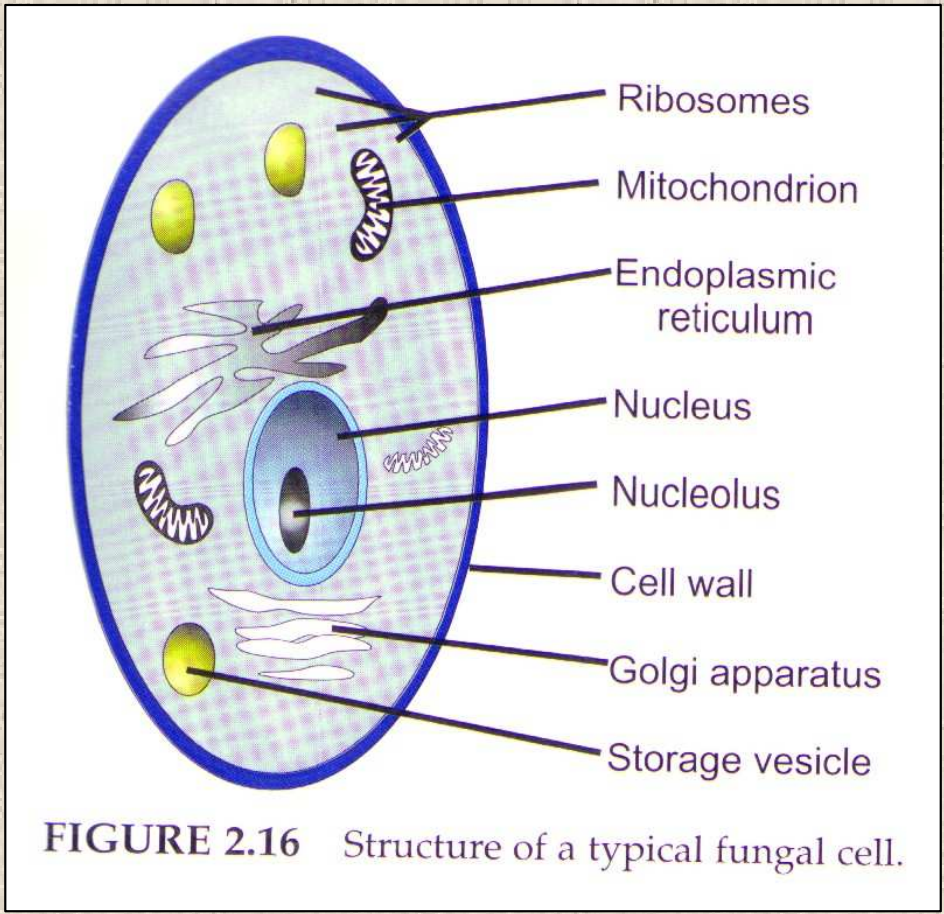


Schéma bakteriální buňky. V levé části struktury esenciální, v pravé části struktury obvyklé, ale ne vždy přítomné.



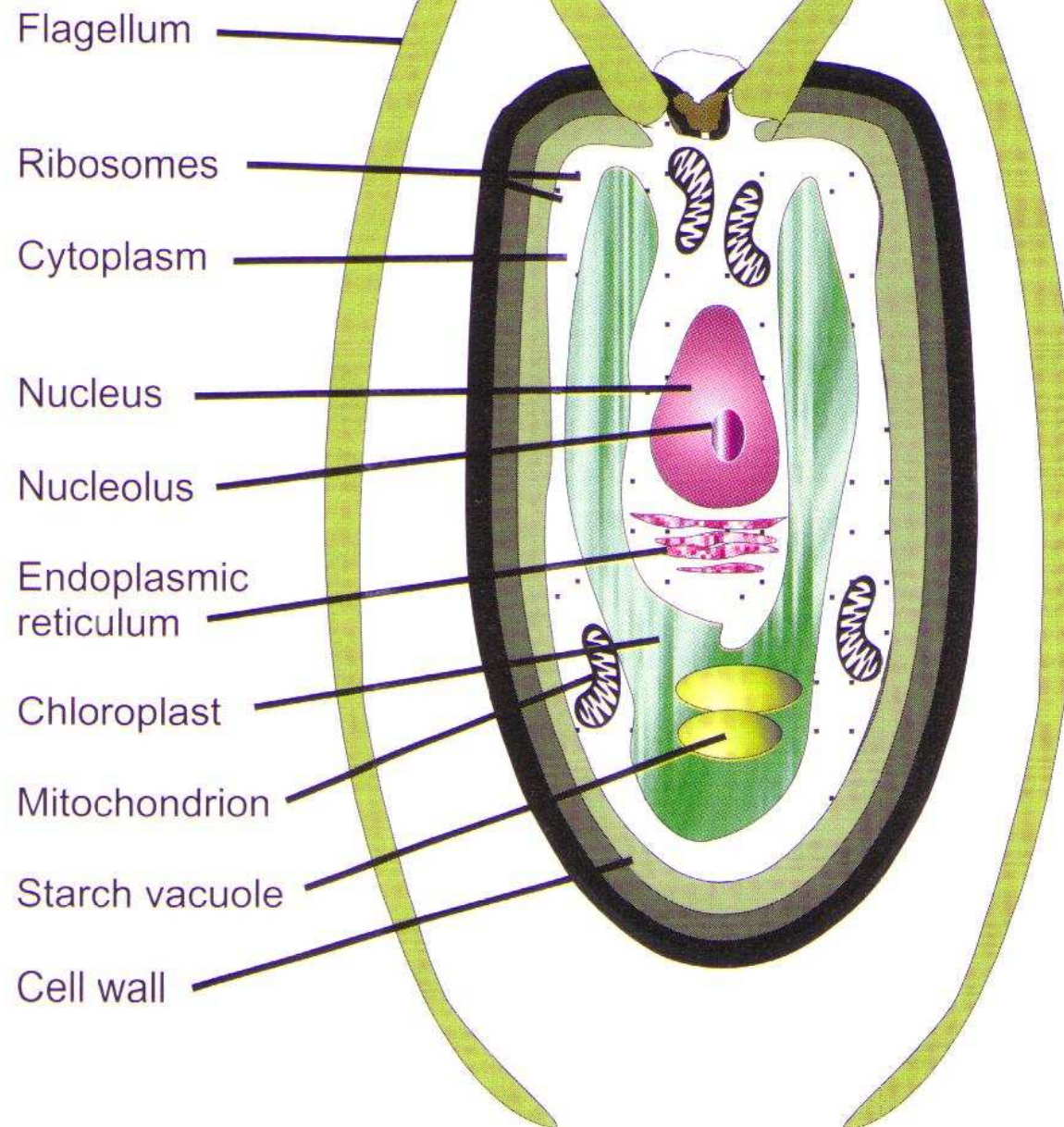


FIGURE 2.18 Structure of a typical algal cell.

