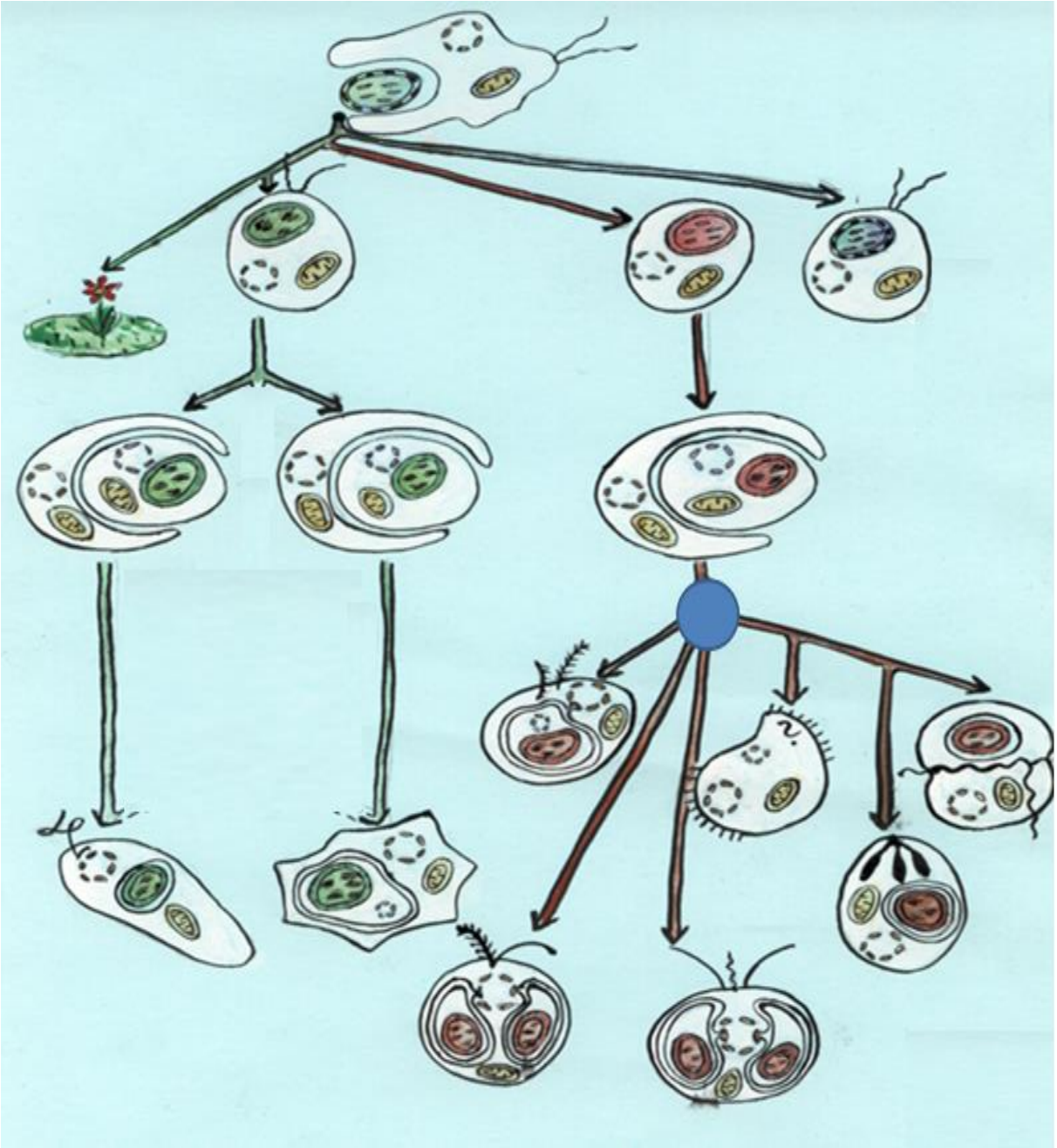
UNIVERZITA MATEJA BELA V BANSKEJ BYSTRICI
FAKULTA PRÍRODNÝCH VIED

ZÁKLADY MIKROBIOLÓGIE, PROTISTOLÓGIE A ALGOLÓGIE



Matej Vesteg a kolektív

BELIANUM

2020

UNIVERZITA MATEJA BELA V BANSKEJ BYSTRICI
FAKULTA PRÍRODNÝCH VIED

ZÁKLADY MIKROBIOLÓGIE, PROTISTOLÓGIE A ALGOLÓGIE

(vysokoškolské skriptá)

Matej Vesteg
Dominika Ihradská – Diana Jelenčíková
Michal Kapitáň – Simona Kobušová – Barbora Kostolanská
Ján Kvasnica – Diana Lihanová – Katarína Majkútová
Miriam Trniková – Karin Zajacová
Alexandra Lukáčová

Recenzenti: doc. RNDr. Milan Seman, CSc.
doc. Mgr. Vladimír Hampl, PhD.

Autor obrázku na titulnej strane: Mgr. art Paula Koyšová
Autori obrázkov v jednotlivých kapitolách: autori kapitol

BELIANUM

2020

OBSAH

1 PREDHOVOR *(Matej Vesteg)* 11
2 PREDMET ŠTÚDIA MIKROBIOLÓGIE, PROTISTOLÓGIE A ALGOLÓGIE *(Matej Vesteg, Barbora Kostolanská)* 12
3 STRUČNÝ PREHĽAD HISTÓRIE MIKROBIOLÓGIE *(Matej Vesteg, Diana Lihanová)* 14
4 STRUČNÝ PREHĽAD VÝVOJA KLASIFIKÁCIE ORGANIZMOV *(Matej Vesteg)* 19
5 CHEMICKÉ ZLOŽENIE MIKROORGANIZMOV *(Simona Kobušová, Matej Vesteg)* 23
5.1 Prvky prítomné v živých organizmoch 23
5.2 Chemická väzba 23
5.3 Voda 24
5.4 Atómy uhlíka tvoria kostru organických zlúčenín 25
5.5 Nukleové kyseliny 25
5.5.1 Nukleotidy sú stavebnými jednotkami nukleových kyselín 26
5.5.2 DNA 28
5.5.3 RNA 30
5.6 Proteíny 32
5.6.1 Aminokyseliny 33
5.6.2 Peptidová väzba 34
5.6.3 Štruktúra a tvar proteínov 34
5.6.4 Biologické funkcie proteínov 35
5.7 Lipidy 36
5.8 Sacharidy 37
6 ŠTRUKTÚRA PROKARYOTICKÝCH A EUKARYOTICKÝCH BUNIEK *(Katarína Majkútová, Matej Vesteg)* 40
6.1 Prokaryotická bunka 40
6.2 Eukaryotická bunka 42
6.2.1 Jadro (nucleus/karyon) 43
6.2.2 Endoplazmatické retikulum (ER) 44
6.2.3 Golgiho aparát (GA) 45
6.2.4 Mitochondrie 46
6.2.5 Plastidy 47
6.2.6 Lyzozómy 48
6.2.7 Peroxizómy 48
6.2.8 Vakuoly 48
6.2.9 Cytoplazma (cytosol) 49
6.2.10 Cytoskelet 49

