

Živá půda 2. Půdní prokaryota – v jednoduchosti je síla

Ve druhém dílu seriálu Živá půda se zaměříme na půdní prokaryota. Jsou to vývojově nejstarší, nejmenší a zároveň nejpočetnější organismy půdního ekosystému. Termín zahrnuje mikroorganismy, které mají prokaryotickou stavbu buňky a dělí se na dvě domény života – bakterie (*Bacteria*) a archea (*Archaea*). Doposud bylo popsáno asi 15 tisíc druhů prokaryot, ale odhaduje se, že jich na Zemi žije přes 10 milionů. Velká většina dosud nebyla izolována z prostředí, kultivována v laboratorních podmínkách, a nebyla tedy ani popsána a zařazena do systému organismů, ani není známa jejich funkce v ekosystému.

Prokaryota jsou nejrozmanitější a nejpočetnější buněčné organismy ve všech prostředích, nejen v půdě, což svědčí o tom, že jde o evoluci prověřenou a úspěšnou formu života. Jsou schopné se nejrychleji reprodukovat, mají relativně největší aktivní povrch těla a hlavně nejpestřejší spektrum metabolismu ze všech organismů vyskytujících se na Zemi. Tyto vlastnosti také vysvětlují jejich nezastupitelnou úlohu v rozkladu a mineralizaci organické hmoty i klíčovou roli v přeměnách anorganických látek, a tím v tocích živin a planetárních biogeochemických cyklech. Prokaryota jsou typickou součástí života rostlinných i živočišných makroorganismů, s nimiž vstupují do široké škály interakcí, od oboustranně prospěšné symbiózy až po nežádoucí parazitismus způsobující těžká onemocnění i smrt hostitele. Podle endosymbiotické teorie se z nich vyvinuly organely eukaryotických buněk, mitochondrie a chloroplasty.

Tělem prokaryot je jediná buňka o průměrné velikosti do několika μm , která je schopna samostatného života nezávisle na jiných buňkách. Význam hlavních buněčných struktur prokaryotické buňky si můžeme přiblížit v kontextu života v půdě. DNA prokaryotické buňky je uspořádána do jediného chromozomu, tvořícího s jadernými proteiny jadernou hmotu, volně uloženou v cytoplasmě. Menší kruhové

molekuly DNA, které nejsou součástí chromozomu, se nazývají plazmidy. Ačkoli plazmidy nepředstavují nezbytnou buněčnou výbavu, jsou pro bakterie i archea významné, zpravidla doplňují genetickou výbavu ve stavu nouze. Ten nastává např. při kontaminaci půdního prostředí toxickou látkou – geny nesené na plazmidech umožní rozklad nebo aktivní vypuzení toxické látky ven z buňky. V případě nouze si prokaryota mezi sebou mohou za vhodných podmínek plazmidy vyměňovat, a to i mimo matečnou linii, tzv. horizontálním přenosem genů. V cytoplasmě jsou dále volně uloženy ribozomy s charakteristickou velikostí a strukturou, obsahující ribozomální proteiny a rRNA. Specificky se tak odlišují od větších eukaryotických ribozomů. Zajišťují proces translace, syntézy podle záznamu z mediátorové mRNA. Ribonukleová kyselina malé ribozomální podjednotky 16S rRNA slouží jako vhodná molekula pro studium fylogeneze prokaryot. Je v dostatečném množství přítomna v každé buňce, která je schopná proteosyntézy, a má vysoce konzervativní úseky. Právě díky ní byla rozpoznána velká evoluční vzdálenost mezi archei a bakteriemi a prokaryota byla rozdělena na dvě samostatné domény.

V cytoplasmě se mohou akumulovat různé granule zásobního materiálu. Půdní prokaryota se často musejí vyrovnávat

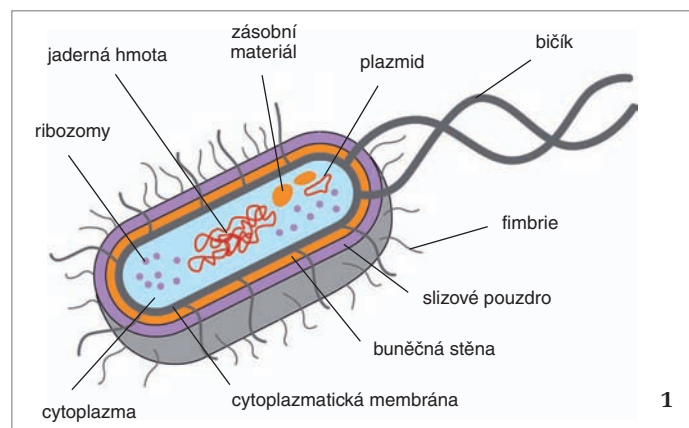
s proměnlivou dostupností potřebných živin. Zásoby si však umějí tvořit v období nadbytku jen některé skupiny prokaryot, ty pak mají v případě nedostatku zdrojů z vnějšího prostředí strategickou růstovou výhodu. Důležitou rezervu tvoří uhlík v podobě polyhydroxyalkanoátů a glykogenu, fosfor ve formě polyfosfátových zrn nebo sírné granule běžné u bakterií využívajících jako zdroj elektronů sirovodík. Buňky některých fototrofních bakterií a archei obsahují chlorozomy tvořené fotopigmenty.

Cytoplazmatická membrána (CPM) je jedinou biologickou membránou chránící vnitřní obsah prokaryotické buňky a zároveň strukturou komunikující s vnějším prostředím. V principu má stejnou stavbu jako jiné biologické membrány, jde o fluidní fosfolipidovou dvojvrstvu prostoupenou membránovými bílkovinami, zajišťujícími výměnu látek, energie a informací mezi vnějším a vnitřním prostředím, od enzymatických a transportních aktivit po přeměnu energie. Specifickým rysem bakterií je velká pestrost membránových fosfolipidických mastných kyselin a schopnost měnit jejich složení v závislosti na měnících se podmínkách prostředí (např. velké teplotní výkyvy, zhoršené provzdušnění půdy, přítomnost nežádoucích látek), aby si CPM udržela optimální fluiditu a zůstaly zachovány všechny funkce s ní spojené. Také cytoplazmatická membrána archei má specifické vlastnosti, které významně zvyšují stabilitu CPM a celkovou

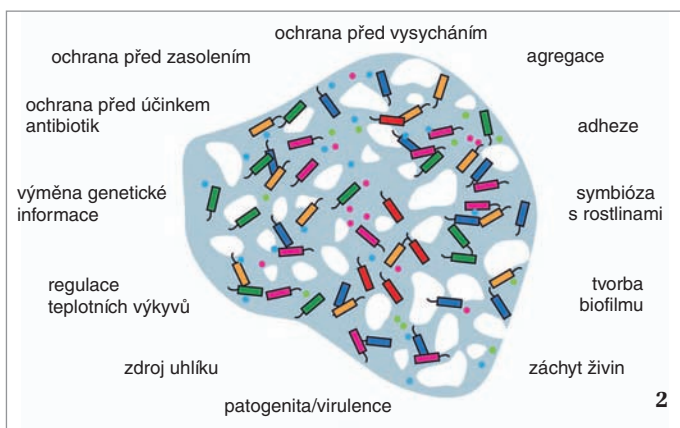
1 Schéma stavby prokaryotické buňky a jejích hlavních buněčných struktur.

Přes zdánlivou jednoduchost je každá prokaryotická buňka složitou biochemickou „továrnou“, v níž v každém okamžiku probíhají tisíce procesů. Je také samostatnou živou entitou, která se musí umět vyrovnat se všemi vlivy vnějšího prostředí a zajistit pokračování života v dalších generacích dceřiných buněk.