Proč mikroorganismy v ekotoxikologii ?

- většinou jednobuněčné => relativně jednoduché interpretace výsledků
- často haploidní genom => **fenotyp=genotyp**
- rychlý růst a možnost studovat několik generací v krátké době
- možnost studovat celá společenstva a populace
- možnost pracovat s **vysokou diverzitou a variabilitou**
- možnost studovat jak **specifické, tak obecné funkce**
- možnost studovat stejnou populaci **v reálném ekosystému i v laboratoři**

Proč mikroorganismy v ekotoxikologii ?

Zejména svět prokaryot má z ekotoxikologického hlediska velmi významná specifika

Není kompartmentace buňky - toxické látky stačí pouze proniknout přes membránu

Vysoká BIODIVERZITA:

1) **Vysoká genetická a fenotypová proměnlivost:**

- haploidní genom
- intenzivní horizontální přenos genetické informace i mezi druhy (konjugace, transformace, transdukce)

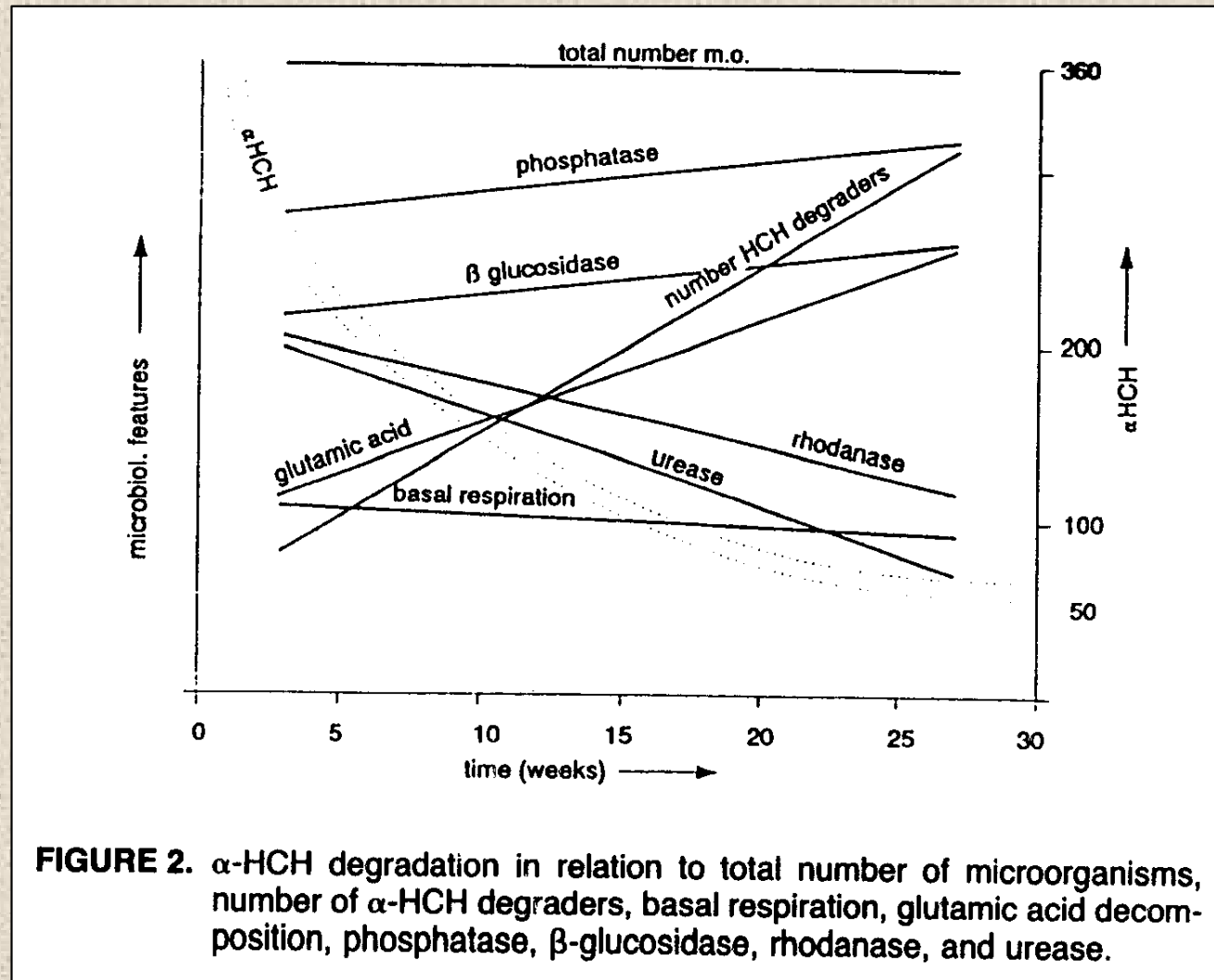
2) **Vysoká funkční variabilita** - široké spektrum energetických strategií, metabolických typů (autotrofie i heterotrofie) – výhoda pro **vývoj nových testů**

3) **Vysoká ekologická diverzita** - rozmanité a proměnlivé růstové (životní) strategie

- fenotypová adaptace
- sporulace (endospory, spory aktinomycet, cysty)

Proč mikroorganismy v ekotoxikologii ?

Výhodou mikroorganismů je, že umožňují najednou hodnotit velké množství parametrů i například současné hodnocení biodegradace organické látky a vlivu na mikrobiální procesy.



Proč mikroorganismy v ekotoxikologii ?