6.2.11 Ribozómy ... 49
6.2.12 Bunková stena ... 50
7 ORGANIZÁCIA A VEĽKOSŤ GENÓMOV PROKARYOTOV A EUKARYOTOV *(Katarína Majkútová, Matej Vesteg)* ... 51
7.1 Prokaryotické genómy ... 51
7.2 Eukaryotické genómy ... 52
8 REPLIKÁCIA GENÓMOV PROKARYOTOV A EUKARYOTOV *(Katarína Majkútová, Matej Vesteg)* ... 55
8.1 Replikácia DNA u prokaryotov ... 57
8.2 Replikácia DNA u eukaryotov ... 58
9 EXPRESIA GÉNOV U PROKARYOTOV A EUKARYOTOV *(Katarína Majkútová, Matej Vesteg)* ... 60
9.1 Transkripcia ... 60
9.1.1 Trankripcia u prokaryotov ... 62
9.1.2 Transkripcia u eukaryotov a úprava ich primárnych transkriptov ... 63
9.2 Translácia ... 65
9.2.1 Translácia u prokaryotov ... 68
9.2.2 Maturácia ribozómov a translácia u eukaryotov ... 68
10 SPÔSOBY VÝŽIVY MIKROORGANIZMOV *(Simona Kobušová, Matej Vesteg)* ... 71
10.1 Autotrofia ... 71
10.1.1 Fototrofia ... 71
10.1.2 Chemoautotrofia ... 71
10.2 Heterotrofia ... 72
10.2.1 Osmotrofia ... 72
10.2.2 Fagotrofia ... 72
10.3 Mixotrofia ... 73
11 NAJZNÁMEJŠIE METABOLICKÉ DRÁHY MIKROORGANIZMOV *(Simona Kobušová, Matej Vesteg)* ... 74
11.1 Anaeróbna glykolýza ... 74
11.2 Mitochondrie, aeróbne baktérie, Krebsov cyklus a oxidatívna fosforylácia ... 76
11.3 Fotosyntéza ... 78
12 ÚLOHA MIKROORGANIZMOV V KOLOBEHU LÁTOK V PRÍRODE *(Simona Kobušová, Matej Vesteg)* ... 81
12.1 Kolobeh kyslíka ... 81
12.2 Kolobeh uhlíka ... 82
12.3 Kolobeh dusíka ... 83
12.4 Kolobeh síry ... 85
12.5 Kolobeh železa ... 85

12.6 Kolobeh fosforu ... 85
13 ROZMNOŽOVANIE PROKARYOTICKÝCH A EUKARYOTICKÝCH MIKROORGANIZMOV *(Michal Kapitáň, Matej Vesteg)* ... 87
13.1 Kultivácia mikroorganizmov ... 87
13.2 Rozmnožovanie prokaryotov ... 89
13.2.1 Delenie prokaryotických buniek ... 90
13.2.2 Tvorba endospór u baktérií ... 91
13.2.3 Parasexuálne procesy u baktérií ... 92
13.3 Rozmnožovanie eukaryotov ... 96
13.3.1 Životný cyklus eukaryotických mikroorganizmov ... 96
13.3.2 Eukaryotický bunkový cyklus ... 97
13.3.3 Mitóza ... 99
13.3.4 Cytokinéza ... 103
13.3.5 Meióza ... 104
14 VÍRUSY A INÉ NEBUNKOVÉ „ORGANIZMY“ *(Diana Lihanová, Matej Vesteg)* ... 108
14.1 Pôvod vírusov ... 108
14.2 Štruktúra vírusov ... 109
14.2.1 Typy vírusových genómov ... 109
14.2.2 Proteínový obal vírusov – kapsid ... 110
14.2.3 Ďalšie obalové štruktúry vírusov ... 111
14.3 Klasifikácia vírusov ... 112
14.3.1 Skupina I – dsDNA vírusy ... 113
14.3.2 Skupina II – ssDNA vírusy ... 113
14.3.3 Skupina III – dsRNA vírusy ... 114
14.3.4 Skupina IV – (+)ssRNA vírusy ... 114
14.3.5 Skupina V – (-)ssRNA vírusy ... 114
14.3.6 Skupina VI – ssRNA-RT vírusy ... 115
14.3.7 Skupina VII – dsDNA-RT vírusy ... 115
14.4 Rozmnožovanie vírusov ... 115
14.4.1 Replikácia a expresia genómov dsDNA vírusov ... 117
14.4.2 Replikácia a expresia genómov ssDNA vírusov ... 118
14.4.3 Replikácia a expresia genómov dsRNA vírusov ... 118
14.4.4 Replikácia a expresia genómov (+)ssRNA vírusov ... 119
14.4.5 Replikácia a expresia genómov (-)ssRNA vírusov ... 120
14.4.6 Replikácia a expresia genómov (+)ssRNA-RT vírusov ... 120
14.4.7 Replikácia a expresia genómu dsDNA-RT vírusov ... 121
14.5 Príklady vírusov rôznych organizmov ... 122

