

# Izolace vybraných skupin půdních mikroorganismů

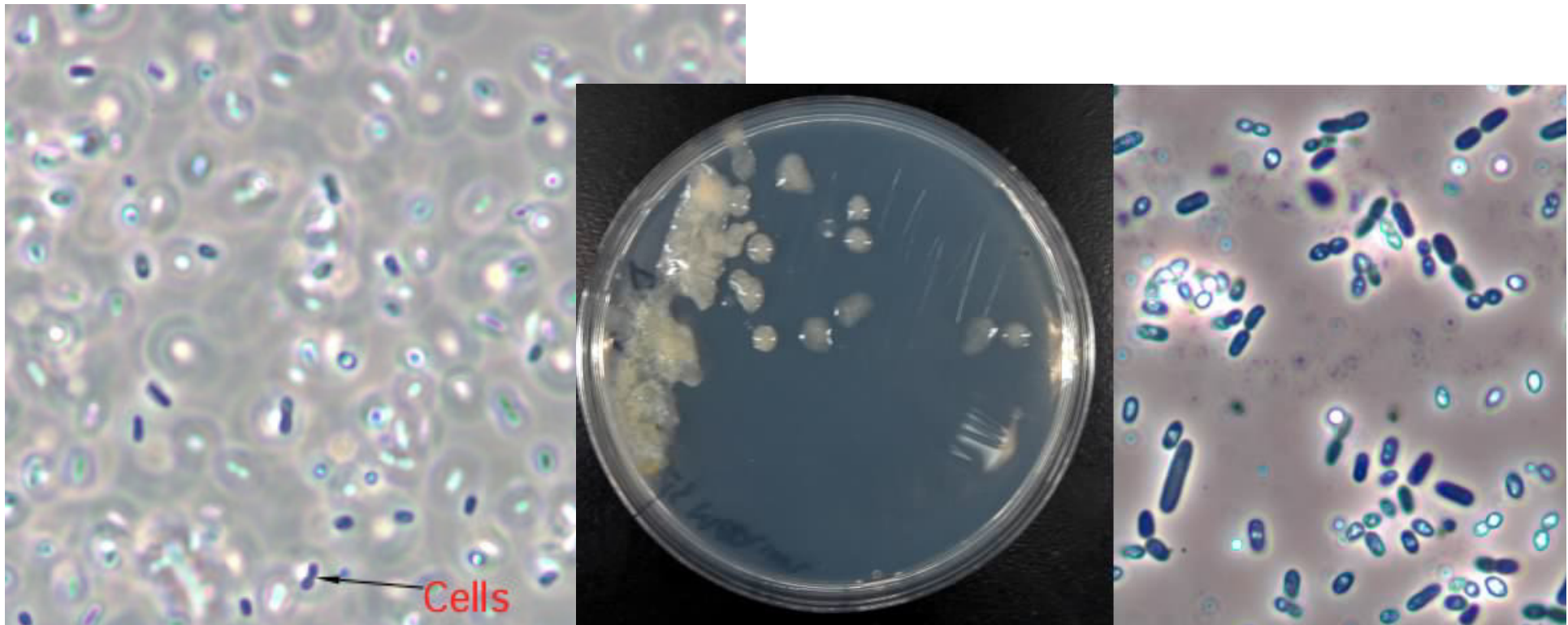
**Cíl:** izolace a průkaz 3 skupin MO  
(ve vzorku komplex MO) z různých zdrojů půdy  
(cílová skupina MO se nemusí nacházet v každém vzorku) za  
selektivních podmínek kultivace

1. Izolace rodu *Azotobacter*
2. Izolace rodu *Clostridium*
3. Průkaz celulolytických bakterií

# *Azotobacter*

G-, tvorba cyst, aerobní, tvorba pigmentu,  
nesymbiotická fixace dusíku

- bezdusíkaté médium  
(enzym nitrogenáza → dokáže dusík fixovat ze vzduchu)
- Ashbyho agar – hodně živin, bez dusíku
- <http://www.sci.muni.cz/mikrob/MiniAtlas/azoto.htm>



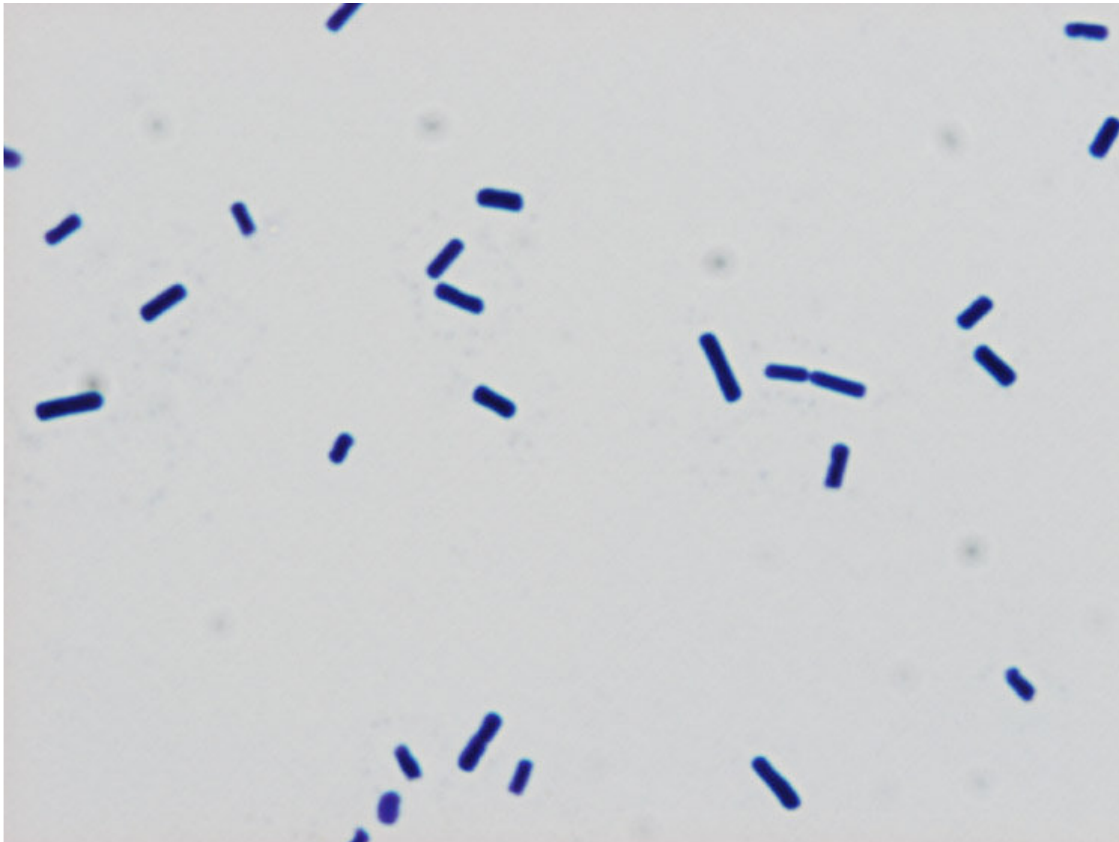
***Clostridium*** – anaerobní bakterie, spory jsou schopny vyklíčit v anaerobním prostředí bujono pod parafinem, vegetativní buňky usmrceny pasterizací