➤ Environmentální znečištění u mikroorganismů působí jako stresový faktor vyvolávající selekci resistantních kmenů a druhů:

- resistantní druhy mohou rychle využít mrtvé buňky citlivějších druhů jako substrát, což může fungovat jako stimulace
- z toho také vyplývá, že účinek znečištění závisí na historii společenstva
- relativně rychlá selekce může ovlivňovat výsledky toxikologických testů

Příklad: Abundance bakterií v různých sedimentech 1 měsíc po olejové havárii *Amoco Cadiz*

	Total number of bacteria (10 ³ /g sediment)	Hydrocarbon utilizing bacteria (10 ³ /g sediment)
Oiled sites		
Salt march	630 000	14 000
Estuary - high intertidal	190 000	18
Estuary - low intertidal	690 000	390
Sandy beach	100 000	350
Reference sites		
Salt march	96 000	0,52
Beach	45 000	0,38

Proč mikroorganismy v ekotoxikologii ?

Bakteriální buňka je relativně malá, má však velký specifický povrch:

Příklad: Chlamydia: $0,3 \times 0,3 \mu\text{m}$; E. coli: $2-3 \mu\text{m} \times 0,4-0,6 \mu\text{m}$; Chromatium: $25 \times 10 \mu\text{m}$

Buňka	Průměr (μm)	Povrch (μm^2)	Objem (μm^3)	Specifický povrch (μm^{-1})
Rickettsie	0,3	0,3	0,01	30
Typický kokus	1	3	0,5	6
Kvasinka	10	314	523	0,6
Jaterní buňka	20	1256	4187	0,3

Vzhledem k tomu jsou minimalizovány časy potřebné na proniknutí látky do buněk a roste pravděpodobnost rychlé kolize s vnitrobuněčnými receptory

Vysoká pravděpodobnost reakce povrchu buňky s aktivními látkami

Proč mikroorganismy v ekotoxikologii ?

Je velmi vysoká rychlost metabolismu (anabolismu i katabolismu)

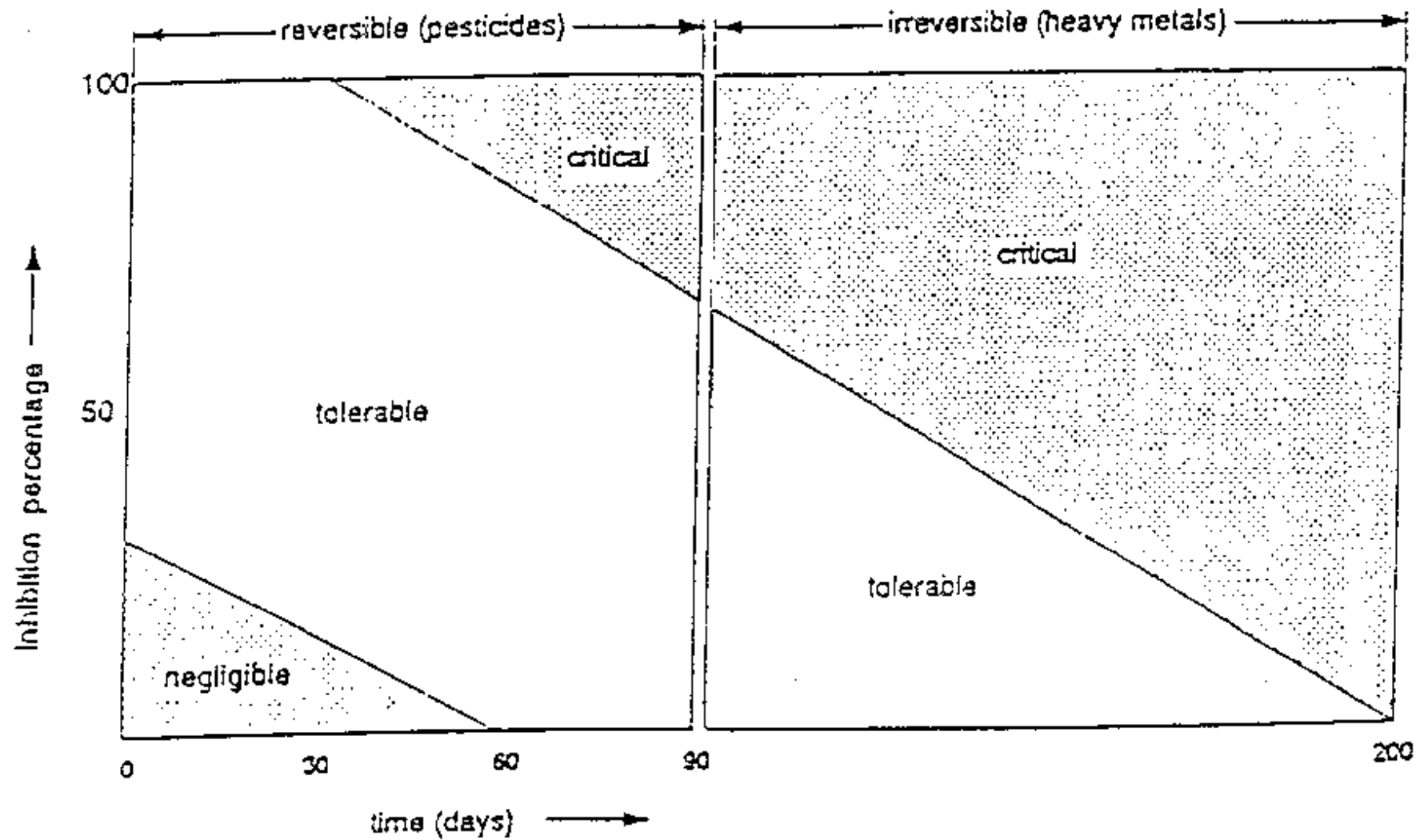
Rychlost metabolismu prokaryot navozuje energetické aspekty vlivu stresových faktorů (jsou citlivější)

Buňka	Rychlost dýchání (ml O ₂ · h ⁻¹ · mg ⁻¹ _{suš.})
bakteriální	300
srdeční	3
jaterní	1



Mikroorganismy a toxické látky

- **funkce času** - lineární, u chronického působení spíše klesá s dobou působení (důsledek adaptace)
- **funkce koncentrace** - DOSE - RESPONSE
- **vliv jaká je buňka** typu (prokaryotická či eukaryotická, G+ či G-, typ metabolismu)
- **vliv stavu buněk** (fáze buněčného cyklu, spóra či ne)



The ecotoxicological profile of pesticides and heavy metals.