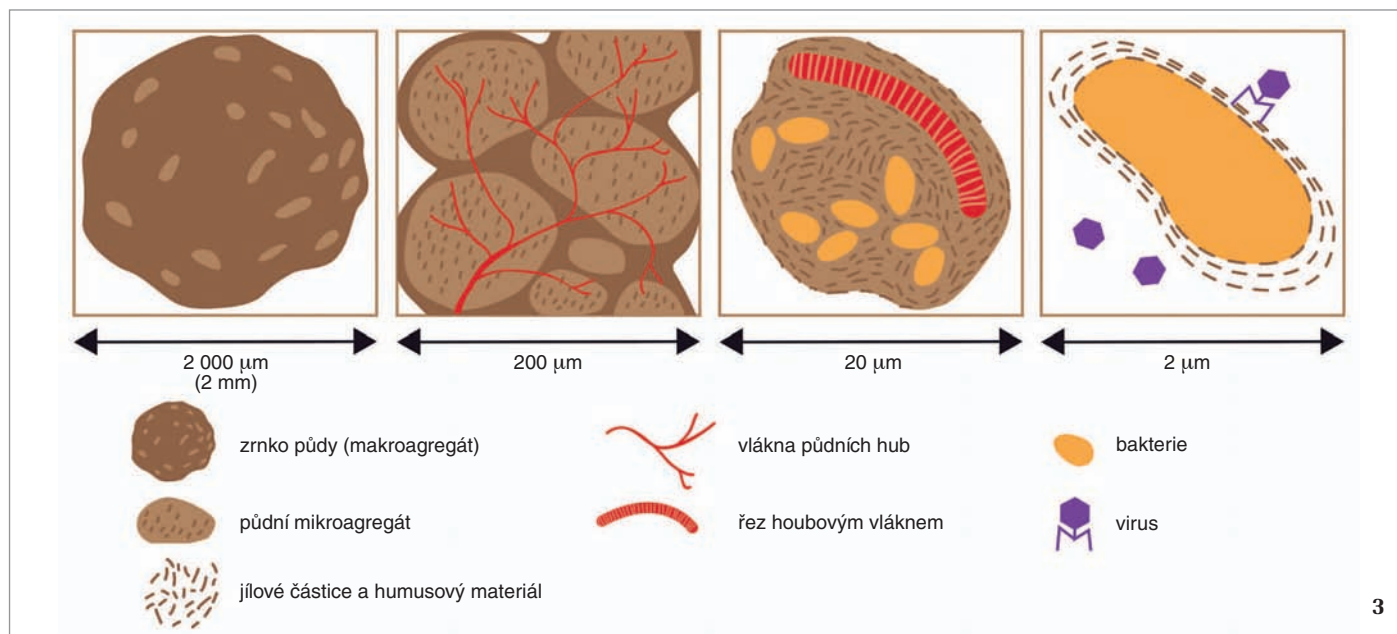
2 Funkce exopolymerního materiálu v půdě. Extracelulární polymerní látky, produkované kromě jiných organismů také prokaryoty, jsou zásadní pro život v půdě – poskytují ideální prostředí pro chemické reakce, zachycování živin, ochranu půdním mikroorganismům před stresy v prostředí, dále usnadňují biologické interakce buněk a významně přispívají k zlepšení agregace půdních částic, což je důležitý faktor pro strukturu půdy, její zdraví a plodnost. Upraveno podle: O. Y. A. Costa a kol. (2018)



1



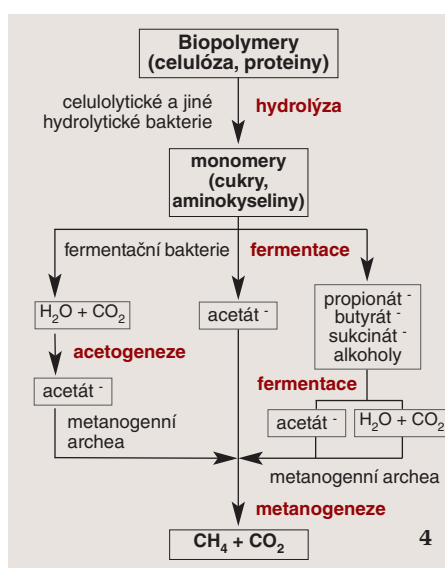
2



odolnost buňky k extrémním podmínkám prostředí. Tyto vlastnosti jsou navíc unikátní pouze pro archea. Základní strukturní jednotku CPM archeí představují izoprenoidní řetězce, které se éterovou vazbou pevně vážou na kostru glycerolu, na rozdíl od méně odolné esterové vazby mastných kyselin v membránových lipidech ostatních organismů. Izoprenoidní řetězce mohou být navíc propojeny napříč membránovou dvojrůstvou do velmi stabilní jednovrstvy, typicky u hypertermofilních archeí nacházejících se např. v půdách kolem větradelních pramenů.

Buňky většiny bakterií jsou dále odděleny od vnějšího prostředí buněčnou stěnou. Ta dává buňce určitý tvar a chrání ji před vnějším mechanickým i chemickým poškozením, případně i radiací, a podílí se na vyrovnávání osmotických tlaků, což je velmi důležité při extrémních výkyvech půdní vlhkosti. Buněčná stěna obsahuje poměrně velké póry, kterými může difúzí procházet většina látek s výjimkou makromolekul. U prokaryot je v principu dvojího druhu, grampozitivní (G^+) a gramnegativní (G^-), podle diagnostického barvení podle Hanse Christiana Grama, dánského vědce a autora této základní bakteriologické techniky. Stěna G^+ je asi 40krát silnější než stěna G^- bakterií (80 nm versus 2 nm). Výjimku tvoří mykobakterie s velmi silnou a odolnou buněčnou stěnou s vysokým obsahem specifických mastných mykolových kyselin a vosků, které se postupem podle Grama nezbarví. Buněčnou stěnu tvoří bakterie kmene *Tenericutes* (nejznámější je rod *Mycoplasma*) a archea rodu *Thermoplasma* žijící v kyselých horkých půdách. Podobnou strukturu (nikoli však složení) buněčné stěny jako u grampozitivních bakterií najdeme také u archeí. Důležitou a specifickou komponentou bakteriální stěny je peptidoglykan, u archeí pseudopeptidoglykan.

Vně buněčné stěny může být povrch buňky chráněn slizovou vrstvou tvořenou polymerním materiálem obsahujícím zejména polysacharidy; pokud je silně kondenzovaná, nazýváme ji pouzdrem, je-li tvořena pouze síťovinou vláken, pak glykokalyxem. Tyto struktury zajišťují důležité



vlastnosti dané buňky a jsou zásadní i pro celou řadu významných půdních procesů. Exopolymerní slizový materiál zajišťuje buňce adhezi k živým i neživým povrchům, kolonizaci hostitele, tvorbu biofilmu, interakci s rostlinnými kořeny, vhodné prostředí pro výměnu genetické informace, skvělé prostředí pro záchyt živin, a naopak ochranu proti různým vnějším stresům, jako je vysychání nebo účinky antibiotik a těžkých kovů. V době nedostatku se může stát zdrojem živin a energie pro vlastní buňku, ale i jiné organismy. Mezi nejvýznamnější funkce pak patří jeho stmelovací efekt napomáhající tvorbě půdních agregátů a podporující biologickou aktivitu půd (obr. 2).