14.5.1 Vírusy baktérií – bakteriofágy ... 122
14.5.2 Vírusy archeónov ... 124
14.5.3 Vírusy prvokov, rias a húb ... 125
14.5.4 Vírusy rastlín ... 125
14.5.5 Vírusy živočíchov ... 128
14.5.6 Vírusy človeka ... 131
14.6 Iné nebunkové „organizmy“ ... 136
14.6.1 Prióny ... 136
14.6.2 Viroidy ... 137
14.6.3 Virusoidy a satelity ... 137
15 DOMÉNA BACTERIA (BAKTÉRIE) *(Alexandra Lukáčová, Katarína Majkútová, Matej Vesteg)* ... 142
15.1 Tvar buniek a typy kolónií baktérií ... 142
15.2 Štruktúra buniek baktérií ... 144
15.2.1 Nukleoid ... 145
15.2.2 Plazmidy ... 145
15.2.3 Ribozómy baktérií ... 146
15.2.4 Cytoplazmatická membrána baktérií ... 146
15.2.5 Bunková stena baktérií ... 147
15.2.6 Glykokalyx ... 150
15.2.7 Fimbrie a pily ... 150
15.2.8 Bičíky baktérií ... 151
15.3 Medzibunková komunikácia baktérií ... 152
15.4 Klasifikácia a systematika baktérií ... 153
15.4.1 Proteobacteria ... 154
15.4.2 FCB ... 164
15.4.3 PVC ... 169
15.4.4 CPR ... 173
15.4.5 Spirochaetes ... 173
15.4.6 Synergistetes ... 174
15.4.7 Príklady niektorých ďalších skupín baktérií ... 174
16 PATOGÉNNE BAKTÉRIE *(Alexandra Lukáčová, Matej Vesteg)* ... 188
16.1 Patogénne α-proteobaktérie ... 190
16.1.1 Patogénne Rhizobiales ... 190
16.1.2 Patogénne Rickettsiales ... 192
16.2 Patogénne β-proteobaktérie ... 192
16.2.1 *Neisseria* spp. ... 192

16.2.2 *Bordetella* spp. ... 194
16.3 Patogénne γ-proteobaktérie ... 194
16.3.1 Patogénne Enterobacteriales ... 194
16.3.2 Patogénne Legionellales ... 198
16.3.3 Ďalšie príklady patogénnych γ-proteobaktérií ... 200
16.4 Patogénne ε-proteobaktérie rodu *Helicobacter* ... 203
16.5 Patogénne spirochéty ... 203
16.5.1 *Treponema* spp. ... 203
16.5.2 *Borrelia* spp. ... 204
16.5.3 *Leptospira* spp. ... 205
16.6 Patogénne chlamýdie ... 205
16.7 Patogénne Firmicutes ... 207
16.7.1 Patogénne Bacilli ... 207
16.7.2 *Clostridium* spp. ... 212
16.8 Patogénne Actinobacteria ... 213
16.8.1 *Mycobacterium* spp. ... 213
16.8.2 *Corynebacterium* spp. ... 215
16.9 Patogénne Tenericutes rodu *Mycoplasma* ... 216
17 ANTIBIOTIKÁ *(Alexandra Lukáčová, Barbora Kostolanská, Matej Vesteg)* ... 228
17.1 Klasifikácia antibiotík ... 229
17.2 Chemická štruktúra antibiotík ... 230
17.2.1 β-laktámové antibiotiká ... 230
17.2.2 Tetracyklíny ... 232
17.2.3 Makrolidy ... 233
17.2.4 Glykopeptidy ... 234
17.2.5 Aminoglykozidy ... 234
17.3 Mechanizmy účinku antibiotík ... 234
17.3.1 Inhibícia syntézy bunkovej steny baktérií ... 235
17.3.2 Poškodenie cytoplazmatickej membrány baktérií ... 236
17.3.3 Inhibícia proteosyntézy baktérií ... 236
17.3.4 Inhibícia syntézy nukleových kyselín baktérií ... 237
17.3.5 Inhibícia metabolických dráh baktérií ... 238
17.4 Mechanizmy antibiotickej rezistencie baktérií ... 238
17.4.1 Obmedzenie penetrácie antibiotika do buniek baktérií zmenou priepustnosti membrány ... 239
17.4.2 Modifikácia cieľového miesta antibiotika ... 239
17.4.3 Aktívny eflux antibiotík z bunky baktérií ... 240

17.4.4 Enzymatická inaktivácia antibiotika ... 240
17.5 Antibiotická rezistencia a multirezistencia ako celosvetový problém ... 241
17.6 Nežiaduce a toxické účinky antibiotík ... 242
18 PROBIOTIKÁ *(Alexandra Lukáčová, Matej Vesteg)* ... 247
18.1 Príklady probiotických mikroorganizmov ... 247
18.1.1 Probiotické baktérie ... 249
18.1.2 Probiotické kvasinky rodu *Saccharomyces* ... 252
18.2 Mechanizmy účinku probiotík ... 252
18.3 Prebiotiká ... 253
18.4 Probiotiká v potravinách a výživových doplnkoch ... 254
18.5 Potenciálne riziká a interakcie spojené s užívaním probiotík ... 255
19 SINICE (CYANOBACTERIA) *(Karin Zajacová, Matej Vesteg)* ... 261
20 DOMÉNA ARCHAEA (ARCHEÓNY) *(Matej Vesteg, Katarína Majkútová, Simona Kobušová)* ... 265
20.1 Štruktúra buniek archeónov ... 265
20.1.1 Zloženie membrán archeónov ... 266
20.1.2 Bunková stena archeónov ... 267
20.1.3 Bičíky archeónov ... 267
20.2 Organizácia genómov a génová expresia archeónov ... 267
20.3 Rozmnožovanie archeónov ... 268
20.4 Ekológia a metabolizmus archeónov ... 268
20.5 Klasifikácia a systematika archeónov ... 269
20.5.1 DPANN ... 270
20.5.2 Euryarchaeota ... 272
20.5.3 Proteoarchaeota ... 275
21 PÔVOD EUKARYOTICKEJ BUNKY *(Dominika Ihradská, Matej Vesteg)* ... 281
22 PÔVOD CHLOROPLASTOV ENDOSYMBIÓZOU FOTOTROFOV A DIVERZITA EUKARYOTOV S PLASTIDMI *(Dominika Ihradská, Matej Vesteg)* ... 285
22.1 Primárna endosymbióza ... 286
22.2 Sekundárna endosymbióza ... 288
22.3 Terciárna endosymbióza a nahrádzanie plastidov ... 290
22.4 Strácanie schopnosti fotosyntézy ... 291
23 AMOEBOZOA *(Matej Vesteg, Dominika Ihradská)* ... 295
23.1 Discosea ... 296
23.2 Tubulinea ... 297
23.2.1 Euamoebida ... 297
23.2.2 Leptomyxida ... 297
23.2.3 Arcellinida ... 297