- důležité proto, že mikrobiální ekotoxikologie MUSÍ uvažovat **interakce buněk s vnějším prostředím**
- **biomembrána** - biofilm z fosfolipidů, procesy transportu: difúze, aktivní transport (pinocytóza, fagocytóza ...)
- **model mozaiky**; situována zde celá řada enzymů, u prokaryot elektrontransportní systémy
- Definiuje antigenní vlastnosti buněk

Cytoplazmatická membrána je polyfunkční

- je středem vektorového metabolismu daného koncentračním gradientem molekul iontů
- jsou zde situovány
 - respirační řetězce a mnohačetné enzymové systémy
 - aparát fotosyntézy, ATP-áza
 - transportní proteiny
 - je zde zakotven bičík
- je místem syntézy a hydrolýzy fosfolipidů
- probíhá zde poslední krok syntézy buněčné stěny
- hraje dominantní úlohu při replikaci DNA
(připojena DNA v místě, kde je lokalizován replikační aparát)
- zajišťuje přísun živin a zároveň izoluje od vnějšího prostředí
- na povrchu je kryta buněčnou stěnou, která již není plně průchodná pro makromolekuly
- mezi membránou a stěnou je tzv. periplazmový prostor, ve kterém mohou fungovat některé enzymatické aktivity

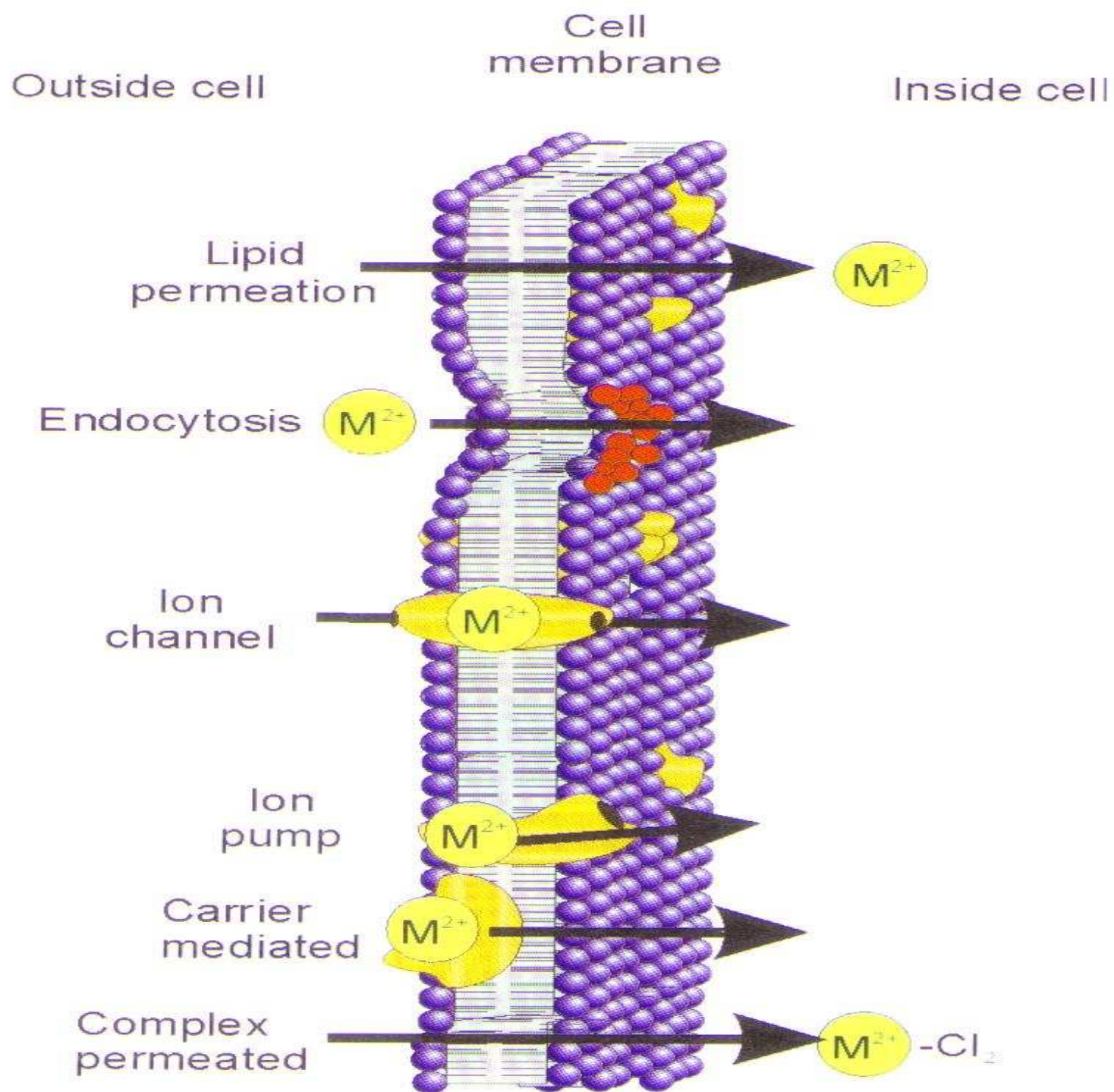


FIGURE 17.4 Mechanisms of metal (M) flux across the microbial cell membrane. (Adapted from Simkiss and Taylor, 1989.)