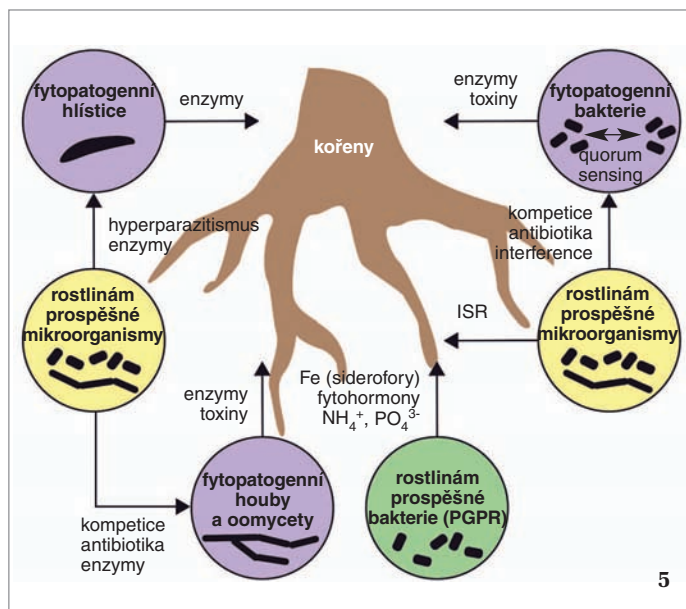
Prokaryotická buňka interaguje s vnějším prostředím také prostřednictvím různých typů fimbrií (vláken, pilů), které jsou důležité pro přichycení k jiné buňce nebo povrchu a mohou sloužit i jako vstup pro viry. Bičíky slouží bakteriím i archeím jako pohybový aparát a umožňují buňce ve vhodných podmínkách poměrně značnou rychlost až $50 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ (pohybuje-li se bakteriální buňka o velikosti 2 μm rychlostí $50 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, je to jako kdyby se člověk s výškou 1,8 m pohyboval rychlostí 45 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$).

3 Mikroměřítko – život prokaryot v zrnku půdy. Představu o velikostních poměrech vzhledem k prokaryotické buňce v půdě si můžeme udělat, pokud se podíváme, co všechno skrývá zrnko zahradní půdy menší než špendlíková hlavička (o průměru necelých 2 mm a hmotnosti 3 mg). Při 10násobném zvětšení zjistíme, že se zrnko půdy skládá z mikroagregátů o velikosti zhruba 100 μm , které jsou stmeleny exopolymerními slizy (obr. 2) a protkané vlákny půdních hub a vláknitých bakterií. Zvětšíme-li mikroagregát 10 $\times$, vidíme, že je tvořen organickým detritem, minerálními částicemi a mikrobiálními buňkami.

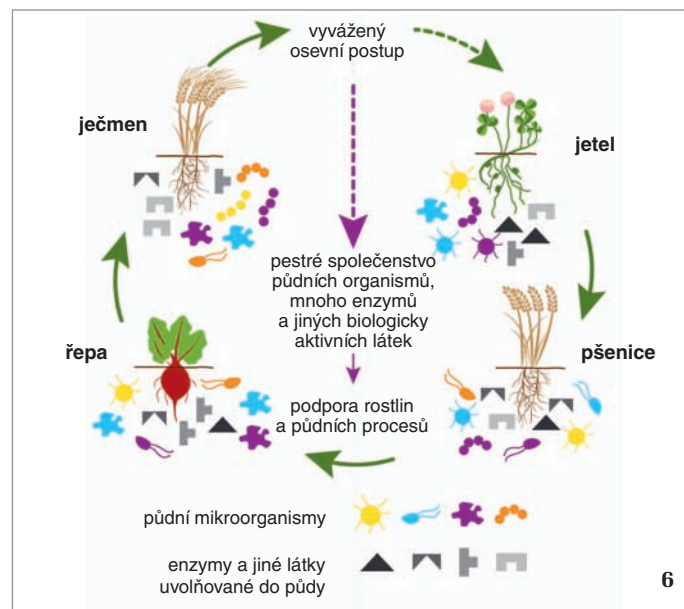
Když přiblížíme pohled do půdního zrnka celkově tisíckrát, dostáváme se na úroveň prokaryotické buňky, oklopené ještě o řád menšími jílovými částicemi, mikrobiálním detritem a viry. Při postupném zvětšování vychází najevo složitá struktura vnitřního prostředí a přítomnost tisíců mikroorganismů v malém půdním agregátu.

4 Průběh rozkladu organických látek, fermentace a tvorba metanu za nezbytné účasti půdních anaerobních prokaryot. Biopolymery jsou nejprve účinkem exogenních enzymů (vyskytujících se v půdním prostředí) rozkládány na jednodušší látky, které již mohou být přijaty do buněk prokaryot. Činností bakterií i archeí jsou buď rozloženy na vodu (H_2O) a oxid uhličitý (CO_2), nebo fermentací přeměněny na jiné jednoduché sloučeniny a dále také na CO_2 a H_2O . Metanogenní archea mohou v anaerobních podmínkách produkovat i metan (CH_4). Ani metan nemusí být finálním produktem rozkladu opouštějícím půdu, neboť může být metanotrofními mikroorganismy využit a přeměněn na CO_2 (tento krok již na obr. není znázorněn). Minus (-) u sloučenin označuje meziproducty metabolismu.

5 Síť vztahů v oblasti rhizosféry. V odborné literatuře již bylo popsáno velké množství mikroorganismů, které pozitivně ovlivňují výživu a růst rostlin, a tyto děje byly zkoumány i na molekulu-



5



6

lární úrovni. Schéma mimo jiné ukazuje velkou skupinu bakterií (plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR, označenu zeleně), které rostlinu pozitivně ovlivňují přímo, např. zpřístupňováním dusíku skrze schopnost fixace N_2 (rody *Azotobacter*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Azoarcus*, *Herbaspirillum*, *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Frankia* aj.), zvyšováním dostupnosti minerálního a organického fosforu díky schopnosti jeho uvolnění do půdní vody (rody *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus* aj.), chelataci – vazbou železa pomocí sideroforů (rody *Pseudomonas*, *Streptomyces*) či produkci fytohormonů (rody *Azospirillum*, *Burkholderia*). Rostlinám prospěšné jsou také skupiny mikroorganismů (označeny žlutě), které inhibují růst rostlinných patogenů (fialově) např. produkci antimikrobiálních látek (rody *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Stenotrophomonas*, *Serratia*, *Paenibacillus*) nebo produkci enzymů narušujících povrchy patogenních hub, hlístic i bakterií (rody *Streptomyces*, *Gluconoacetobacter*) a rušením komunikace v populaci patogenu rozkladem jeho signálních molekul používaných pro dorozumívání (quorum sensing). Opmenout nelze ani bakterie parazitující na rostlinných parazitech (hyperparazitismus, *Pasteurella penitans*) a dále rhizosférické mikroorganismy, které navozují indukovanou systémovou rezistenci (ISR) rostlin svými povrchovými strukturami nebo metabolity. Rostlina je následně odolnější k patogenům a parazitům. Typů vzájemných vztahů je mnoho a jednotlivých interakcí existuje nepřeberné množství.

6 Interakce mezi plodinami a půdou. Promyšlený osevní postup zajišťuje pestré složení látek uvolňovaných rostlinnými kořeny, pestré společenstvo půdních organismů, vyváženou minerální výživu plodin a vysoký stupeň jejich ochrany před fytoparazitickými organismy a chorobami. Orig. autoři článku, pokud není uvedeno jinak