23.3 Conosa ... 298
23.3.1 Archamoebae ... 298
23.3.2 Variosea ... 299
23.3.3 Eumycetozoa ... 299
24 OPISTHOKONTA *(Dominika Ihradská, Matej Vesteg)* ... 301
24.1 Holozoa ... 302
24.1.1 Ichthyosporea ... 302
24.1.2 Pluriformea ... 302
24.1.3 Filasterea ... 302
24.1.4 Choanoflagellata ... 303
24.1.5 Metazoa ... 303
24.2 Holomycota ... 304
24.2.1 Cristidiscoidea ... 304
24.2.2 Cryptomycota ... 305
24.2.3 Microsporidia ... 305
24.2.4 Aphelida ... 305
24.2.5 Fungi ... 305
25 ARCHAEPLASTIDA *(Karin Zajacová, Matej Vesteg)* ... 307
25.1 Úvod do algológie ... 307
25.1.1 Typy stielok rias ... 307
25.1.2 Spôsoby rozmnožovania rias ... 308
25.1.3 Taxonomické kategórie a ich koncovky v algológii ... 310
25.2 Prehľad systému skupiny Archaeplastida ... 310
25.2.1 Glaucophyta ... 312
25.2.2 Rhodophyta ... 313
25.2.3 Chloroplastida ... 318
26 SAR *(Diana Jelenčíková, Dominika Ihradská, Matej Vesteg)* ... 335
26.1 Stramenopiles ... 335
26.1.1 Bigyra ... 336
26.1.2 Gyrista ... 337
26.2 Alveolata ... 345
26.2.1 Ciliophora ... 346
26.2.2 Dinoflagellata ... 348
26.2.3 Apicomplexa ... 351
26.2.4 Príklady ďalších skupín z taxónu Alveolata ... 354
26.3 Rhizaria ... 355
26.3.1 Cercozoa ... 356

26.3.2 Endomyxa ... 358
26.3.3 Retaria ... 359
27 EXCAVATA *(Ján Kvasnica, Matej Vesteg)* ... 364
27.1 Malawimonadidae ... 364
27.2 Metamonada ... 365
27.2.1 Fornicata ... 366
27.2.2 Preaxostyla ... 369
27.2.3 Parabasalia ... 370
27.3 Discoba ... 371
27.3.1 Jakobida ... 371
27.3.2 Tsukubamonadida ... 372
27.3.3 Heterolobosea ... 372
27.3.4 Euglenozoa ... 375
28 ĎALŠIE SKUPINY PROTISTA *(Miriam Trniková, Matej Vesteg)* ... 384
28.1 Obazoa ... 386
28.1.1 Breviatea ... 386
28.1.2 Apusomonadida ... 386
28.2 CRuMs ... 388
28.2.1 Collodictyonida ... 388
28.2.2 Rigifilida ... 389
28.2.3 Mantamonadida ... 389
28.3 Ancyromonadida ... 390
28.4 Cryptista ... 391
28.4.1 Cryptophyta ... 391
28.4.2 Katablepharida ... 394
28.4.3 Palpitomonas ... 396
28.5 Picozoa ... 396
28.6 Telonemida ... 397
28.7 Haptista ... 399
28.7.1 Haptophyta ... 399
28.7.2 Centrohelida ... 403
28.8 „Rappemonády“ ... 404
28.9 Hemimastigophora ... 404

1 PREDHOVOR

Vážení študenti!

Tento učebný text vznikol ako študijný materiál k predmetu Mikrobiológia a k časti o siniciach (cyanobaktériách) a riasach z predmetu Systém cyanobaktérií, rias a húb. Oba tieto predmety sú vyučované v rámci rôznych študijných programov a odborov na Katedre biológie a ekológie Fakulty prírodných vied Univerzity Mateja Bela (KBE, FPV, UMB) v Banskej Bystrici. K časti o siniciach a riasach z predmetu Systém cyanobaktérií, rias a húb by mali poslúžiť najmä kapitoly 2, 4, 6, 19, 22 a 25 a podkapitoly o organizmoch s plastidmi (chloroplastami) z kapitol 26-28. K predmetu Mikrobiológia by mal ako študijný materiál poslúžiť prakticky celý učebný text s výnimkou informácií o makroskopických zástupcoch rias z kapitol 25 a 26. Kapitoly 4 a 20-22 môžu poslúžiť aj ako doplňujúci študijný materiál k predmetu Evolučná biológia vyučovanom na KBE, FPV, UMB v Banskej Bystrici. Kapitoly 5-9 môžu zase slúžiť ako doplňujúci študijný materiál k predmetu Molekulová biológia a genetika vyučovanom na KBE, FPV, UMB v Banskej Bystrici.

Veľká časť tohto textu (vrátane obrázkov, okrem titulného) vznikla v rámci desiatich bakalárskych prác vypracovaných študentmi UMB pod mojim vedením. Práce boli odovzdané a obhájené v roku 2018. Následne som text bakalárskych prác prerozdelil do jednotlivých kapitol tohto učebného textu, zrevidoval som ho a doplnil o ďalšie informácie a obrázky. K tvorbe kapitol 15-18 najväčšou mierou prispela moja doktorandka Mgr. Alexandra Lukáčová, ktorá je medzi spoluautormi tohto učebného rovnako ako študenti, ktorí sa podieľali na tvorbe jednotlivých kapitol. Na začiatku každej kapitoly sú uvedené mená autorov kapitol, ktorí sa na ich tvorbe podieľali.