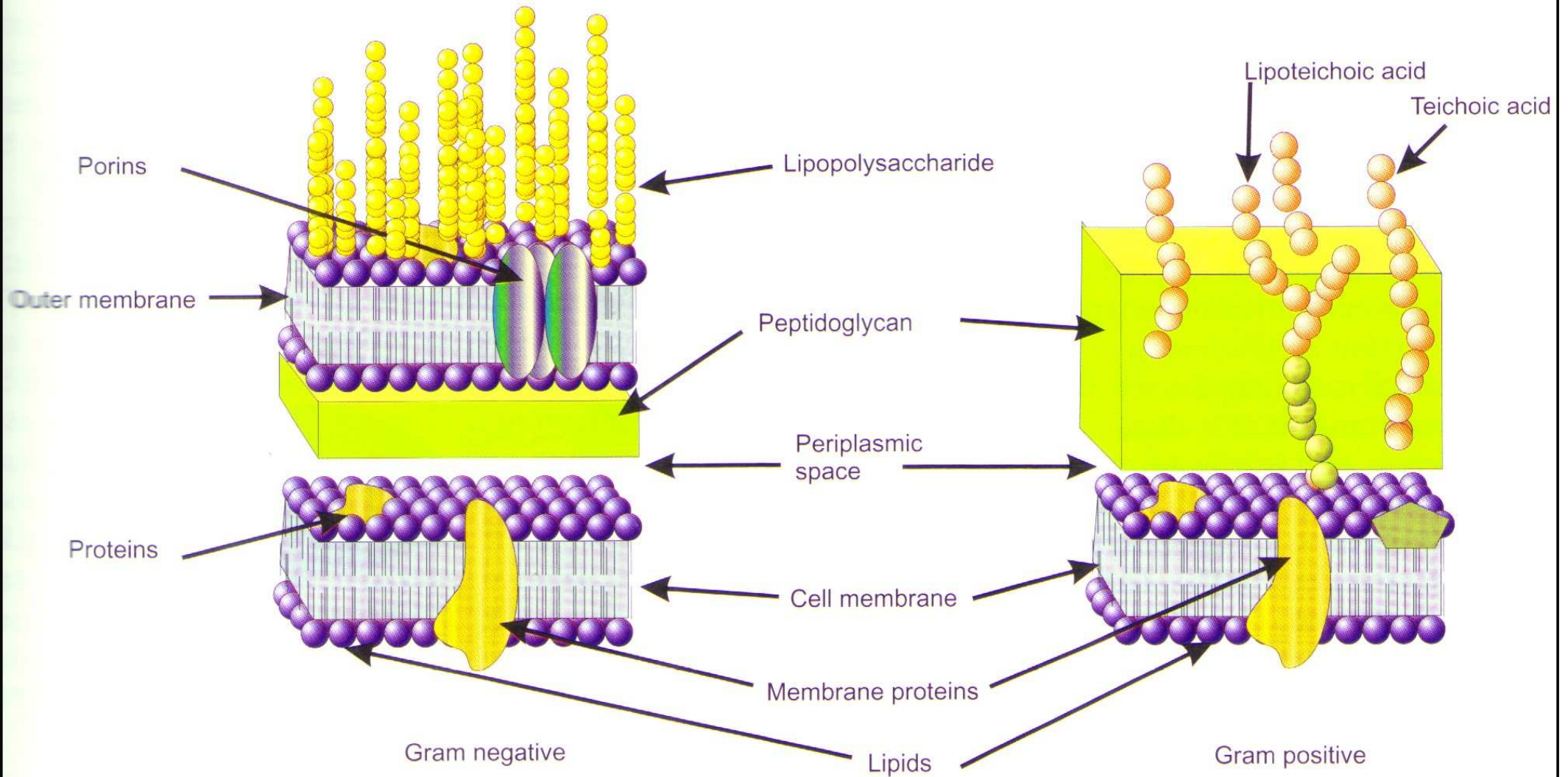
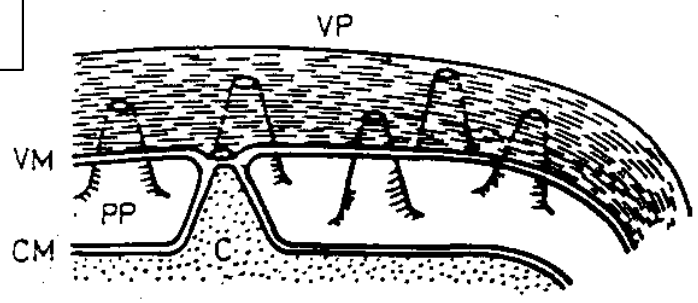
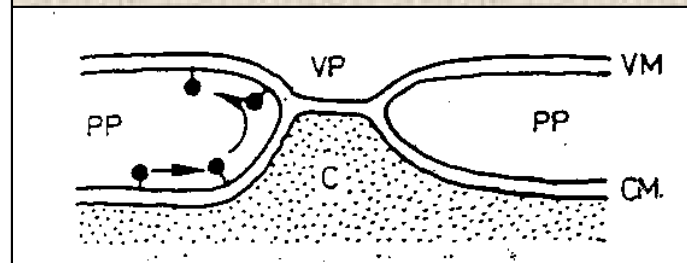
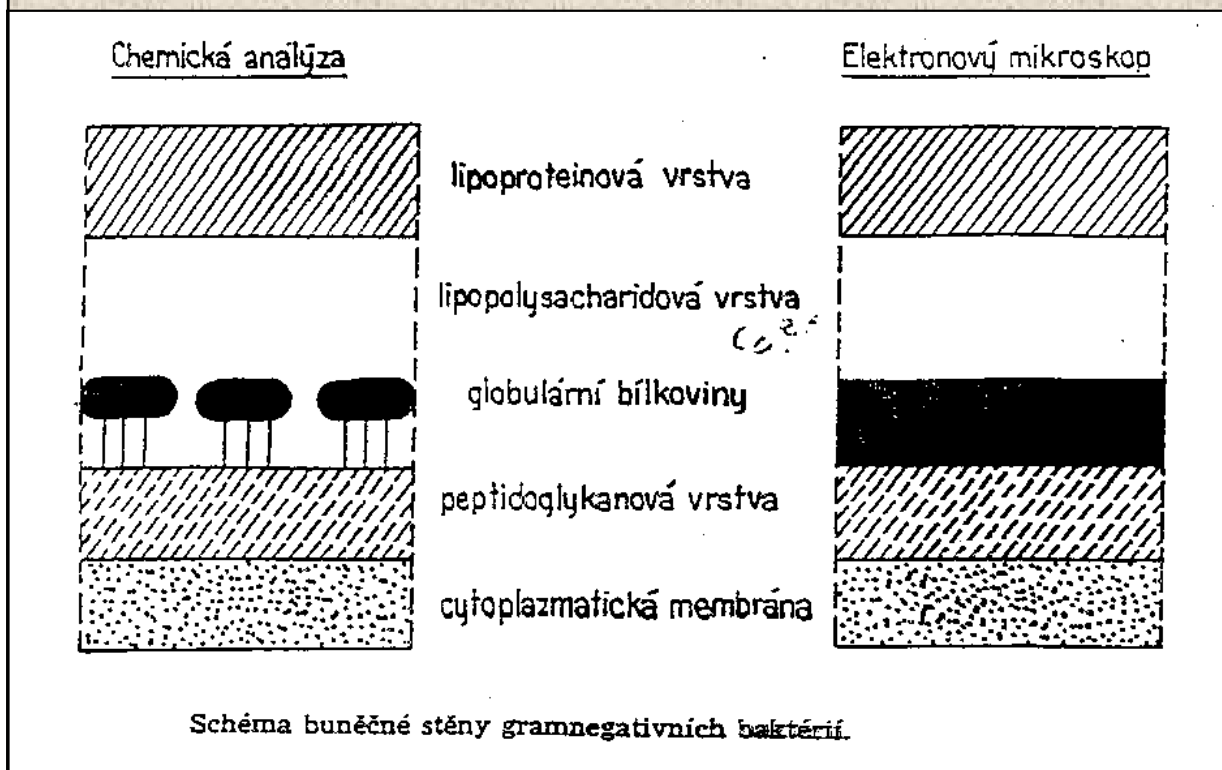