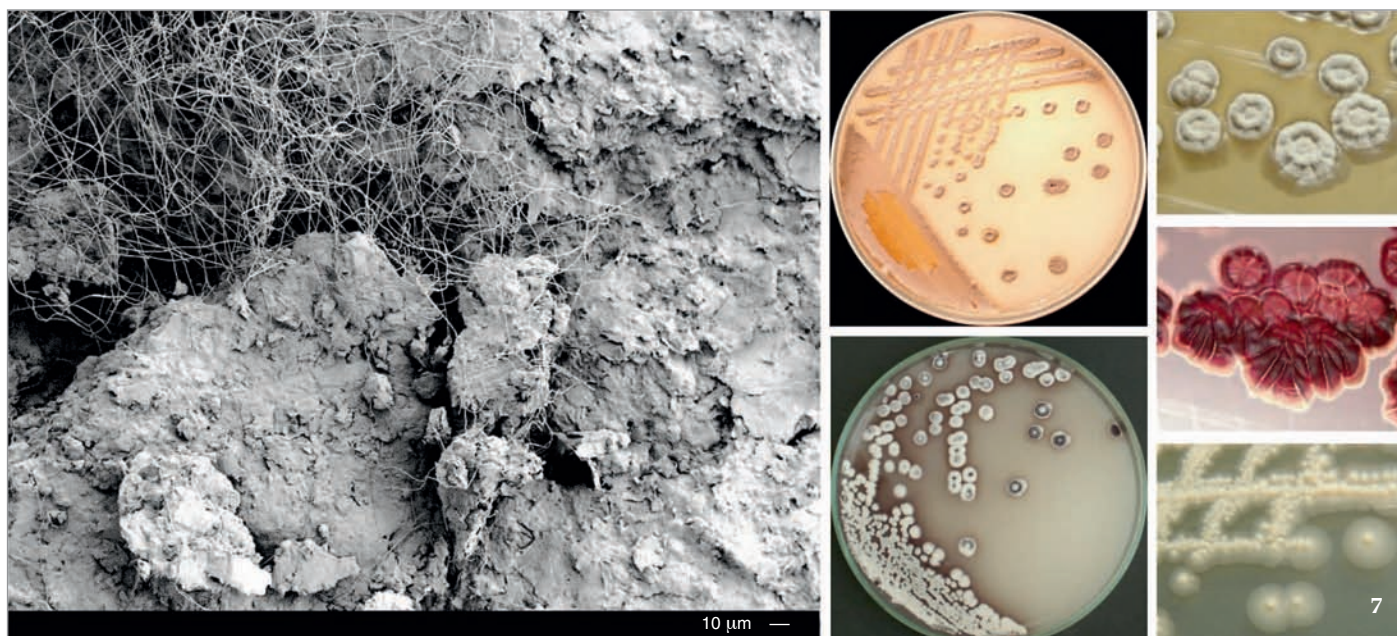
Prokaryota se rozmnožují jen nepohyblivě, nejčastěji binárním dělením. Generační doba, kdy se z mateřské buňky stávají dvě dceřiné, může za optimálních podmínek trvat pouhých 15 minut. Rychlému rozmnožování napomáhá právě relativně jednoduchá stavba prokaryotické buňky, umožňující nekomplikované spřažení přenosu genetické informace z DNA do RNA a do podoby proteinů, a to vše probíhá v cytoplazmě bez překonávání vnitřních bariér. Podobně i při vlastním buněčném dělení prokaryotická buňka na rozdíl od eukaryotické nemusí odstraňovat a předělovat jadernou obálku ani replikovat organely vázané na membránu. Prokaryota mohou získat i cizorodou DNA, a to konjugací (předáním plazmidů mezi různými i nepříbuznými buňkami), transdukcí (vírovou infekcí) nebo transformací (přijetím extracelulární DNA z prostředí), a mechanismem rekombinace ji přijmout do svého genomu nebo ji uložit na plazmidu, kde se tak stává součástí mobilního genomu (mobilomu).

Tvar prokaryotických buněk je různý, i když morfologická diverzita je ve srovnání s eukaryoty malá. Archea mají tvar koků, tyčinek, krátkých vláken, jehlanů, kostek nebo výjimečně jiných tvarů, které mohou dále utvářet shluky buněk a biofilmy. Bakterie mají nejčastěji tvar koků a různě tvarovaných tyčinek, které se mohou shlukovat. Typická velikost tyčinkovitých buněk je 0,5–1,5 µm v průměru a 1–4 µm na délku, zatímco průměr koků bývá do několika µm. Některé bakterie jsou vláknité – typicky např. určité skupiny aktinobakterií. Buňky ve vlákně nejsou odděleny, vlákna jsou mnohojaderná a ke vzniku přepážek dochází pouze při sporulaci, tedy při tvorbě klidových buněčných forem – spor. Bakteriální klidová stadia se obecně vytvářejí při zhoršení podmínek prostředí, nejčastěji při snížení koncentrace živin nebo při vysychání půdy. Lze je rozdělit na endospory, exospory a cysty. Endospory vznikají uvnitř mateřské bakteriální buňky, jež se během asi 10hodinového procesu sporulace postupně rozpustí. Vytvořená spora obsahuje dehydratovaný protoplast s nukleoidem, který chrání několik vrstev buněčných

obalů a vysoký obsah dipikolinátu vápenatého. Endospory jsou vysoce odolné proti extrémním teplotám, vysychání, radiaci a chemickým vlivům; obvykle je tvoří zástupci rodů *Bacillus* a *Clostridium*. Bakterie díky nim dlouhodobě přežívají napříč geologickým časem. V hlubokých podpovrchových sedimentech na hnědouhelných výsypkách jsme detekovali a oživilí bakterie z miocenního sedimentu o stáří minimálně 5 milionů let. Exospory vznikají na konci vláken (na sporoforech) již zmíněných aktinobakterií nebo plodniček myxobakterií. Některé bakterie jsou v nepříznivých podmínkách schopny snížit svůj metabolismus a vytvořit kolem buňky zesílenou buněčnou stěnu, často ještě chráněnou slizovým pouzdrém – příkladem jsou cysty bakterií rodu *Azotobacter* či akinety sinic. Ve srovnání s endosporami jsou ostatní klidová stadia bakterií méně odolná, nicméně schopná přežít v nepříznivých podmínkách mnoho let. Na rozdíl od bakterií poskytuje buněčná stavba archeí významně odolnější ochranu před vnějšími vlivy a tvorba spor u nich nebyla prozatím prokázána. Některé druhy bakterií jsou pleiomorfní, tvar jejich buněk se může měnit v závislosti na různých faktorech vnějšího prostředí. V půdě tuto schopnost mají např. dravé myxobakterie.

Heterogenita půdního prostředí podporuje diverzitu prokaryot

Ačkoli morfologická diferenciací půdních prokaryotických buněk je omezená, jejich funkční diverzita, zahrnující všechny typy metabolismu (viz tab. 2 v prvním dílu a podrobněji také 6. díl), které se během evoluce prokaryot vyvinuly, vše vynahradí. Každý půdní agregát může představovat unikátní prostředí pro rozvoj specifických vlastností nejmenších půdních organismů. Půdní agregáty jako funkční biologické entity jsou asociace životaschopných mikroorganismů, organických materiálů v různých stadiích rozpadu a minerálních částic (obr. 3). Jejich součástí je i půdní voda a půdní vzduch. Představují organizovanou mikrostrukturu, lišící se vnitřním prostředím od okolní půdy. Uvnitř agregátů se nacházejí refugia specifických



mikrobiálních společenstev, chráněných před predátory, která jsou zároveň dočasně izolována od vnějšího prostředí a tvoří unikátní mikroprostředí gradientů nejrůznějších fyzikálních a chemických charakteristik umožňujících specifické biochemické procesy. Stabilita agregátů není trvalá, po určité době se rozpadají a vytvářejí nové entity skýtající nové možnosti interakcí, ale i vhodné evoluční podmínky. Jejich dynamika pozitivně ovlivňuje biodiverzitu a biologickou aktivitu půdy. Samotné mikroorganismy zároveň významně ovlivňují dynamiku agregace. Tyto procesy se mění v prostoru a čase, řídí tok energie a přeměnu i dostupnost živin v půdách. Zaživací trakty půdních živočichů jsou dalším specifickým prostředím půdních prokaryot. Především u živočichů žijících se rostlinnými zbytky, které představují hlavní zdroj organické hmoty v půdě, dochází k selekci prokaryot schopných rozkládat těžko rozložitelné polymery a k jejich koncentraci v určitých částech trávicího systému, kde slouží jako zásobní inokulum. Populace mikrobiálních rozkladačů se dostávají do prostředí na vylučovaných peletkách ne strávené potravy, porůstají a prorůstají je a zlepšují tak jejich stravitelnost, výživovou hodnotu i atraktivitu pro další konzumenty. Ať už uvnitř zaživacího traktu, nebo mimo něj prokaryota dokončují rozklad veškeré organické hmoty na minerální živiny, včetně obecně těžko rozložitelných biopolymerů. Účastní se rozkladu a přeměn organické hmoty v celém jejich průběhu; významnými spolupracovníky jsou jim půdní houby a živočichové, nicméně hlavně v anaerobním prostředí (typicky v půdě rašeliníšť, mokřadů, sedimentů aj.) jsou nezastupitelnou skupinou. Půdní mikroorganismy vytvářejí s půdními živočichy bezprecedentní společenstvo pro rozklad odumřelé hmoty až na jednoduché živiny i transformaci na humusové látky (jejich vznik a význam byl popsán v prvním dílu). Aktivita půdních organismů je tak sehraná a navazující a většina lidí si ani neuvědomuje, jak složité procesy pod povrchem půdy probíhají.