G+, tyčky, tvorba spor, produkce toxinů, výskyt v prostředí

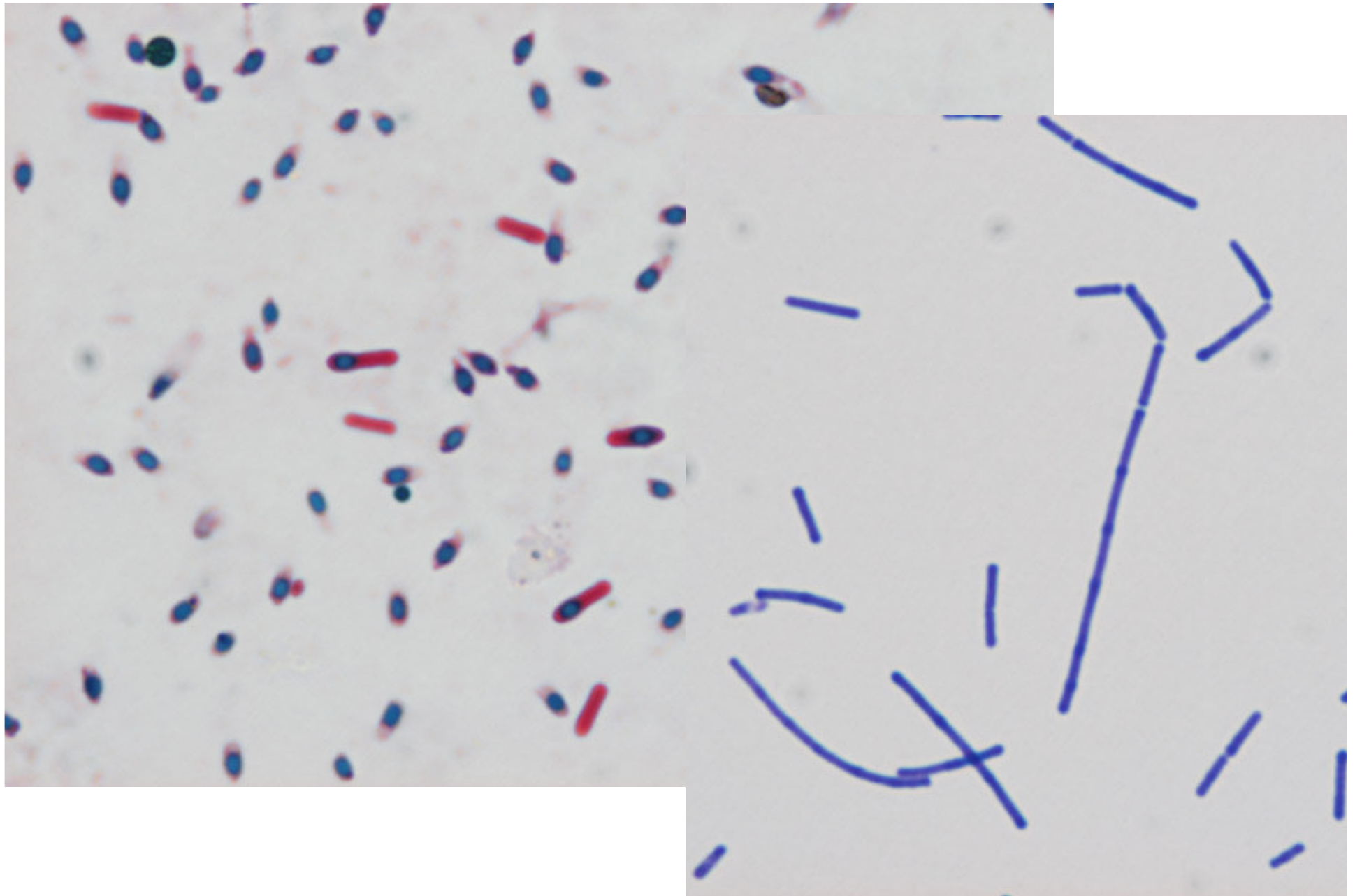
*C. tetani*



*C. perfringens*



*C. septicum*

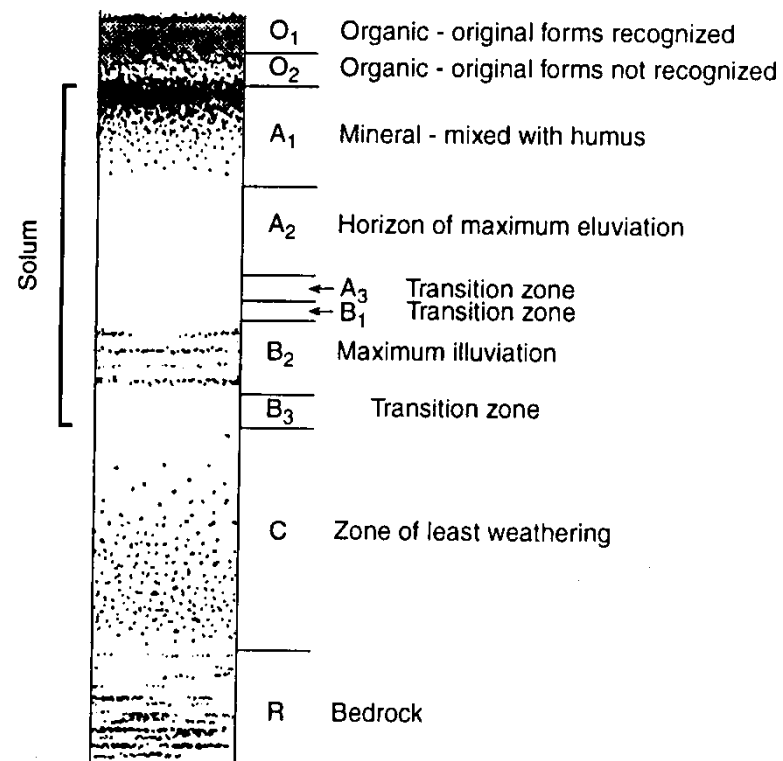
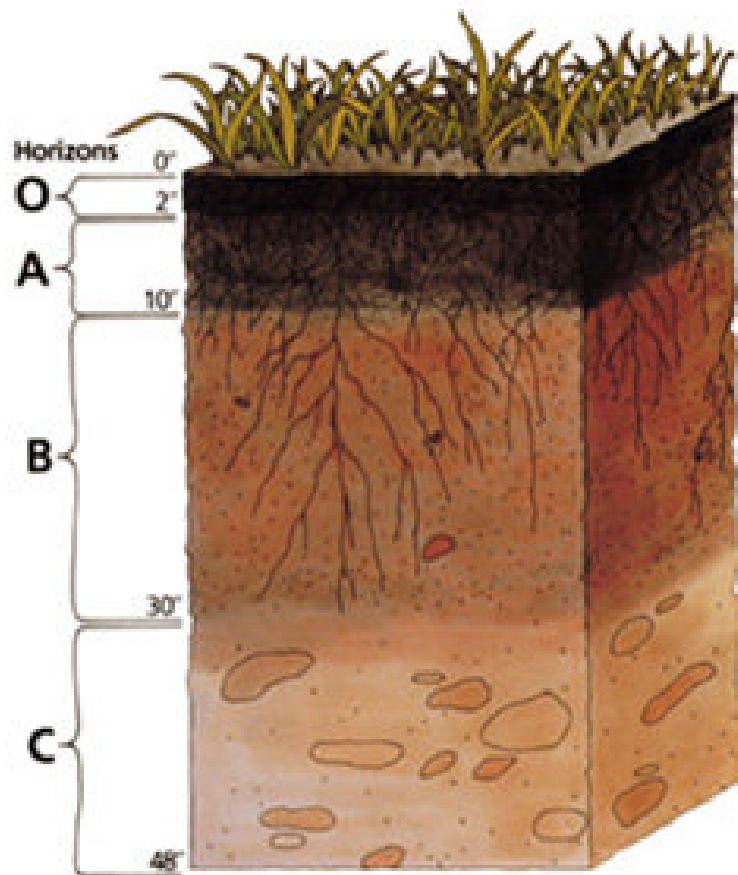


- **Celulolytické bakterie** (*Cytophaga*, *Cellvibrio*, *Cellfalcicula*, *Sporocytophaga*,..)– průkaz s jediným zdrojem uhlíku (lístečky s celulózou – noviny, buničina, filtrační papír)
- Ukazatel úrodnosti

Relativní zastoupení aerobních, fakultativně anaerobních bakteriálních rodů, které se běžně vyskytují v půdě

