

Mikrobiální ekologie vody

2. Růst a metabolismus



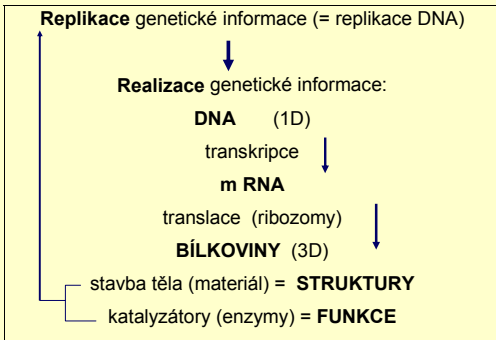
PřFUK Katedra ekologie
Josef K. Fuksa, VÚV T.G.M., v.v.i.
josef_fuksa@vuv.cz

© JKF 2008

Co nás zajímá:

- Autekologie – ekologie organismů a „druhů“.
- Procesy v systému – „black box“: transformace látek vč. „nežádoucích“, koloběh, regulace, bilance, produkce, biodegradace.
- Dnes je (už) možná kombinace.
- Hygienické aspekty – historie i dnešek.

Metabolismus / život „an sich“



METABOLISMUS

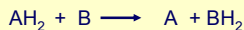
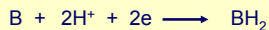
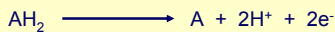
ANABOLISMUS živiny/substráty →? buňka + G1

KATABOLISMUS volná energie (S, Ch) →? biol. práce
teplo - G2

NETABOLISMUS živiny + volná E →? buňka + teplo - G3

Spojení A ↔ K : PO_4^{3-} (AMP ↔ ATP)

OXIDOREDUKCE



A: donor elektronu

B: akceptor elektronu (postupný, TEA)
přenos: NAD⁺→NADH (NADP⁺→NADPH)

DONOR a AKCEPTOR elektronu:

Stejný donor elektronu,
různý akceptor (TEA),
různý zisk energie:

Relationship between Respiration, Redox Potential, and Typical Electron Acceptors and Products*

Type of respiration	Reduction reaction electron acceptor → product	Reduction potential (V)	Oxidation reaction electron donor → product	Oxidation potential (V)	Difference (V)
Aerobic	O ₂ - H ₂ O	+0.81	CH ₂ O - CO ₂	-0.47	-1.28
Denitrification	NO ₃ ⁻ - N ₂	+0.75	CH ₂ O - CO ₂	-0.47	-1.22
Manganese reduction	Mn ⁴⁺ - Mn ²⁺	+0.55	CH ₂ O - CO ₂	-0.47	-1.02
Nitrate reduction	NO ₃ ⁻ - NH ₄ ⁺	+0.36	CH ₂ O - CO ₂	-0.47	-0.83
Sulfate reduction	SO ₄ ²⁻ - HS ⁻ , H ₂ S	-0.22	CH ₂ O - CO ₂	-0.47	-0.25
Methanogenesis	CO ₂ - CH ₄	-0.25	CH ₂ O - CO ₂	-0.47	-0.22

↑
AKCEPTOR e⁻ CH₂O = DONOR e⁻ ΔE

Základní dělení:

ZDROJ UHLÍKU:

- CO₂: **AUTOTROFNÍ**
- C-org.: **HETEROTROFNÍ**

ZDROJ ENERGIE:

- Chem. reakce/oxidace: **CHEMOTROFNÍ**
chemoheterotrofní, chemolithotrofní
- Žáření (sluneční): **FOTOTROFNÍ**
fotoheterotrofní, fotolithotrofní

Růst:

Růst buňky, zmožení materiálu, pak rozdělení na dvě. Nikdy jinak:

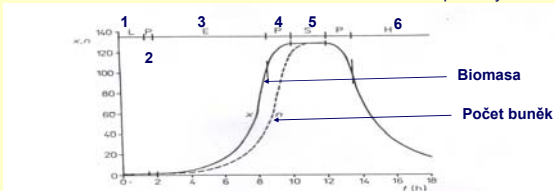
- Zvětšování objemu buňky.
- Replikace chromozómu:
- Start, replikace, ukončení.
- Vytvoření septa – oddělení.
- **Doba zdvojení buňky: tau.**
- **Doba zdvojení populace / společenstva: T.**
- Synchronní růst kultury.
- **Někdy synchronní růst v přírodě:**
Impulz – např. ranní začátek fotosyntézy resp. exkrece substrátů.