Ohromná pestrost půdních bakterií i archeí jako celku je podporována vysokou heterogenitou samotného půdního prostředí, na které se prokaryota dokážou dobře adaptovat. Prokaryota, s velmi jednoduchou stavbou těla a její nízkonákladovou údržbou, schopností přežít i v hraničních extrémních podmínkách a naopak schopností rychlého rozmnožování, jsou soce aktivní v komunikaci s prostředím, s největším aktivním povrchem těla vzhledem k jeho objemu, vyvinuly nespočet mechanismů pro osídlování prostředí. Při kolonizaci neoživených půdních substrátů v procesu pedogeneze představují pionýrské skupiny, které dokážou přežít nehostinné poměry a připravit podmínky pro vyšší organismy, především rostliny. Pro život v extrémních podmínkách jsou vybaveny slizovým pouzdem proti vysychání, ochrannými pigmenty proti UV záření, dalšími foto- a kryoprotektivními mechanismy, výkonnými reparačními systémy, tvorbou širokého spektra zásobních látek, schopností tvorby klidových stadií, nezávislostí na organických zdrojích uhlíku a dalších biogenních prvců, zejména schopností fixace vzdušného dusíku. Podobně adaptovaná jsou prokaryota v půdách ekosystémů, kde je růst cévnatých rostlin značně omezený nebo nemožný, např. v polárních a pouštních oblastech a v nejvyšším (niválním) vysokohorském pásmu.

Vnější a vnitřní tlakům jsou vystavena i prokaryotická společenstva vyvinutých půd s bohatým rostlinným pokryvem, neboť půdní prostředí je neustále obohacováno prokaryoty, která vstupují do půdy s nejrůznějšími typy organické hmoty rostlinného i živočišného původu. Půdní mikroorganismy tak můžeme rozdělit do dvou základních kategorií – autochtonní (domorodé, rezidentní) a zymogenní, alochtonní (cizorodé, tranzientní). Půdní společenstvo mikroorganismů (mikrobiom) se neustále obohacuje a jeho živí představitelé jsou podrobováni filtraci prostředím a selektivnímu výběru v rámci konkurenčních a jiných interakcí mezi sebou. Výjimečné postavení mezi půdními sférami skýtá pro prokaryota rhizosfé-

7 Půdní aktinobakterie. Sít mikroskopických vláken aktinomycet v jejich přirozeném půdním prostředí zachycená elektronovou mikroskopií (černobílý snímek). Makroskopické kolonie aktinobakterií izolovaných z půdy na živná média (barevné snímky). Zobrazené kultury aktinobakterií jsou součástí Sbírký půdních aktinomycet BCCO (Biology Centre Collection of Organisms; www.actinomycetes.cz) a Sbírký půdních bakterií BCCO (www.soilbacteria.cz) spravovaných Ústavem půdní biologie Biologického centra Akademie věd ČR v Českých Budějovicích. Foto: V. Křišťůfek a J. Němec, archiv BC AV ČR

8 Početnost dominantních půdních bakteriálních fylogrup reprezentujících bakteriální kmeny napříč planetou (A; upraveno podle M. Delgado-Baquerizo a kol. 2018) a v půdách ČR s odlišným vegetačním pokryvem (B, zde jsou zahrnuty i dominantní kmeny archeí). Kombinace půdotvorných faktorů včetně vegetace tvoří půdní vlastnosti, např. pH, obsah živin nebo dostupnost kyslíku, což jsou parametry, které do značné míry určují složení společenstev půdních prokaryot. V zemědělských půdách představuje významný regulační faktor také jejich management včetně střídání plodin, hnojení, aplikace pesticidů, mechanické kultivace aj. V porovnání s celosvětovým rozšířením bakterií je zřejmý menší podíl zástupců kmene *Actinobacteria*, a naopak větší podíl zástupců kmene *Acidobacteria* v našich půdách. Rozdíl je pravděpodobně způsobený výběrem studovaných ploch, resp. omezeným spektrem dosud prozkoumaných českých půd. Zdroj dat: R. López-Mondéjar a kol. (2015), L. Žifčáková a kol. (2016), A. Chroňáková a kol. (2015 a 2019), E. Pérez-Valera a kol. (2019) a P. Sardar a kol. (nepublikovaná data)

ra, oblast kolem kořene rostlin, kde se potkává začátek a konec půdního potravního řetězce. Hlavní terestriční producenti – rostliny, uvolňující kořeny část svých asimilátů, které představují snadno dostupné

a bohaté zdroje organického uhlíku a energie – jsou zde v kontaktu s prokaryoty, posledním článkem rozkladu veškeré organické hmoty, který rostlinám zpřístupňuje minerální živiny. Rhizosféra je proto prostředím charakteristickým vysokou bohatostí, ale i specializací vzájemných vztahů mezi rostlinou, prokaryoty i ostatními rhizosférymi organismy (obr. 5).

Pokud přirozeně pestrá rostlinná společenstva nahradíme monokulturou zemědělských plodin, síť vztahů v půdě a její dynamická rovnováha se naruší. V takovém případě musí hospodář nahradit do jisté míry přírodu a dodržovat určitá pravidla, zejména vhodný osevní postup, aby alespoň částečně do půdy vrátil rovnovážnou dynamiku zaručující pestré půdní společenstvo a s ním vyrovnanou dostupnost živin potřebných pro rostliny (obr. 6).

Jak velká je rozmanitost půdních prokaryot na planetě Zemi, se můžeme stále jen dohadovat, ačkoli díky technickým možnostem, především studiím založeným na velkokapacitních analýzách sekvenace DNA, se daří objevovat stovky zcela nových zástupců obou domén prokaryot. Bohužel jen nepatrnou část z nich lze izolovat a rozmnožit mimo jejich přirozené prostředí, a podrobně tak studovat všechny jejich vlastnosti a funkce.

Jako poznámku doplňme, že popisy nových taxonů a změny zařazení stávajících se řídí mezinárodními pravidly nomenklatury prokaryot (International Code of Nomenclature of Prokaryotes, ICNP) a jsou průběžně publikovány. Aktuální verze taxonomického systému je k dispozici na webových stránkách a kompletní přehled je pravidelně, ale s delšími časovými intervaly zveřejňován v knižních sériích *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (vychází od r. 1923) a *The Prokaryotes*. Taxonomie a klasifikace archeí se průběžně vyvíjí díky novým kulturám z různorodého prostředí a metagenomickým datům ve veřejně dostupných databázích (např. The National Centre for Biotechnology Information, NCBI, www.ncbi.nlm.nih.gov), které dovolují nahlédnout do metabolického potenciálu zatím nekultivovatelných archeí.

Bakterie – nejpočetnější skupina půdních prokaryot

Doména bakterie se podle taxonomického systému přijímaného v současnosti dělí na 30 kmenů, u dalších asi 50 potenciálních kmenů dosud nebyl získán životaschopný izolát, a nelze je tedy platným způsobem popsat a zařadit. Diverzita půdních bakterií studovaná v r. 2018 (Delgado-Baquerizo a kol.) na velkém souboru půd z celého světa (237 lokalit napříč 6 kontinenty) ukazuje, že z 30 dosud popsaných bakteriálních kmenů je v půdách pravidelně zastoupeno 9 dominantních, reprezentujících alespoň 2 % relativní abundance (obr. 8).