FIGURE 2.12 Comparison of gram-positive and gram-negative bacterial cell walls.

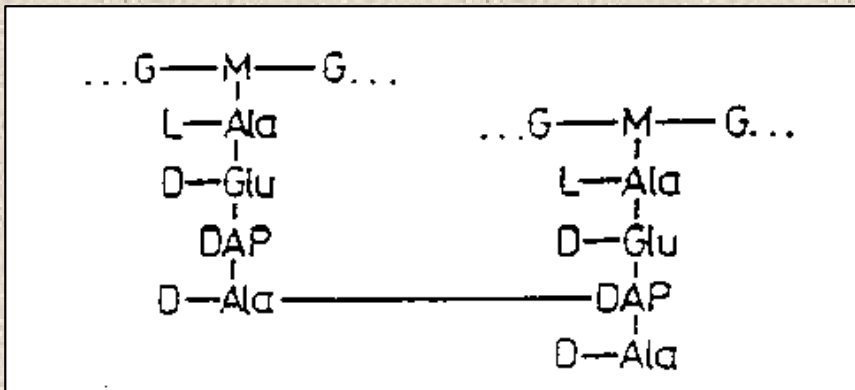
Specifické vlastnosti mikroorganismů ve vztahu k jejich ekotoxikologii

Gramnegativní bakterie

- kocový D-alanin řetízku je spojen s di-aminopimelovou kyselinou jiného řetízku
- G- stěna je tenčí a méně hmotná
- obsahuje i tzv. vnější membránu, která uděluje antigenní specifitu



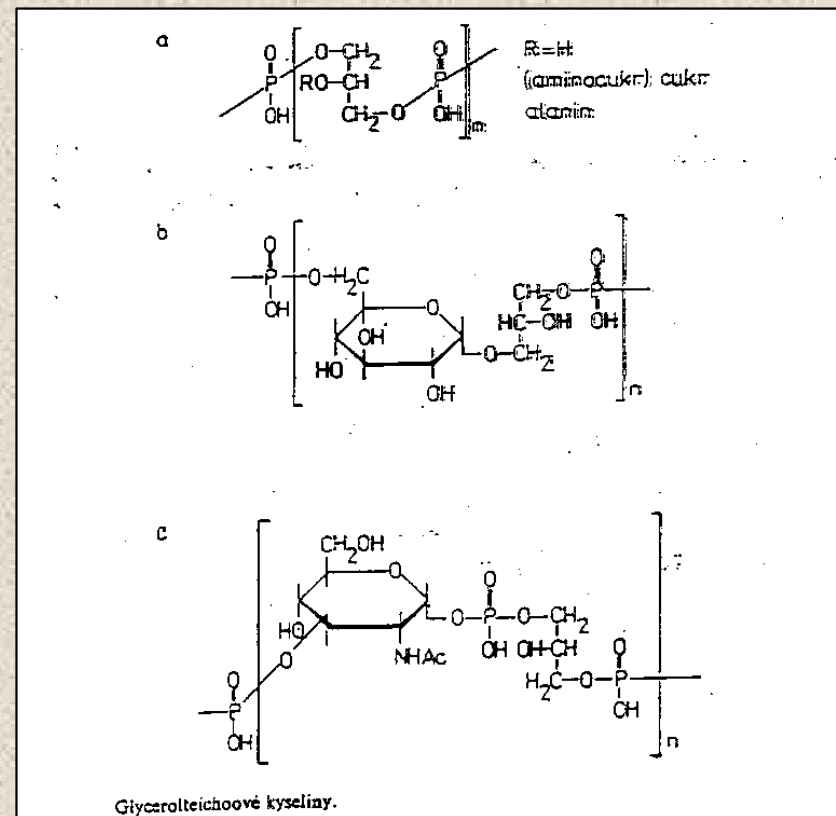
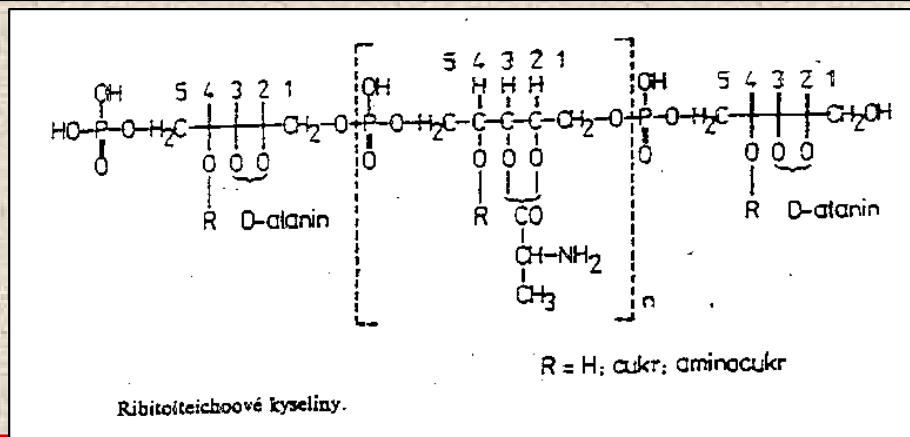
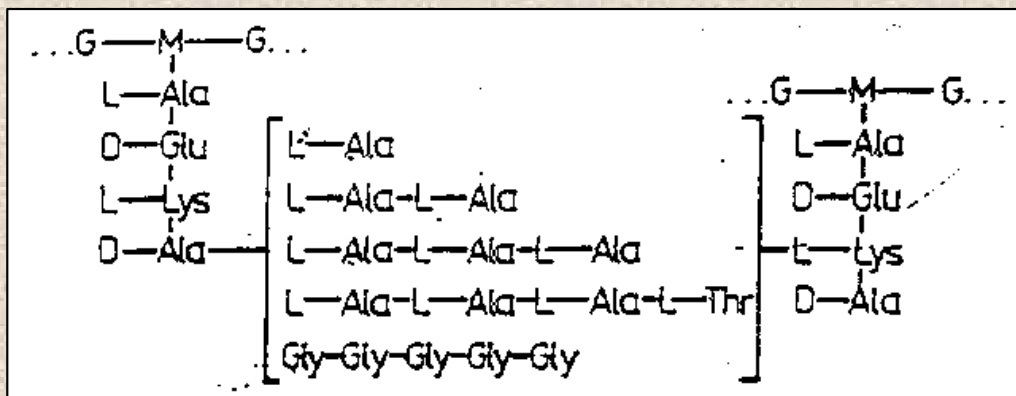
Adhezivní místa mezi vnější a cytoplazmatickou membránou *E. coli*. Nahoře schéma průřezu adhezivního místa a migrace molekuly z vnitřní do vnější membrány, dole perspektivní řez buňkou; VM – vnější membrána, CM – cytoplazmatická membrána, PP – periplazmový prostor, C – cytoplazma, VP – vnější prostředí. (Podle Inouye, 1979.)