Recenzentmi týchto skrípt boli renomovaný odborník z oblasti mikrobiológie doc. RNDr. Milan Seman, CSc. z Katedry biológie Fakulty prírodných vied Univerzity sv. Cyrila a Metoda, kde v súčasnosti predmet Mikrobiológia aj vyučuje a renomovaný odborník z oblasti protistológie a algológie doc. Mgr. Vladimír Hampl, PhD. z Katedry parazitológie Prírodovedeckej fakulty Karlovej univerzity v Prahe, kde predmet Protistológia aj vyučuje. Rád by som obom recenzentom poďakoval za cenné pripomienky a návrhy k tomuto učebnému textu.

Spoločne so spoluautormi verím, že tento učebný text poslúži počas niekoľkých nasledujúcich rokov ako cenný študijný materiál nielen študentom FPV, UMB v Banskej Bystrici, ale aj študentom iných univerzít na Slovensku a v Českej republike.

Mgr. Matej Vesteg, PhD.
Katedra biológie a ekológie
Fakulta prírodných vied
Univerzita Mateja Bela
Banská Bystrica

2 PREDMET ŠTÚDIA MIKROBIOLÓGIE, PROTISTOLÓGIE A ALGOLÓGIE

Matej Vesteg, Barbora Kostolanská

Slovo „mikrobiológia“ je odvodené z troch gréckych slov: „mikros“ – malý, „bios“ – život a „logos“ – veda. **Mikrobiológia** je teda veda, ktorá sa zaoberá štúdiom najmenších, voľným okom neviditeľných organizmov – **mikroorganizmov**. Mikroorganizmy svojimi rozmermi nedosahujú zvyčajne ani 0,1 mm. Všetky tieto živé tvory preto možno pozorovať jedine pod mikroskopom. Mikroorganizmy osídlili na Zemi všetky možné prostredia, dokonca aj také, v ktorých by sme si ešte pred nedávnom nevedeli život vôbec predstaviť (vysoké teploty, nízke pH, vysoká koncentrácia solí a pod.). Väčšina mikroorganizmov je voľne žijúca, iné potrebujú pre svoj život iné organizmy. Mnohé z nich sú pre život iných organizmov nevyhnutné (napr. obligátne symbionty, či probiotické baktérie v črevách človeka), iné sú parazitické (patogénne) a spôsobujú svojim hostiteľom rôzne ochorenia.

Mikrobiológia má svoje odvetvia, ale zároveň sa aj s mnohými biologickými vednými disciplínami prelína. Odborníci z jednotlivých biologických vedných odborov spolupracujú a dopĺňajú sa o mnohé poznatky. Veľká časť výskumu mikroorganizmov je zameraná na ich identifikáciu, mikroorganizmy však možno skúmať z rôznych uhlov pohľadu. Možno študovať ich fyziológiu, biochémiu, stavbu buniek (cytológiu), ekológiu, genetiku, molekulovú biológiu, ale aj ich evolúciu, taxonómiu a systematiku. Mikrobiológia skúma aj význam mikroorganizmov pre človeka, zvieratá, rastliny, iné mikroorganizmy a pre fungovanie ekosystémov na našej planéte.

Medzi praktické vedné súčasti mikrobiológie patrí napr. potravinárska, poľnohospodárska, veterinárna alebo lekárska mikrobiológia. **Lekárska mikrobiológia** svoju pozornosť sústreďuje najmä na tie mikroorganizmy, ktoré spôsobujú ľudské ochorenia alebo sú naopak pre zdravie ľudí prospešné. V tejto súvislosti možno spomenúť i mnohé medicínske vedné disciplíny, s ktorými sa lekárska mikrobiológia sčasti prekrýva – napr. imunológia, epidemiológia a infektológia. **Imunológia** študuje reakcie imunitného systému hostiteľského organizmu na prítomnosť patogénnych mikroorganizmov a cudzorodých látok. **Epidemiológia** sa venuje výskytu, spôsobmi prenosu a prevenciou ochorení spôsobenými mikroorganizmami.

Potravinárska ekológia sa venuje výskytu prospešných aj škodlivých mikroorganizmov v ľudskej potrave. **Veterinárna mikrobiológia** sa zaoberá mikroorganizmami spôsobujúcimi ochorenia zvierat alebo naopak mikroorganizmami prospešnými pre zvieratá. **Poľnohospodárska mikrobiológia** sa zaoberá najmä symbiotickými a patogénnymi mikroorganizmami poľnohospodárskych rastlín.

Ďalšími mikrobiologickými discíplínami prelínajúcimi sa s ekológiu sú napr. pôdna mikrobiológia, mikrobiológia vody a ovzdušia. Tieto disciplíny možno súborne označiť ako **mikrobiálna ekológia.** Venuje sa úlohe mikroorganizmov v rôznych ekosystémoch – ich významu pre iné organizmy, ako aj ich úlohe v kolobehu látok v prírode. Najnovšie sa do popredia dostáva i **kozmická mikrobiológia**, ktorá sa venuje potenciálnemu výskytu mikroorganizmov mimo planéty Zem, potenciálnemu prežitiu mikroorganizmov vo vesmíre a využitiu mikroorganizmov pre kozmonautov (napr. ako potravy a výživových doplnkov) pri letoch do vesmíru.

Mikroorganizmy môžu byť nebunkové a bunkové. **Nebunkové mikroorganizmy** predstavujú **vírusy**, ktoré sú zložené iba z nukleovej kyseliny (DNA alebo RNA) a proteínového, prípadne aj lipidového obalu. Tieto mikroorganizmy nie sú schopné

samostatne rásť a rozmnožovať sa, ale pre svoju reprodukciu potrebujú iné (bunkové) organizmy. Nemajú potrebnú genetickú informáciu, ktorá by kódovala enzýmy zodpovedné za ich samostatný energetický metabolizmus. Ich reprodukcia je teda úplne závislá od hostiteľskej bunky. Vírusy môžu napádať nielen rastliny a živočíchy, ale aj huby, jednobunkové eukaryoty a dokonca aj prokaryoty. **Vírusy baktérií** označujeme ako **bakteriofágy**. Mikrobiologickú vednú disciplínu zaoberajúcu sa vírusmi nazývame **virológia**.