Rod	%
<i>Arthrobacter</i>	5-60
<i>Bacillus</i>	7-67
<i>Pseudomonas</i>	3-15
<i>Agrobacterium</i>	1-20
<i>Alcaligenes</i>	1-20
<i>Flavobacterium</i>	1-20
<i>Corynebacterium</i>	2-12
<i>Micrococcus</i>	2-12
<i>Staphylococcus</i>	<5
<i>Xanthomonas</i>	<5
<i>Mycobacterium</i>	<5

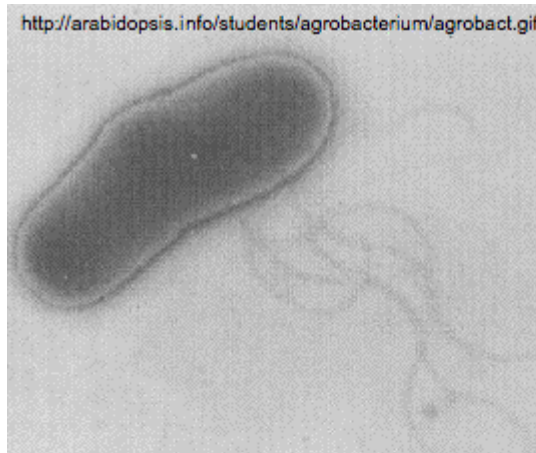
**Půda:** vliv na zastoupení MO → roční období, půdní typ, dostupnost živin, vody O<sub>2</sub>, pH, minerály, textura půdy, hloubka