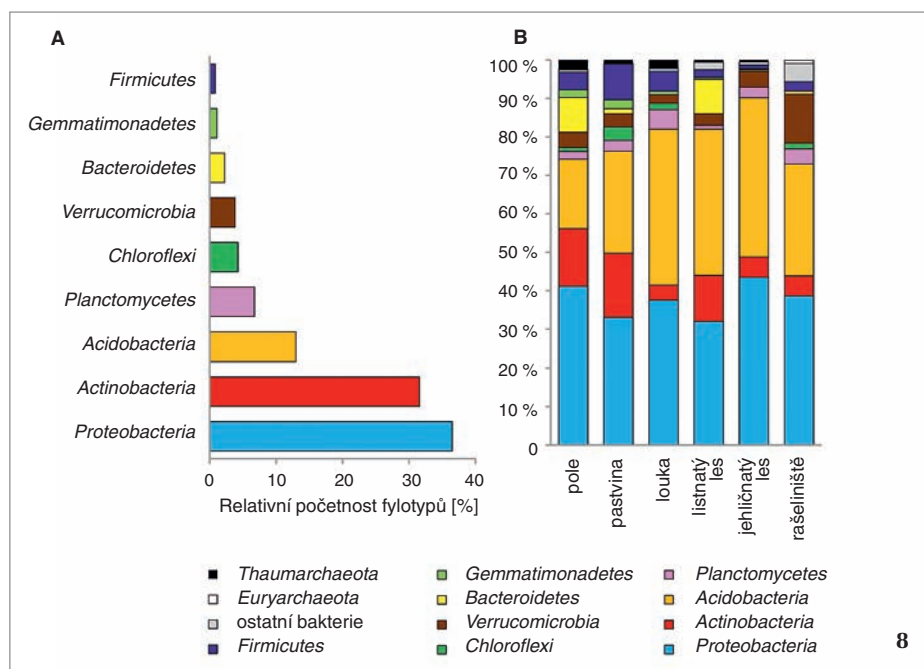
Mezi dominanty půdních mikrobiálních společenstev patří zástupci G⁻ bakterií z kmene *Proteobacteria*. Nejčastěji jde o třídu *Alphaproteobacteria*, typickou pro volnou půdu i rhizosféru, schopnou ovlivňovat rostlinný růst. Příkladem jsou symbiotická rhizobia, vyvolávající transformaci rostlinné buňky a tvorbu hlízek na kořenech, v nichž fixují atmosférický dusík a podporují tak výživu a růst hostitelské rostliny; naopak patogenní zástupci rhizobií bývají příčinou nežádoucích rostlinných tumorů. Patří sem také aerobní metanotrofní bakterie (např. čeleď *Beijerinckiaceae*), které významně přispívají ke spotřebě metanu v půdě (snižují tak emise tohoto skleníkového plynu do atmosféry). Zástupci rodu *Sphingomonas* vynikají schopností rozkládat složité aromatické látky, a jsou proto využíváni při remediacích kontaminovaného prostředí. Půdní zástupci třídy *Betaproteobacteria* představují funkčně velmi různorodou skupinu s většinou známých metabolických strategií, významně zasahují do cyklů dusíku, síry a dalších prvků v půdě, ovlivňují půdní reakci. Příkladem je řád *Nitrosomonadales*. Třída *Gammaproteobacteria* sice nepatří mezi nejpočetnější půdní bakterie, ale vzhledem k jejich snadné kultivaci náleží k nejlépe prostudovaným skupinám. Mezi nimi se nacházejí i modelové bakterie, jako je rod *Escherichia*, typický pro zažívací trakty živočichů, nebo typické půdní bakterie rodu *Pseudomonas*

a *Azotobacter*. Třída *Deltaproteobacteria* zahrnuje pro půdu významné skupiny bakterií redukcí sulfát (např. řád *Desulfovibrionales*) a nesmírně zajímavou skupinu pohyblivých se myxobakterií (řád *Myxococcales*) typickou pro půdy, s vnitřní komunikací, specializací a koordinací buněk schopných bakteriální predace, připomínající „lov smečky“, ale i přizpůsobení se nepříznivým podmínkám tvorbou plodniček nesoucích odolné klidové myxospory. Typická je enormně bohatá genová výbava, projevující se širokým spektrem rozkladných enzymů i bioaktivními produkty sekundárního metabolismu.

Kmen *Actinobacteria* je další stabilní a typickou skupinou bakterií rozšířenou v půdách celého světa. Pro tyto G⁺ bakterie je specifické vysoké zastoupení guaninu a cytozinu v chromozomální DNA. Typická je pestrá buněčná morfologie včetně tvorby pseudomycelia (obr. 7) a spor, velký genom umožňující adaptace na různé podmínky prostředí a jejich změny, široké spektrum regulačních genových mechanismů a také bohatý sekundární metabolismus, který proslavil rod *Streptomyces* jako producenta více než dvou třetin klinicky využívaných nesyntetických léčiv s antibiotickým účinkem. Preferují půdy s neutrálním pH. Díky výjimečné schopnosti efektivně využívat organické polymery lignin, celulózu a chitin jako zdroj uhlíku patří aktinobakterie k nejvýznamnějším půdním rozkladačům rostlinných, živočišných a houbových zbytků. Jsou využívány také při bioremediacích (např. rod *Rhodococcus*) a zasahují do koloběhů mnoha živin. Vytvářejí široké spektrum specifických interakcí se všemi půdními mikro- i makroorganismy – od fixace molekulárního dusíku rodem *Frankia* v kořenových hlízkách olše a řady jiných rostlin přes zpřístupňování železa pomocí sideroforů a antagonismus s patogenními houbami až po produkci fyto toxinů a parazitismus. Endofytické druhy jsou využívány v praxi pro biologickou ochranu plodin před houbovými patogeny (např. *Streptomyces lydicus*).

Kmen *Acidobacteria* také patří mezi nejrozšířenější skupiny půdních bakterií na naší planetě. Jde o G⁻ bakterie upřednostňující kyselou půdní reakci typickou např. pro lesní půdy a rašeliniště. Vzhledem k jejich obtížné izolaci a kultivaci za laboratorních podmínek (rostou velmi pomalu a tvoří mikrokolonie) bylo popsáno zatím jen málo druhů a informace o jejich fyziologii i ekologii tedy většinou chybějí. Předpokládá se, že acidobakterie se významně účastní rozkladu organické hmoty a zpřístupňování živin v oligotrofních půdách s nízkým pH. Mají zřejmě velký potenciál pro bioremediace kontaminovaných půd.

Kmen *Bacteroidetes* tvoří G⁻ bakterie; tyto nesporeující tyčinky pokrývají celou škálu nároků na kyslík, od obligátních aerobů po obligátní anaeroby. Všechny čtyři známé řády, *Bacteroidales*, *Cytophagales*, *Flavobacteriales* a *Sphingobacteriales*, jsou pro cennou enzymatickou výbavu schopnou depolymerovat rostlinné polysacharidy jako celulózu, pektin, xylan aj. významné v půdě i v zažívacích traktech půdních živočichů. Někteří zástupci tohoto kmene jsou patogenní; silnou a bohatou



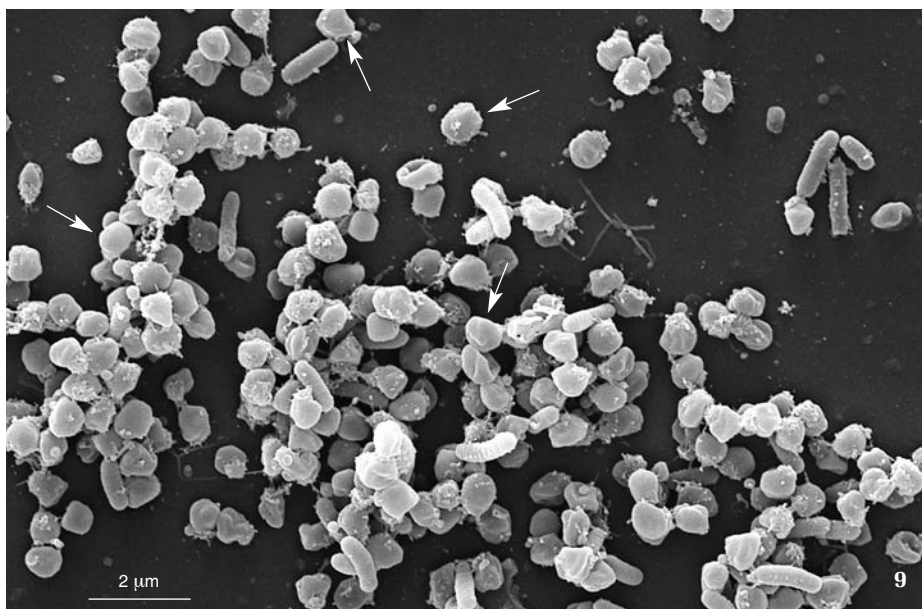
hydrolytickou výbavu využívají k napadání rostlin, řas, hub i živočichů.