Do oblasti záujmu mikrobiológie spadajú však najmä **bunkové mikroorganizmy**, ktoré sa z hľadiska zložitosti vnútornej organizácie bunky delia na **prokaryotické (prokaryoty) a eukaryotické**. Prokaryotické mikroorganizmy sú svojou organizáciou jednoduchšie ako mikroorganizmy eukaryotické. Prokaryoty nemajú jadro a chýbajú im mnohé ďalšie bunkové organely prítomné v eukaryotických bunkách ako mitochondie, endoplazmatické retikulum (ER) a Golgiho aparát (GA). Prokaryotické mikroorganizmy nie sú na rozdiel od eukaryotov ani schopné pohlavného rozmnožovania. Prokaryotické mikroorganizmy rozdeľujeme na baktérie (doména Bacteria) a archeóny (doména Archaea). Veda zaoberajúca sa baktériami sa nazýva **bakteriológia**. Niektoré baktérie majú aj schopnosť fotosyntézy. Najznámejšími spomedzi nich sú fotosyntetické **sinice (cyanobaktérie)**. Prokaryotické mikroorganizmy môžu byť jednobunkové alebo mnohobunkové. Príkladom mnohobunkových vláknitých prokaryotických mikroorganizmov s diferenciáciou buniek na špecializované bunky v rámci vlákien sú práve vláknité sinice.

Eukaryotické mikroorganizmy môžu byť taktiež jednobunkové a mnohobunkové. Jednobunkové eukaryoty nazývame **prvoky** (Protista). **Protista** sú predmetom skúmania vedy nazývanej **protistológia** (synonymum **protozoológia**). Protistológia by sa teda dala definovať aj ako **mikrobiológia jednobunkových eukaryotov**. Diverzita prvkov je obrovská a systematicky ich zaraďujeme do rôznych fylogenetických línií.

Mnohé prvoky sú však aj fotosyntetické, preto ich možno považovať za riasy a okrem mikrobiológie a protistológie sú aj predmetom štúdia **algológie**. Termínom **riasy** možno označiť všetky fotosyntetické eukaryoty (makroskopické aj mikroskopické) s výnimkou suchozemských rastlín. Algológia je teda veda zaoberajúca sa riasami. Z tradičných dôvodov však medzi objekty štúdia algológie patria aj prokaryotické sinice.

Predmetom skúmania mikrobiológie sú aj jednobunkové huby (eukaryoty), napr. kvasinky či mnohobunkové mikroskopické plesne. **Mikroskopické huby** označujeme aj ako **mikromycéty**. **Huby** vrátane jednobunkových a mikroskopických mnohobunkových húb sú aj predmetom štúdia **mykológie** (veda o hubách).

Je teda zrejmé, že mikrobiológia, virológia, protistológia, algológia a mykológia sú biologické disciplíny, ktoré sú síce jasne definované, ale do značnej miery sa aj prelínajú, preto ich nemožno celkom jednoznačne od seba oddeliť. Všetky tieto vedné odbory navyše v súčasnosti z veľkej časti využívajú poznatky a metódy molekulovej biológie a biochémie.

3 STRUČNÝ PREHĽAD HISTÓRIE MIKROBIOLÓGIE

Matej Vesteg, Diana Lihanová

Za „otca mikrobiológie“ sa považuje Holanďan **Antonie van Leeuwenhoek** (1632-1723). Hoci bol obchodníkom s textilom, nemal univerzitné vzdelanie a neovládal latinčinu, ani iné cudzie jazyky, jeho koníčkom bolo brúsenie šošoviek. Pomocou vybrúsených šošoviek skonštruoval vlastný primitívny mikroskop, pod ktorým pozoroval viaceré mikroskopické objekty vrátene živých mikroorganizmov. Mikroskopické formy označoval súborne ako **„animalcules“** (z latinského *animalculum*, v preklade „drobné zviera“). Hoci nenapísal žiadnu knihu, napísal takmer dvesto listov v holandčine, ktoré adresoval Kráľovskej spoločnosti (Royal Society) v Londýne. Jeho listy boli prekladané do angličtiny a latinčiny Henrym Oldenburgom, editorom časopisu Philosophical Transactions of the Royal Society, v ktorom boli publikované. Z jeho listov je zrejmé, že ako prvý pozoroval baktérie, mnohé jednobunkové eukaryoty (Protista), mikroskopické mnohobunkové eukaryoty ako napr. vírniky, ale aj spermie, krvné bunky, či bunky svalových vláken (Lane, 2015). Pri svojom výskume bol ovplyvnený svojim súčasníkom Robertom Hookom (1635-1703), autorom knihy Micrographia, ktorý taktiež v tom čase pozoroval ako jeden z prvých ľudí bunky pod mikroskopom a je autorom termínu „cell“ (bunka) (Hooke, 1665).

Ešte menšími mikroorganizmami ako jednobunkovce sú nebunkové vírusy. Vírusové ochorenia, boli študované mnoho rokov predtým, než boli samotné vírusy objavené. Už na konci prvého tisícročia Číňania zaznamenali prípady epidémie pravých kiahní. Koncom 18. storočia si anglický lekár **Eduard Jenner** (1749-1823) všimol, že ľudia, ktorí prekonali relatívne neškodné kravské kiahne, nikdy neochoreli na smrteľne nebezpečné pravé kiahne. Spravil preto v roku 1796 experiment, v ktorom zámerne naočkoval osemročnému chlapcovi hnis z vriedku spôsobeného kravskými kiahňami, na ktoré chlapec následne ochorel. Po vyzdravení ho Jenner opäť infikoval tento krát pravými kiahňami. Podľa jeho pozorovania chlapec už na pravé kiahne neochorel. Výsledky experimentu publikoval spoločne s výsledkami ďalších experimentov v roku 1798 pod názvom „Inquiry into the Variolae vaccinae known as the Cow Pox” (Baxby, 1999). Týmto zistením v postate položil základy **vakcinácie** (z latinského *vacca* = krava). Dnes vieme, že obidve ochorenia spôsobujú dvojvláknové DNA vírusy, ktoré sú si príbuzné, čo Jenner v tom čase nevedel. Princípom jeho úspešného experimentu bolo, že protilátky, ktoré boli vytvorené proti menej škodlivým kiahňam, následne imunitný systém využil proti nebezpečnejšiemu typu kiahní. Aplikáciou princípu vakcinácie na vedeckej úrovni sa neskôr koncom osemdesiatych rokoch 19. storočia zaoberal Luis Pasteur, ktorý využil Jennerove poznatky (Navrátil, 2011).