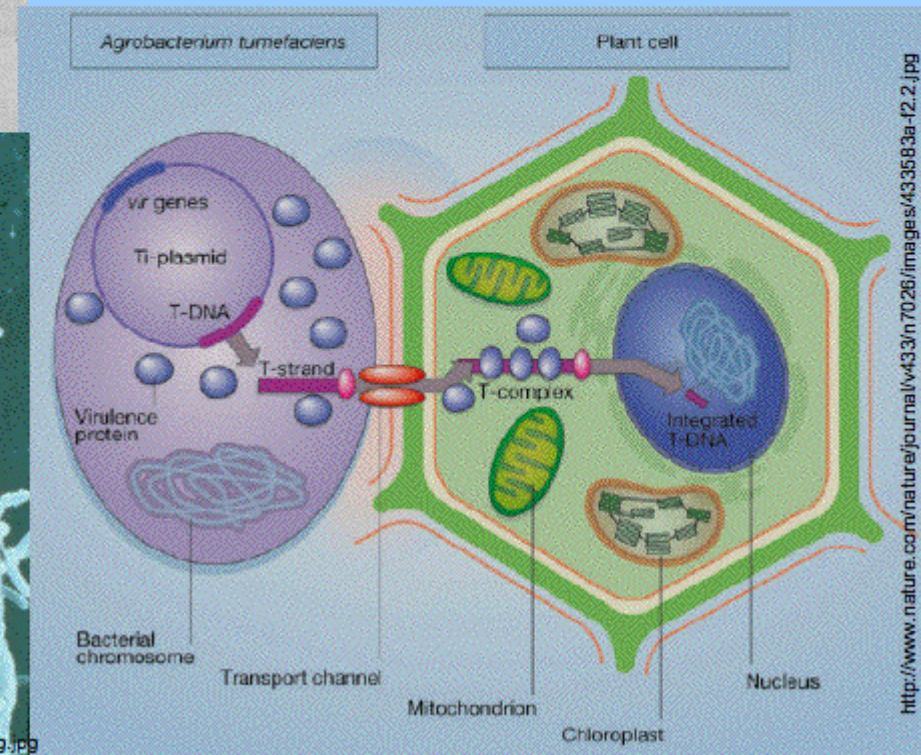
**Figure 9.31**  
Vertical soil profile showing soil horizons. (Source: Buckman and Brady 1969. Reprinted by permission, copyright Macmillan Publishing Co.)

- **autochtonní MO** = typické pro dané prostředí (např. *Agrobacterium*, *Streptomyces*)
- **alochtonní MO** = v daném prostředí se vyskytuje sezónně, pokud jsou vhodné podmínky

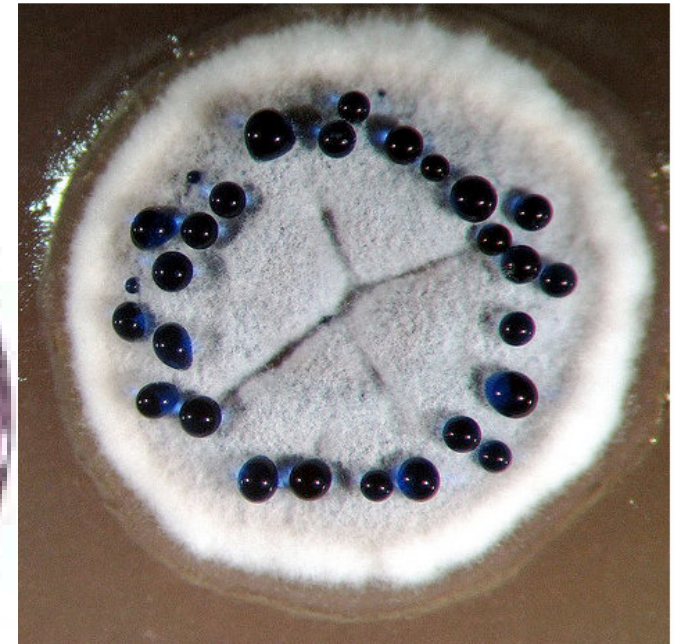
## *Agrobacterium*



*Agrobacterium tumefaciens* has a specially-recombinant portion (Ti) of a plasmid that can integrate into a plant cell's nuclear genome.