Specifické vlastnosti mikroorganismů ve vztahu k jejich ekotoxikologii

Grampozitivní bakterie

- kocový D-alanin řetízku je spojen s di-aminopimelovou kyselinou jiného řetízku přes řadu jiných aminokyselin
- G+ stěna má mnoho takových vrstev
- **síťovina polymerů je pevnější než u G-**
- navíc mají různě substituované teichoové kyseliny kotvící stěnu k membráně
- **t. kyseliny se váží na peptidoglykan a váží dvojmocné kationty**
- buněčná stěna G+ neobsahuje lipidy



Jedy nespecifické:

- nespecificky narušují struktury buňky
- např. kyseliny a zásady, soli těžkých kovů (sráží bílkoviny cytoplazmy), halogeny, alkoholy, aldehydy

Jedy specifické

- enzymové jedy
- mitotické jedy - u eukaryot blokují průběh mitózy
- cytostatika - zastavují buněčné dělení
- mutageny
- kancerogeny - nemá smysl je takto brát u mikroorganismů!
- antibiotika - blokují některé syntézy

Obecná klasifikace toxických účinků

Podle místa účinku

- receptorové reakce na membráně
- reakce na úrovni genomu

Podle typu účinku často rozlišované

- toxicita dioxinového typu
- promoce a karcinogeneze
- xenoestrogenní aktivita

NIC z toho nelze pozorovat na úrovni mikroorganismů

Možné klasifikace toxických účinků u MIKROORGANISMŮ:

- 1) Poruchy buněčného cyklu - celulární úroveň, dělení, krátkodobé účinky
- 2) Genotoxické účinky - úroveň genomu
- 3) Receptorové interakce na membránách a v cytoplazmě - poruchy fyziologických funkcí

Každý ukazatel toxicity je do určité míry integrující - tedy odráží různou úroveň "akumulace" škodlivých vlivů - horší interpretace