Růstová křivka populace –

statická, jednorázová kultivace v uzavřeném systému (BATCH):

1. Lag
2. Zrychlený růst
3. Logaritmická fáze
4. Zpomalený růst
5. Stacionární fáze
6. Odumírání/pokles.

Změny v enzymovém aparátu: 1- 4 enzymy především na biosyntézu, 4- 6 orientace na katabolické procesy.



Obr. 2.8. Růstová křivka bakteriální populace. Na vodorovném osu čas v hodinách, na svislé osy koncentrace biomasy a počet buněk (koncentrace buněk) a v odpovídající představa (relativní číslo) na = 1, na = 33, 1 – lag-fáze, 2 – exponenciální fáze, 3 – stacionární fáze, 4 – fáze poklesu.



Rostoucí populace, nelimitovaný růst:

Dělení: $X_t = X_0 2^n$

Průměrná generační doba T

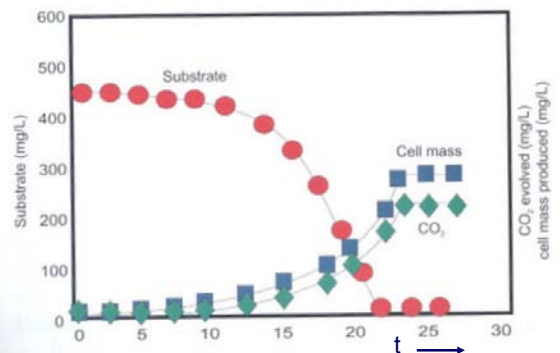
$t = n T$, resp. $n = t / T$ $t = (t = t_0)$

rychlost dělení $c = 1/T$

$X_t = X_0 2^{ct}$

$$C = \frac{\log_2 X_2 - \log_2 X_1}{t_2 - t_1}$$

Vývoj situace ve stacionární kultuře (batch)



Ustálený růst X

(sušina, biomasa atd.):

$$dX/dt = \mu X, \quad \mu = dX / dt X$$

μ - specifická růstová rychlost,
úměrná koncentraci biomasy [hod⁻¹]

Výpočet μ z Δx a Δt - v ln.

$$\mu = 0,693 c, \quad c = 1,443 \mu$$

Limitovaný růst :

Technicky lze rostoucí populaci udržovat v ustáleném stavu průběžnou kontrolou / limitací některých faktorů. Pro závislost na koncentraci substrátu platí Monodova rovnice:

$$\mu = \mu_{\max} S / K+S$$

Kontinuální kultivace:

$$dX/dt = \mu X$$

$$Dx/dt = \mu X - DX = 0 \quad D \dots \text{zředovací rychlost}$$

Limitovaný růst – technická řešení

Turbidostat – nelimitovaný růst, interní kontrola - biomasou v tanku / na výtoku = měření zákalu + ovládání ventilů (Bryson, 1952).

Chemostat – limitovaný růst, externí kontrola - zředovací rychlostí (Novick a Szilard, 1950; Monod, 1950/bactogen).

$$0 < \mu < \mu_{\max}$$

$D > \mu_{\max}$... vyplavení ze systému

Chemostat – možnosti:

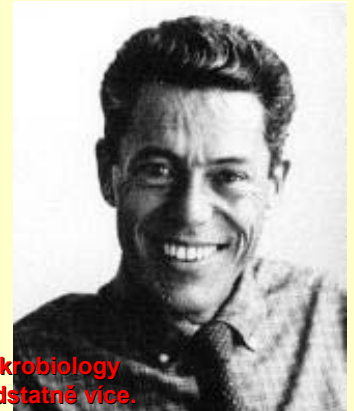
- Homogenní kultivace
- Heterogenní (tubulární) chemostat – piston flow, vracení biomasy.

J. Monod

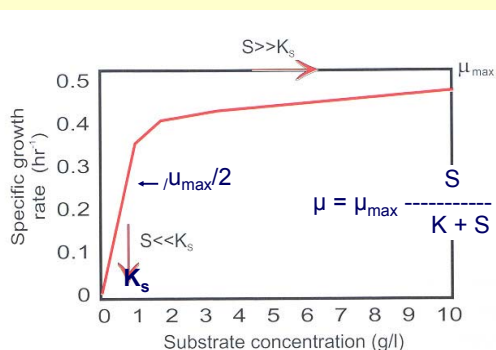
(1910-1976)