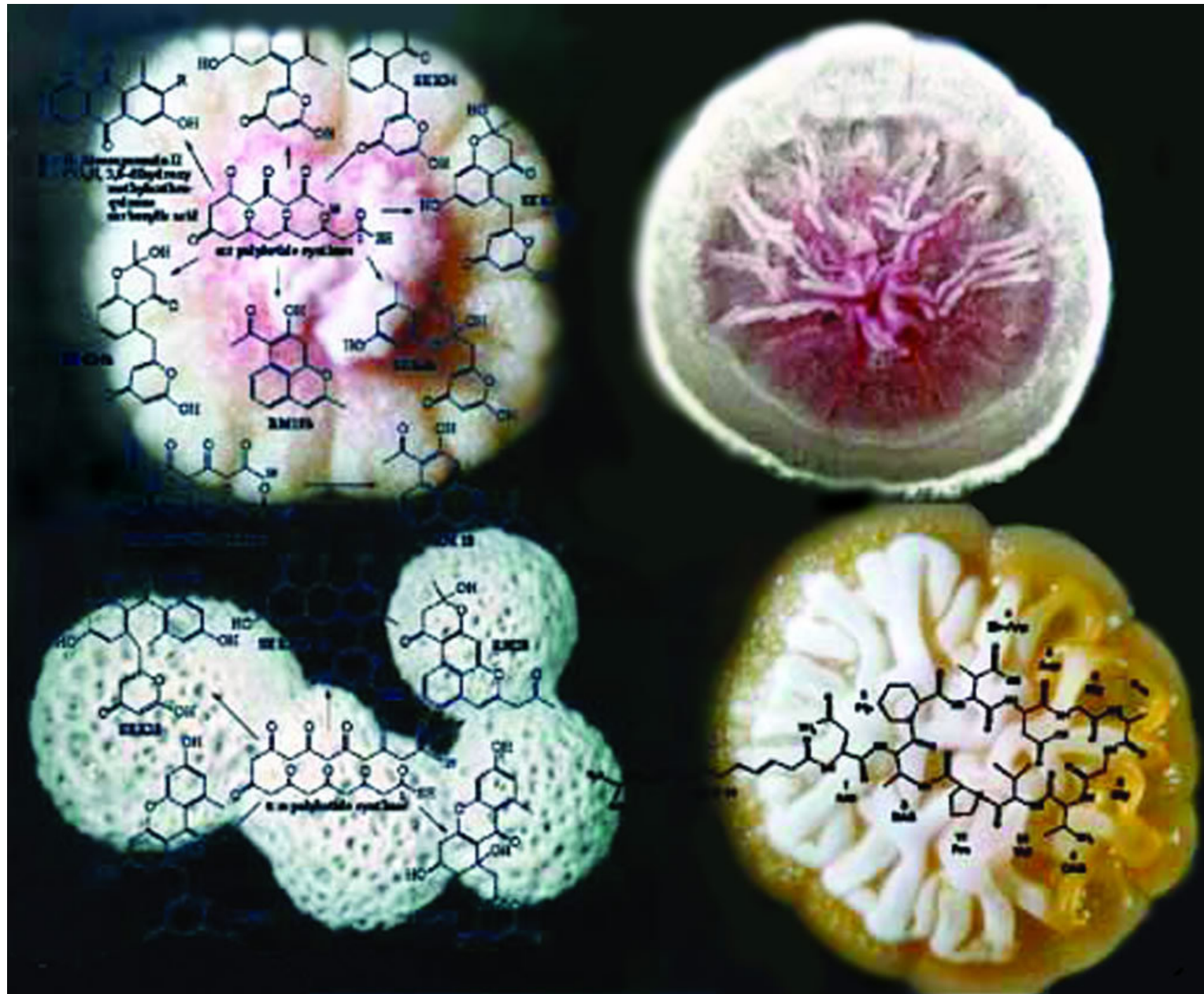


# *Streptomyces*





# Streptomyces



# Myxobakterie

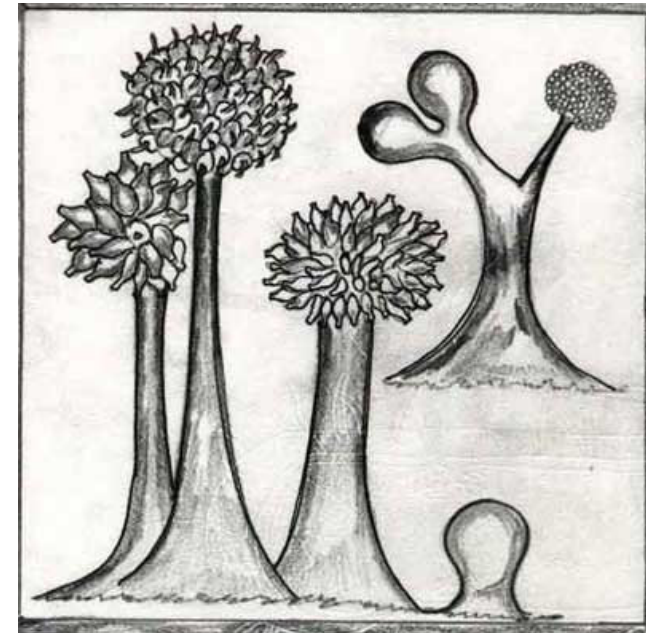
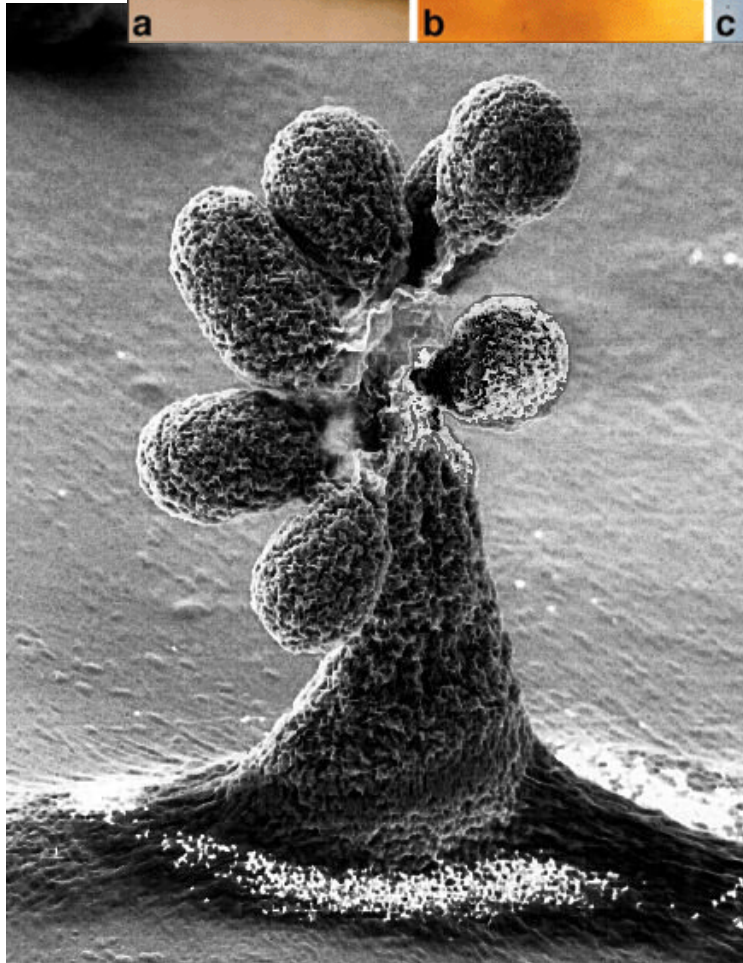
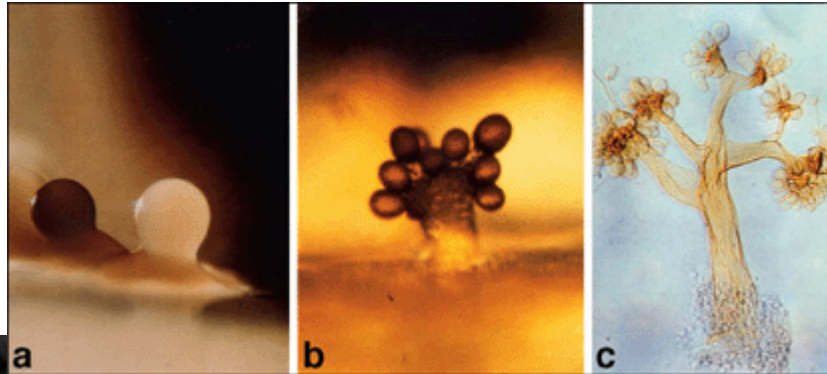