Kmen *Firmicutes* zahrnuje G^+ bakterie, jejichž jedinečnou vlastností je schopnost tvořit endospory, mimořádně odolné dormantní formy, jejichž tvorba je typická pro zástupce řádů *Bacillales* a *Clostridiales*. Tato vlastnost jim v půdě zaručuje dlouhodobé přežívání i za velmi nepříznivých podmínek. Zástupci rodů *Bacillus* i *Clostridium* náležejí k typickým půdním izolátům, patří k nim nemnohé, zato významné lidské i zvířecí patogeny, schopné produkovat silné exotoxiny vyvolávající závažná onemocnění s vysokou úmrtností (především *B. anthracis*, *C. tetani* a *C. botulinum*). Entomopatogenní *B. thuringiensis* je součástí široce využívaných bioinsekticidů. Zástupci obou těchto řádů produkují extracelulární enzymy uplatňující se při rozkladu biopolymerů. Liší se nároky na kyslík, zástupci řádu *Bacillales* jsou aerobní nebo fakultativně aerobní, zástupci *Clostridiales* obligátně anaerobní. Některé druhy rodu *Clostridium* představují hlavní rozkladače celulózy v anoxickém prostředí zamokřených půd a trávicích traktů půdních bezobratlých.

Další bakteriální kmeny stabilně zastoupené v půdách celého světa jsou *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia* a *Gemmatimonadetes*. O jejich fyziologii a ekologii máme ale nedostatečné informace, jedním z důvodů je obtížné získávání kultivovatelných životaschopných izolátů. Nicméně výzkum ukazuje na jejich důležitou úlohu v transformačních cyklech živin (např. zástupci kmene *Planctomycetes* se aktivně účastní anaerobní nitrifikace), v interakcích se zoedafonem (*Verrucomicrobia* jsou symbionti protistů a hlístic) či v tvorbě půdních agregátů (*Gemmatimonadetes*). Zmíněn by měl být také kmen *Chloroflexi* (zelené nesírné bakterie), jelikož patří mezi 9 nejčteněji celosvětově zastoupených půdních bakteriálních kmenů, a kmen *Cyanobacteria* (sinice), jehož zástupci mají významné postavení v povrchových vrstvách mnoha půd i ve vodách a kterému bude společně s dalšími organismy věnován třetí díl tohoto seriálu. V obou případech jde o fototrofní bakterie využívající světlo jako zdroj energie v procesu fotosyntézy.

Archea – druhá doména půdních prokaryot

Zástupci archeí, jedné z nejstarších forem života, osídlují Zemi už více než 3,5 miliardy let. Kvůli své morfologické podobnosti s bakteriemi byla zpočátku označována jako archeobakterie a řadila se k bakteriím (obr. 9). Blíže známa byla pouze jediná skupina archeí produkujících metan (v literatuře dosud někdy chybně označovaná jako metanogenní bakterie). Na základě analýzy 16S rRNA a následujících objevů – neobvyklého složení lipidů v buněčných membránách, významné podobnosti RNA polymeráz archeí a eukaryot a specifického elongačního aparátu ribozomu, který nebyl podobný ani bakteriím, ani eukaryotům – se začalo uvažovat o archeích jako o třetí doméně buněčného života na Zemi. Dlouho panoval názor, že jde o extrémofilní mikroorganismy vyskytující se v prostředích nehostin-



ných pro jiné organismy včetně bakterií: v podmořských horkých vývěrech, ve vřídlech, v extrémně zasolených prostředích, v podmínkách velmi nízkého pH apod. V posledních asi 30 letech vyšlo ale najevo, že archeí existuje mnoho a že se nacházejí prakticky ve všech ekosystémech včetně běžných půd, kde bývá jejich podíl z počtu všech prokaryotických buněk většinou 0,1–10 %. Podle některých studií může být podíl archeí mezi prokaryoty v půdách listnatých lesů v mírném pásu mnohem vyšší (12–38 %), než jsou průměrné odhady pro půdy obecně; pro půdy boreálních lesů je významné také jejich hojné zastoupení v asociacích s kořenem rostlin a mykorrhizními houbami. Kvůli obtížné izolaci a kultivaci archea unikala pozornosti a pestrost a bohatost jejich společenstev se začala poodhalovat až s nástupem nových technik molekulární biologie a metod bioinformatiky. Jednotlivé vývojové linie archeí mohou upřednostňovat rozdílný způsob života včetně získávání energie a živin a jsou adaptované na rozmanité podmínky. Najdeme mezi nimi zástupce mezofilní i termofilní, anaerobní i aerobní, autotrofní i heterotrofní, volně žijící nebo symbiotické a dále např. syntrofní (využívání zdroje živin a energie dvěma nebo více organismy, které kombinují svůj metabolismus), acetogenní (produkce acetátu anaerobní respirací nebo fermentací) či metanogenní (tvorba metanu několika různými biochemickými drahami). Metabolické i fyziologické vlastnosti jsou v některých případech fylogeneticky ukotveny (např. metanogeneze a nitrifikační). Podle současných poznatků hrají archea významnou roli v cyklech dusíku a uhlíku ve všech ekosystémech, zejména díky schopnosti oxidovat amonné ionty, produkovat metan a také ho oxidovat v anaerobních podmínkách.

Taxonomie archeí dnes rozlišuje na základě fylogeneze ribozomálních sekvencí (16S rRNA) a genomických dat čtyři superkmene: *Proteoarchaeota*, *Euryarchaeota*, *Asgard* a *DPANN* (akronym odvozený z názvů části zastoupených kmenů). Většina půdních archeí patří do kmene *Thaumarchaeota* ze superkmene *Proteoarchaeota*.

9 Směsná kultura archeí a bakterií zachycená elektronovou mikroskopií. Sférické a kokální buňky archeí označeny šipkou, bakteriální buňky mají tyčinkovitý tvar. Foto A. Daebeler, Vídeňská univerzita, použito s laskavým svolením

Všichni doposud kultivovaní zástupci tohoto kmene nesou specifický membránový biomarker crenarchaeol. V aerobních podmínkách provádějí první krok nitrifikace (nitritaci, tedy oxidaci amonných solí na dusitany), a proto se v anglicky psané literatuře označují pojmem ammonia oxidizing archaea (AOA). Pro cyklus dusíku v mnoha půdách mohou mít AOA větší význam než „klasické“ nitrifikační bakterie z řádu *Nitrosomonadales* (AOB). Umožňuje jim to jejich vysoká afinita k substrátu a ke kyslíku a možnost tolerance extrémních teplot a pH (mají aktivní rozmezí pH od 3,6 do 8,7). Archea zajišťují nitrifikaci např. v kyselých lesních půdách, kde jsou jejich bakteriální protějšky limitovány nízkým pH.