$$\mu = \mu_{\max} S / K+S$$

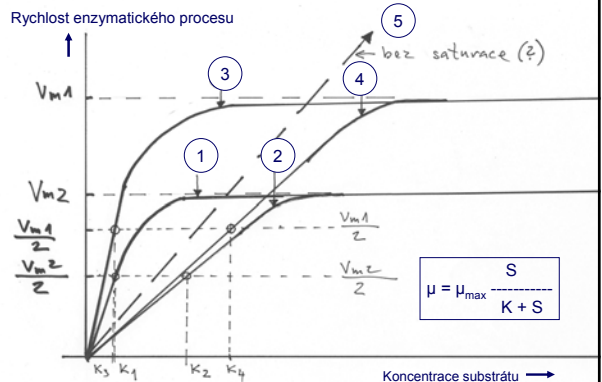
POZOR:
Pro opravdové mikrobiology
toho vymyslel podstatně více.



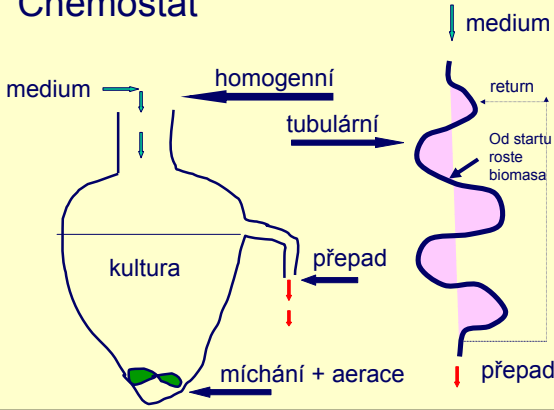
Saturační křivka



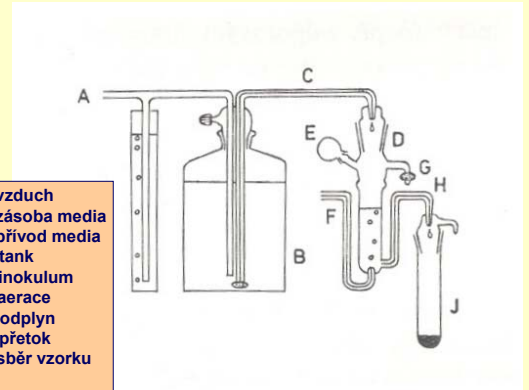
Význam charakteristik μ_{\max} (V_{\max}) a K :



Chemostat



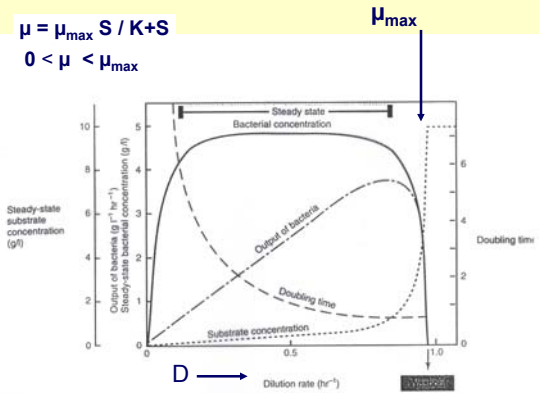
Chemostat (Novick a. Szilard, 1955):



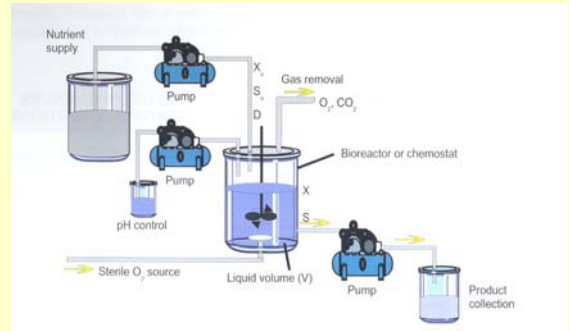
Chemostat „uvnitř“:

$$\mu = \mu_{\max} S / K + S$$

$$0 < \mu < \mu_{\max}$$



Chemostat potřeří:



Dále k růstu a chemostatu:

Ochrana proti vyplavení při $D > \mu_{\max}$
Přisedlý růst.

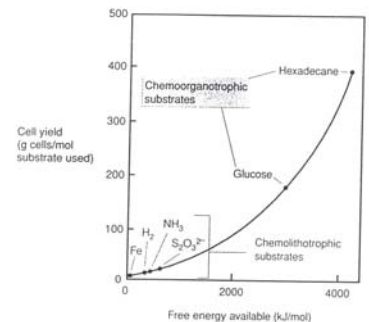
Výtěžek / Yield: $Y = X / S$ [g/mol]
 (biomasa/mol. spotřebovaného substrátu).
 V rostoucí populaci je Y nezávislý na μ .