Ďalšou významnou osobnosťou v oblasti mikrobiológie bol **Theodor Schwann** (1810-1882). Hoci je tento vedec známy najmä objavom Schwannových buniek obaľujúcich vlákna neurónov a tzv. **bunkovou teóriou**, jeho prínos v oblasti mikrobiológie je tiež nesporný. K bunkovej teórii však výraznou mierou prispel aj nemecký botanik **Matthias Jakob Schleiden** (1804-1881). Podstatou bunkovej teórie, ktorú sformulovali je, že všetky živočíchy a rastliny sa skladajú z buniek. K tejto teórii výraznou mierou prispel aj Nemec **Rudolf Virchow** (1821-1902), známy svojím výrokom „*Omnis cellula e cellula”* („Všetky bunky vznikajú z buniek“). Táto teória sa dá extrapolovať aj na mikroskopické organizmy (s výnimkou vírusov) a v zásade platí dodnes (Ribatti, 2018). Schwann je však známy aj objavom a štúdiom pepsínu a zavedením termínu metabolizmus. Schwann tiež poprel účasť kyslíka v kvasných procesoch a objavil kvasinky v kvase. **Kvasinky** označoval ako cukorné

huby (odtiaľ rodový názov *Saccharomyces*). Hoci v tom čase väčšina vedcov pochybovala, že za kvasné procesy a fermentáciu alkoholu sú zodpovedné živé mikroorganizmy, o niečo neskôr Schwannove experimenty zopakoval Luis Pasteur a definitívne jeho úvahy potvrdil.

Ignác Filip Semmelweis (1818-1865) bol maďarský lekár pracujúci vo viedenskej pôrodnici. V pôrodniciach sa vtedy pomerne často šírila tzv. „horúčka šestonedieľok". Vyslovil teóriu, že túto chorobu prenášajú samotní lekári pri prechode cez oddelenia nemocníc na pitevňu. Zaviedol povinné umývanie rúk lekárov chlórovým vápnom a úmrtnosť v pôrodniciach rapídne poklesla. Vyslúžil si za to aj prezývku „záchranca matiek". V tom čase však nebolo všeobecne akceptované, žeby za choroby boli zodpovedné mikroorganizmy a všeobecnému uznaniu sa mu dostalo až po jeho smrti.

Francúz **Louis Pasteur** (1822-1895) je azda najznámejším priekopníkom na poli mikrobiológie. Niektorí ho tiež označujú ako otca mikrobiológie, hoci sa na začiatku svojej kariéry venoval chémii, konkrétne molekulovej chiralite (optickej izomérii) (Feinstein, 2008). Tento jav popísal vôbec ako prvý. Vo svojich mikrobiologických experimentoch sa inšpiroval najmä výskumom Jennera a Schwanna. Pasteur dokázal, že za **alkoholové kvasenie** sú zodpovedné **kvasinky**. Tiež popísal proces **mliečneho kvasenia spôsobeného mikroorganizmami**. Tieto mikroorganizmy nazýval mliečne kvasinky, dnes však vieme, že nejde o eukaryotické kvasinky, ale o prokaryotické baktérie mliečneho kvasenia. Zistil, že zahriatie mlieka a vína na 71-72 °C na 20-30 s zabije mikroorganizmy. Táto metóda tzv. **pasterizácie** sa v potravinárstve využíva na konzervovanie nápojov a potravín dodnes. Presvedčil vedeckú komunitu, že **choroby spôsobujú mikroorganizmy** (tzv. „germ theory of disease") (Feinstein, 2008). Táto teória má dodnes rozsiahle aplikácie v klinickej medicíne. Na základe poznatkov Jennera uskutočnil **úspešnú vakcináciu** proti viacerým chorobám, napr. **proti kuracej cholere** spôsobenej baktériami alebo **proti besnote**, o ktorej dnes vieme, že ju spôsobuje jednovláknový RNA vírus. Pasteur však nebol schopný objasniť príčinu besnoty. Uvažoval o patogénoch tak malých rozmerov, že ich nebude možné pozorovať ani pod mikroskopom (Bordenave, 2003). Pasteur založil Pasteurov inštitút v Paríži, ktorý je dodnes veľmi prestížnym vedeckým pracoviskom.

Joseph Lister (1827-1912) bol britský chirurg, ktorý využil Pasterovu teóriu o tom, že choroby spôsobujú mikroorganizmy. Zaviedol **dezinfekciu chirurgických pomôcok** fenolom, aby zahubil mikroorganizmy. Tým sa rapídne znížilo riziko infekcie a mortalita pacientov po chirurgických zákrokoch sa rapídne znížila (Pitt a Aubin, 2012). Spoločne so Semmelweisom ho tak možno pokladať za zakladateľa antiseptických procedúr v medicíne.

Nemecký lekár a mikrobiológ **Robert Koch** (1843-1910) sa považuje za jedného zo zakladateľov bakteriológie. Dokázal už baktérie kultivovať na pevných médiách. Dokázal, že **antrax** spôsobuje baktéria *Bacillus anthracis* a následne izoloval aj baktérie spôsobujúce **tuberkulózu** (*Mycobacterium tuberculosis*) a **choleru** (*Vibrio cholerae*). Za objav pôvodcu tuberkulózy mu bola v roku 1905 udelená aj Nobelova cena. Tzv. Kochove postuláty sa stali základom pre skúmanie pôvodcov chorôb v lekárskej mikrobiológii (Brock, 1999). **Kochove postuláty**:

1. Mikroorganizmus spôsobujúci chorobu musíme nájsť len u chorých a nie u zdravých ľudí (resp. zvierat).
2. Mikroorganizmus musí byť z hostiteľa izolovaný a kultivovaný v čistej kultúre.
3. Ak takýmto mikroorganizmom z čistej kultúry nainfikujeme za experimentálnych podmienok zdravého hostiteľa toho istého druhu, z ktorého bol mikroorganizmus izolovaný (resp. do iného vhodného druhu), musí vyvolať také isté ochorenie.
4. Ten istý mikroorganizmus musí byť možné opakovane izolovať z nainfikovaného hostiteľa.