Druhou hojně rozšířenou skupinou archeí v půdě jsou druhy ze superkmene *Euryarchaeota*. Zahrnují halofilní, termofilní nebo acidofilní extremofily (např. řád *Halobacteriales*, jehož zástupci se vyskytují na silně zasolených stanovištích s koncentrací chloridu sodného vyšší než 1,5 M, ca 9,5 % NaCl), a především velkou skupinu metanogenů. Metanogenní archea jsou obligátní anaerobové s unikátní schopností tvorby metanu. K tomu využívají substráty vznikající rozkladnými procesy a fermentací v anoxických prostředích, kde je metanogeneze posledním krokem v mineralizaci organické hmoty.

Typy metanogeneze

Nejrozšířenější a univerzální drahou je hydrogenotrofní metanogeneze a tvorba metanu redukcí CO_2 vodíkem. Touto cestou získává energii téměř 75 % metanogenů. Proces je významný v anaerobních prostředích, protože pomáhá udržovat nízkou hladinu H_2 a formiátu a zajišťuje proces mezidruhového přenosu elektronů. Přirozeným prostředím pro hydrogenotrofní metanogeny v našich klimatických

a geografických podmínkách jsou mokřady a rašeliniště; v šumavských rašeliništích převažují zejména proto, že jsou zde půdy velmi chudé na živiny. Ve druhé tzv. metylotrofní dráze je substrát částečně oxidován na CO_2 , a zbylé metylové uhlíky redukovány na metan. Tato metabolická dráha je častá v prostředích, kde vzniká dostatek metylovaných substrátů s jedním uhlíkem, a to jsou kromě mořských sedimentů hlavně intestinální trakty živočichů. Využívá ji asi 33 % známých metanogenů. S exkrementy a hnojem se metanogenní archea mohou dostávat do půdy a stát se stabilní součástí půdního společenstva a měnit jeho funkce (např. zvyšovat emisi skleníkových plynů v půdách výběhů hospodářských zvířat nebo pastevních půdách sloužících k přezimování venkovních chovů skotu). Třetí nejvýznamnější se vyskytující metabolická dráha se nazývá acetoklastická, kde jediným substrátem pro tvorbu metanu je acetát; může ji využívat jen omezené spektrum metanogenních archeí (asi 8 %). Metylový uhlík z acetátu je redukován na metan a karboxylový uhlík je oxidován na CO_2 . Acetoklastickou metanogenezi provádějí zástupci rodů *Methanosarcina* a *Methanosaeta*, přičemž *Methanosarcina* je univerzální – jako jediná dokáže produkovat metan pomocí všech tří jmenovaných metabolických drah. Reprodukční doba acetoklastických metanogenů je delší než u ostatních, a proto nedokážou konkurovat jiným mikroorganismům v prostředí s rychlým obrátem, např. v intestinálních traktách. Acetát představuje významný substrát pro metanogenezi tam, kde je přítomen ve vhodných koncentracích, zejména ve sladkovodních anoxických sedimentech, skládkách odpadů a v některých půdách. Všechny tři metabolické dráhy mají společný poslední krok, a to redukci metylkoenzymu M (metyl-CoM) na metan, prováděnou metyl-

koenzym M reduktázou. Gen kódující alfa podjednotku tohoto enzymu, označovaný *mcrA*, slouží jako velmi robustní a fylogeneticky vhodný molekulární biomarker metanogenů.

Metanogenní archea se tedy významně účastní cyklu uhlíku v mokřadech a rašeliništích, zatopené půdě, rýžových polích, bahně, sedimentech, ale také v zažívacích traktách živočichů a jiných anaerobních mikrostaništích. Metanogeneze je zřejmě nejstarší metabolická dráha zisku energie z molekul hojně obsažených v prehistorické atmosféře Země, která neobsahovala kyslík. Je to jediný biologický proces umožňující vznik metanu. Tento fenomén podporuje myšlenku, že archea patří mezi nejstarší formy života vůbec. Metanogeneze byla pravděpodobně společná pro všechna původní *Euryarchaeota*, během dlouhé evoluce však někteří její zástupci tuto schopnost ztratili. Většinu řadíme mezi *Euryarchaeota* (řády *Methanobacteriales*, *Methanococcales*, *Methanomicrobiales*, *Methanocellales*, *Methanomassiliicoccales*, *Methanosarcinales* a *Methanopyrales*), některé zástupce do dalších nových kmenů *Verstraetearchaeota* a *Bathyarchaeota*. Ačkoli jsou metanogenní archea v čistých kulturách extrémně citlivá k malému množství kyslíku, v přírodních habitatech přežívají ve specifických mikroprostředích, jako jsou oddíly trávicích traktů býložravých živočichů (bachor skotu, zadní střevo termitů a mnohonožek aj.). Ochranu před škodlivými účinky kyslíku zajišťuje také rychlá spotřeba kyslíku a vysoká metabolická aktivita aerofilních a mikroaerofilních bakterií a eukaryot i život ve složitých mikrobiálních konsorciích a biofilmech. Metanogenní mikroorganismy žijí také jako ekto- nebo endosymbionti protozoí či bakterií (*Methanoplanus endosymbiosis*, *Methanobacterium formicum*, zástupci rodu *Methanobrevibacter*). Někteří metano-

genní archea dokážou fixovat molekulární dusík a patří mezi tzv. nefotosyntetizující autotrofní diazotrofní mikroorganismy.

Jak jsme se zmínili již v úvodu, prokaryota mají nejpěstřejší spektrum metabolismu ze všech organismů. Dokážou např. rozložit všechny přírodní látky včetně nejodolnějších a nejstabilnějších polymerů typu ligninu a pravděpodobně si poradí i s rozkladem většiny, ne-li všech látek xenobiotických, šířených do prostředí člověkem (i když k tomu mohou potřebovat dlouhou dobu). Metabolická bohatost prokaryot a jejich fyziologická flexibilita je předurčuje k zapojení do lokálních i globálních cyklů energie a biogenních prvků včetně uhlíku, dusíku, síry atd. Zároveň vstupují do mnoha interakcí s jinými organismy, rostlinami, živočichy, houbami i mikroorganismy. Diverzita vlastností a funkcí půdních prokaryot je dosud z velké části neprobádaným vesmírem, který je třeba objevovat, ale i chránit, a proto musíme všemi prostředky bránit degradaci půdy. Další poznatky o mimořádné funkční pestrosti metabolismu a interakcích prokaryot v půdě přinesou následující díly seriálu.

Příspěvek vznikl s podporou programu Strategie AV21 Záchrana a obnova krajiny a projektu International Mobilities of Researchers of the Biology Centre (CZ.02.2.69/0.0/0.0/16_027/008357).

Seznam použité literatury je uveden na webové stránce Živý.

S tématem souvisejí články v Živě 2006, 1–6; 2015, 2: 69–72; 2016, 2: 56–60; 2018, 1: 6–10 a 3: 117–120 nebo 2019, 5: 216–219.

ČESKOSLOVENSKÝ ČASOPIS PRO FYZIKU

Mít přehled
ve světě fyziky...



ČČF je časopisem nejen pro fyzikální badatele, studující fyziku, pedagogické pracovníky vyučující fyziku, ale i pro techniky, matematiky, astronomy, přírodovědce jiných oborů a poučené laiky.

Staňte se předplatitelem vědecko-populárního časopisu české a slovenské fyzikální obce.

V roce 2020 vstupuje Čs. časopis pro fyziku do svého 70. ročníku. Proto (ale nejen) jsme se rozhodli od 1. čísla 2020 otevřít přístup k elektronické verzi ČČF zdarma. Stačí si zřídit přístupové jméno a heslo a můžete se začíst nejen do aktuálního čísla, ale vyhledat si i starší články až do roku 2000.

Objednávky: <http://ccf.fzu.cz>
e-mail: cscasfyz@fzu.cz
tel.: +420 266 052 152



RECENZOVANÝ DVOUMĚSÍČNÍK

<https://ccf.fzu.cz>