FIGURE: DRAWING OF A COMMON MYXOBACTERIUM  
THAXTER, R. 1897. Bot. Gaz., 23: 395-411

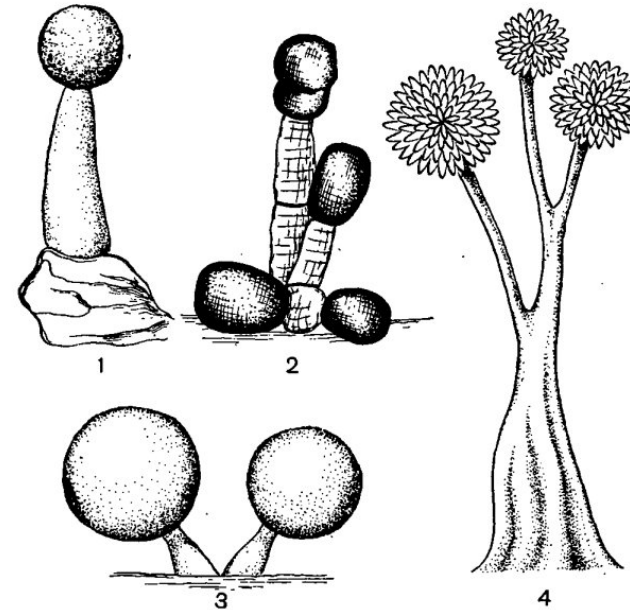
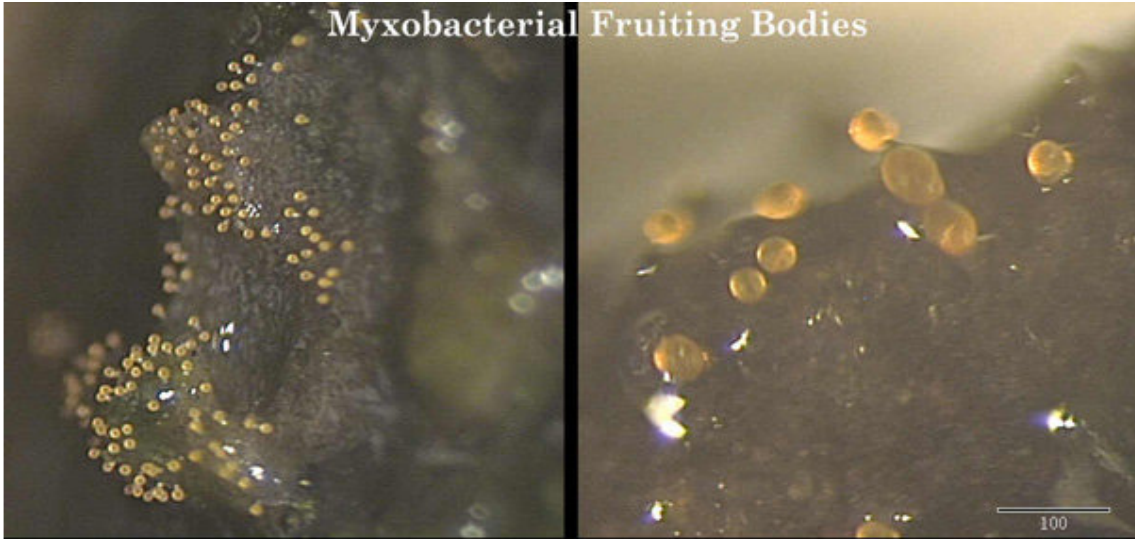