Různé toxické efekty

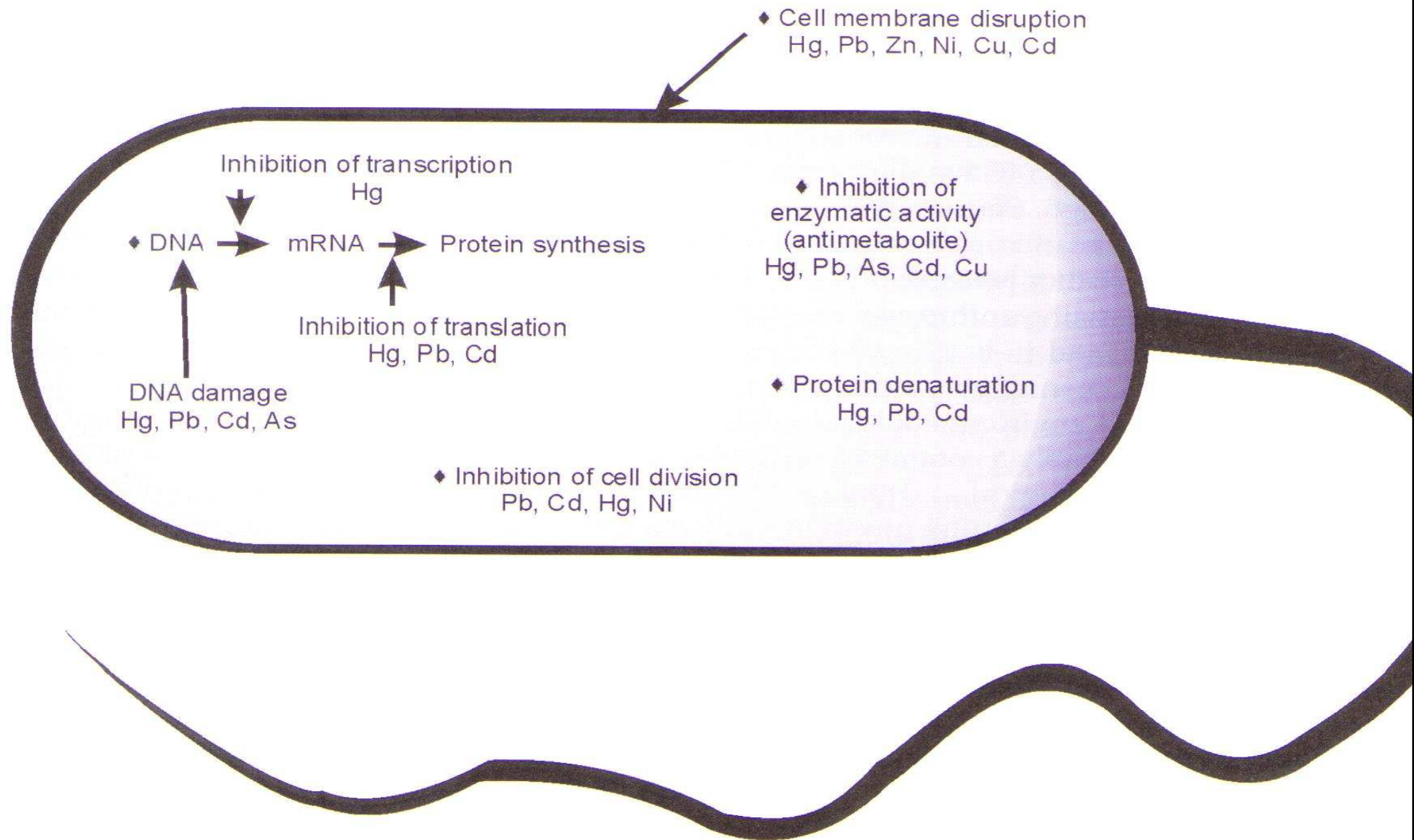


FIGURE 17.3 Summary of the various toxic influences of metals on the microbial cell demonstrating the ubiquity of metal toxicity. Metal toxicity generally inhibits cell division and metabolism. As a result of this ubiquity, microorganisms have to develop “global” mechanisms of resistance that protect the entire cell from metal toxicity.

Mechanismy vzdorování toxickým vlivům

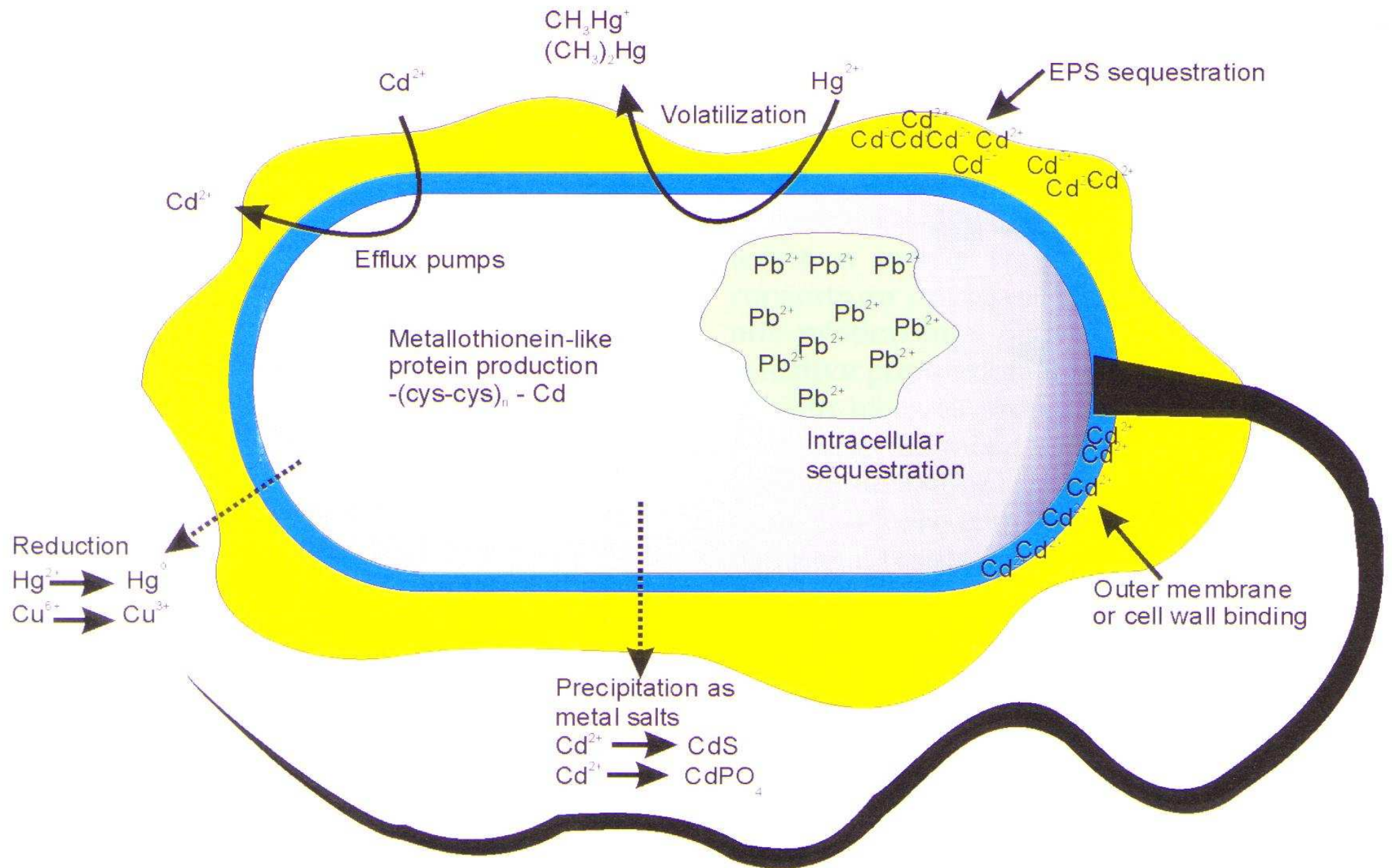


FIGURE 17.5 In response to metal toxicity, many microorganisms have developed unique mechanisms to resist and detoxify harmful metals. These mechanisms of resistance may be intracellular or extracellular and may be specific to a particular metal, or a general mechanism able to interact with a variety of metals.