Vodní společenstva a Y ??

Lze měřit % mineralizace značených substrátů
 proti inkorporaci:
 ^{14}C miner. / ^{14}C inkorp. (glukosa apod.)

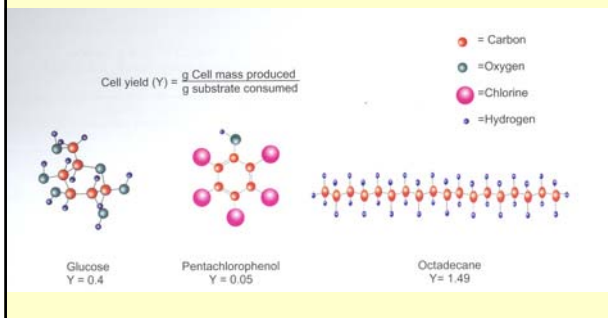
Yield a substráty

POZOR:
 Záleží také na
 dostupnosti
 substrátu !



Yield a substráty

(obsah a vazba C, konfigurace, ochranné skupiny)



Stacionární fáze růstu a co dále:

Vyčerpání substrátu, růstových faktorů apod.
(Ne poškození/inhibice).

- Katabolismus se nezastaví:
- Oxidace vnitrobuněčných látek (glykogen, poly-β-hydroxymáselná kys.).
- Maintenance energy – uplatňuje se ve stacionární fázi.

SAD – substrate accelerated death – transport do buňky, která už není schopna propojit anablické a katabolické procesy.

Stacionární fáze a SMRTĚ

SMRT BAKTÉRIE

- poškození struktur – exogenní, endogenní:
- Hladovění, „otrava“, sežrání, fág, fyzikální vlivy (teplota, UV).

Kdy je opravdu „mrtvá/ý“???

- G⁺ : sporulace (ne při hladovění).
- G⁻ : dormance (ztráta „růstu na agaru“).
- Ztráta „vlastností“, identifikovatelnosti
- Endogenní metabolické poškození – aktivní formy kyslíku – buď vyšší produkce nebo snížená schopnost reparace ve stacionární fázi a dále.

Tohle přece není populace – u bakterií klidně



Viry a bakteriofágové

Nejsou to organismy, jsou všude a parazitují na organismech.

- Kontrolují růst a biomasu populací řas, sinic, bakterií (i živoků).
- Kontrolují úroveň DOC (lyzované buňky, recyklace), kvantitu i „kvalitu“.
- Zprostředkují „tok genů/informace“.

Viry a bakteriofágové

Exogenní viry – zvenku – odpadní vody atd. Hygienické problémy, indikace.

Endogenní viry – vodní:

- Fykoviry – fytoplankton.
- Cyanofágy – cyanobakterie (LPP).
- Bakteriofágy. *Fágy alochtonních a autochtonních bakterií.*

Bakteriofágové

VIRION – volně ve vodě, interakce s
hostitelem.

Napadená buňka:

Lysogenní – temperovaný fág, přežívá
celá.

Virulentní fág > lyze buňky > nové viriony.

Spojeno s recyklací materiálu.

Přechod lysogenní >> lyze:

Faktory prostředí (substráty > zrychlení
růstu, UV, pH....).

Bakteriofágové

POZOR: Fágy jsou „druhově specifické“.

Počet fágů:

- kulturačně: 10^2 PFU/ml.
- mikroskopicky: 10^{6-7} VLP/ml.

**Kolik populací obsahuje běžné
planktonní společenstvo fágů??**

Mortalita způsobená fágy: Srovnatelná
s predací. *S hloubkou jezera možná
roste podíl mortality fágů.*

„Smrt fága“: UV, sežrán.

Bakteriofágové – vliv na vodní
bakteriální společenstva:

- Značný podíl B je infikovaný.
- **Infekce fágy může kontrolovat četnost B
více než predace.**
- **Druhové složení B je kontrolováno fágy.**
- Strategie fága: **Kill the Winner ???**
- **Transfer genů.**
- Vliv prostředí – přežívání virionů.

Tihle se chovají jako populace:
Mají právě jednu vlastnost –
chtějí JI vidět a to se dá měřit.



Příště: Metabolismus uhlíku jako základ