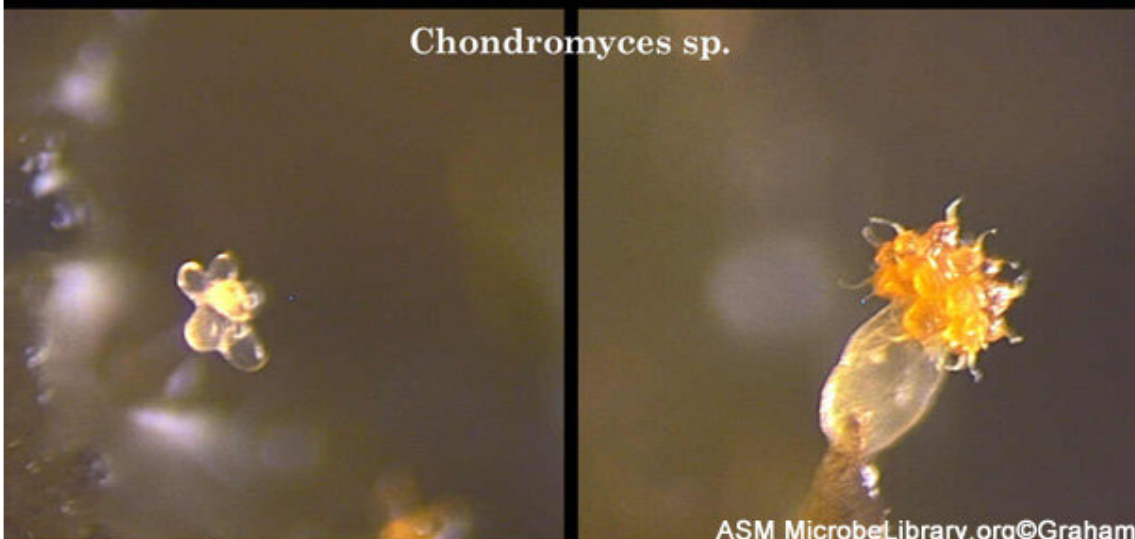
Рис. 113. Плодовые тела некоторых миксобактерий:  
1 — *Myxococcus stipitatus* (высота колонии 0,1 мм); 2 — *Podangium erectum* (высота 50 мкм); 3 — *Myxococcus fulvus* (высота 150 мкм); 4 — *Chondromyces* sp. (высота 0,5 мм).

# Chondromyces

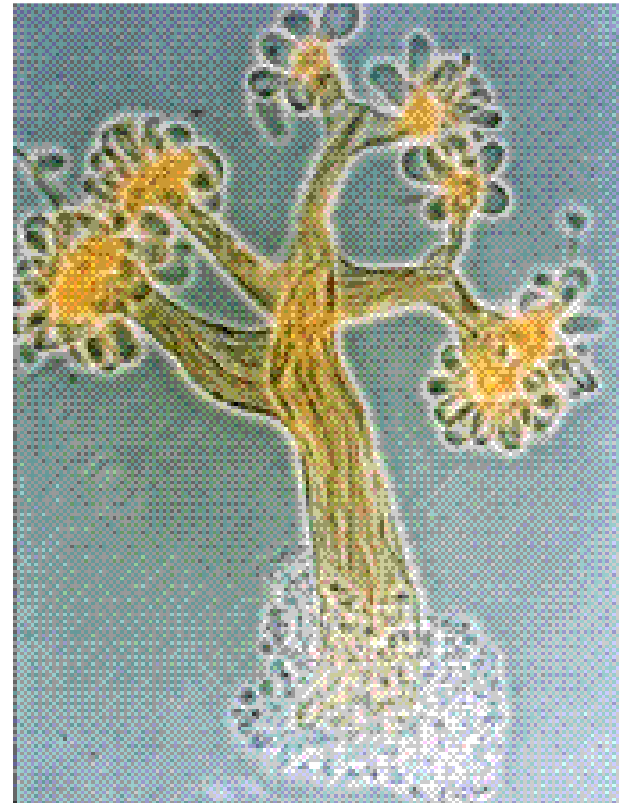
Myxobacterial Fruiting Bodies



Chondromyces sp.



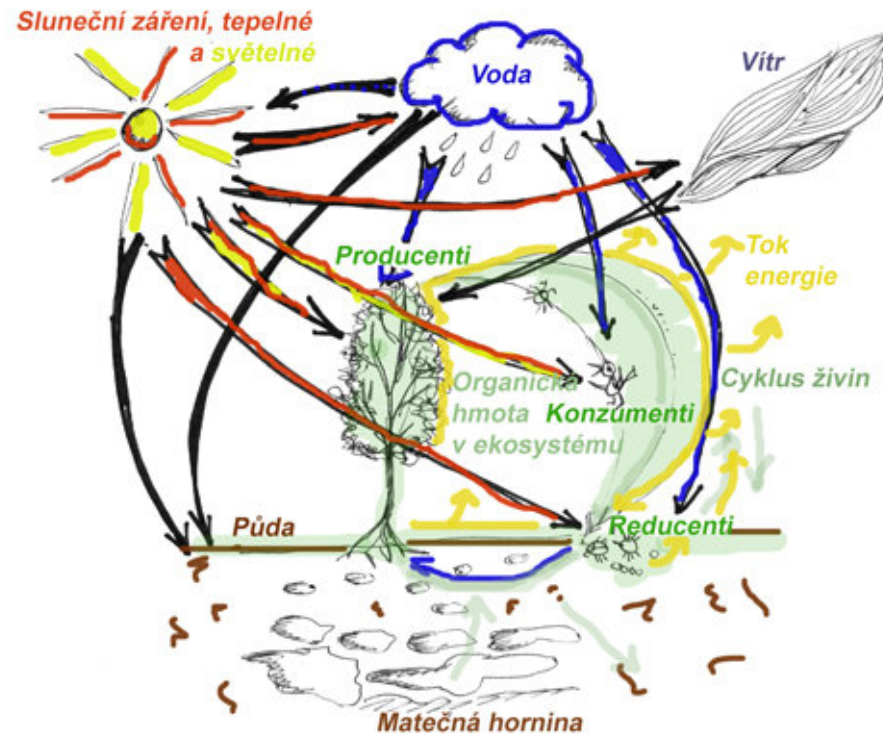
ASM MicrobeLibrary.org©Graham



science foto.de



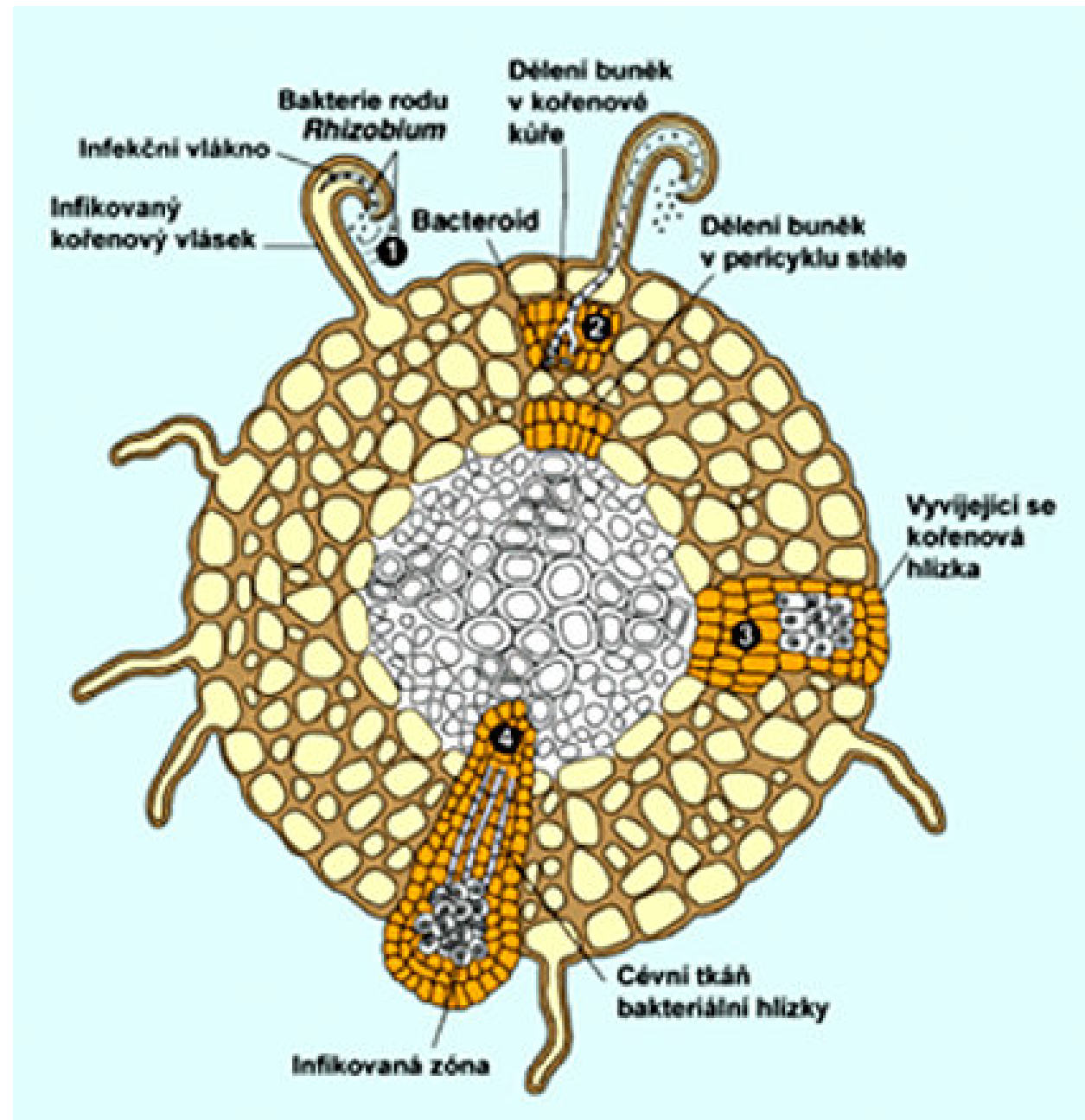
**Funkce MO:** humifikace, mineralizace, produkce i spotřeba látek, fixace  $N_2$  (volná a pevná symbióza), koloběh prvků, bioremediace



**Průkaz MO** → charakteristické reakce (redukce  $SO_4$ , rozklad močoviny, fixace  $N_2$ )

- Výskyt patogenů primárních (*Clostridium*) i oportunních

# Symbiotická fixace dusíku





## POSTUP

- ***Clostridium*** – 10 g půdy + 100 ml destilované vody → třepání 10 min
  - filtrace extraktu přes dvojitý filtrační papír (vrchní část extraktu) do baňky
  - přelít do zkumavky → 15 min vodní lázeň, 75-80°C
  - 1 ml extraktu pipetovat do sterilního MPB
  - převrstvit 1 ml sterilního parafínu
- ***Azotobacter*** – popsat misku na dno
  - nadrobit půdu na misku, neotáčet!!
- **Celulolytické MO** – plastové misky, popsat víčko
  - trochu udusat, přiložit lístečky (buničina, noviny, filtrační papír) a navlhčit půdu i lístečky v misce vodou
- **!! Hodnocení** – *Clostridium*, *Azotobacter* – po týdnu
  - celulolytické MO – po 1., 2. a 3. týdnu kultivace