Nemecký lekár **Paul Ehrlich** (1854-1910) sa zaoberal krvnými bunkami, najmä bunkami imunitného systému (biele krvinky), ale vynašiel aj niektoré techniky farbenia

baktérií a prvokov. Považuje sa aj za zakladateľa chemoterapie. Ako jeden z prvých vedcov sa zaoberal aj štúdiom onkologických ochorení (DeVita a Chu, 2008). Objavil prvú účinnú látku (Salvarsan) proti baktérii *Treponema pallidum* spôsobujúcej syfilis. Je nositeľom Nobelovej ceny za objavy v oblasti imunológie (Androutsos, 2004).

Hans Christian Gram (1853-1938) bol dánsky mikrobiológ, ktorý v roku 1884 vynašiel tzv. **Gramovo farbenie**, pomocou ktorého je možné od seba odlíšiť tzv. Gram-pozitívne (G^+) a Gram-negatívne (G^-) baktérie. Toto farbenie sa využíva v mikrobiológii dodnes.

Julius Richard Petri (1852-1921) bol asistentom Roberta Kocha. Vynašiel tzv. **Petriho misky** (Petri, 1887), na ktorých sa dodnes mikroorganizmy kultivujú na pevných médiách.

V roku 1884 vynašiel francúzsky mikrobiológ, asistent Luisa Pasteura, **Charles Chamberland** (1851-1908) filter známy ako **Chamberlandov filter** (alebo Pasteur-Chamberlandov filter) s pórmi menších rozmerov, ako majú baktérie. Pomocou tohto filtra bolo možné z vody baktérie odstrániť (Shors, 2008). V roku 1892 použil ruský biológ **Dmitri Iwanowski** (1864-1920) tento filter na štúdium neznámeho agens spôsobujúceho ochorenie tabaku, ktoré je už dnes známe pod názvom **vírus tabakovej mozaiky**. Jeho pokusy ukázali, že po tom, čo získal extrakty rozdrvením listov infikovanej rastliny a následne ich prefiltroval Chamberlandovým filtrom, boli prefiltrované extrakty stále infekčné (Iwanowski, 1892). Výsledky boli pomerne nečakané, keďže sa v tej dobe predpokladalo, že všetky infekčné mikroorganizmy by mali byť zadržané pomocou filtrov a následne kultivovateľné na živnom médiu (Dimmock a kol., 2007). Iwanowski je považovaný za jedného zo zakladateľov virológie.

Holandský mikrobiológ a botanik **Martinus Beijerinck** (1851-1931) zopakoval experimenty Iwanowského, čo ho následne doviedlo k názoru, že filtrovaný roztok obsahoval novú miniatúrnu formu infekčného agens menšiu ako baktérie (Dimmock a kol., 2007). Pozoroval, že agens sa množil iba v bunkách, ktoré sa delili a agens nazval **vírus**. Výsledky publikoval v roku 1898 (Beijerinck, 1898). Dokázal teda, že rozmnožovanie vírusov je viazané na bunku. Beijerinck je tiež považovaný za jedného zo zakladateľov virológie, venoval sa však aj štúdiu nitrifikačných a sírnych baktérií.

Beijerinck nevedel, že vírusy sa skladajú z častíc a myslel si, že majú kvapalné skupenstvo. Túto teóriu neskôr spochybnil Wendell Stanley, ktorý dokázal, že vírusy sú častice (Collier a kol., 1998). Takmer súbežne s Beijerinckom objavili pomocou podobných filtrov Friedrich Loeffler a Paul Frosch vírus zvierat – „slintačku a krívačku“ (aphtovírus) (Fenner, 2009) a následne v rokoch 1900-1901 Walter Reed a jeho kolegovia zistili, že komáre *Aedes aegypti* prenášajú vírus žltej zimnice (RNA vírus) (Navrátil, 2011). Začiatkom 20. storočia následne objavili Frederick Twort a Félix d´Herelle vírusy, ktoré napádajú baktérie (bakteriofágy) (Shors, 2008).

Veľký prelom v oblasti lekárskej mikrobiológie, najmä v boji proti patogénnym baktériám, predstavuje objav antibiotík. Dodnes sa za oficiálne prvé objavené antibiotikum považuje penicilín. Za objaviteľa penicilínu (konkrétne benzylpenicilínu, resp. penicilínu G) sa považuje škótsky mikrobiológ **Alexander Fleming** (1881-1955). Dalo by sa povedať, že Fleming objavil penicilín v roku 1928 vlastne náhodne. Fleming pestoval vo svojom laboratóriu na Petriho miskách baktérie nazývané stafylokoky. Po návrate z dovolenky si všimol, že má kultúru baktérií kontaminovanú plesňou. V okolí miest, kde rástla pleseň, žiadne baktérie nerástli. Išlo o pleseň rodu *Penicillium*. Pestoval potom pleseň samostatne a zistil, že produkuje substanciu, ktorá je schopná zabíjať mnohé druhy baktérií. Túto substanciu nazval **penicilín**. Tento svoj objav v roku 1929 publikoval v časopise British Journal of Experimental Pathology (Fleming, 1980). Až o pár rokov neskôr (1943-1944) britskí vedci z Oxfordu Ernst Boris Chain a Howard Florey vymysleli postup ako produkovať

penicilín vo veľkých množstvách a začala sa jeho priemyselná výroba (Betina a Nemec, 1977). Fleming, Chain a Florey dostali za objav penicilínu v roku 1945 Nobelovu cenu. Dodnes patrí penicilín medzi pomerne často využívané antibiotiká, ktoré už zachránili tisícky ľudských životov. Ďalším Flemingovým významným objavom bol objav lyzozýmu, enzýmu, ktorý rozkladá peptidoglykánové bunkové steny baktérií (Fleming, 1922).

Od sedemdesiatych rokov dvadsiateho storočia začína v mikrobiológii do veľkej miery prevládať trend študovať mikroorganizmy pomocou molekulovo-biologických metód. V roku 1977 **Frederick Sanger** (1918-2013) a **Walter Gilbert** (nar. v r. 1932) vynašli tzv. Sangerovu **metódu sekvenovania DNA**. Táto metóda sa postupne rozvíjala a napokon umožnila sekvenovať celé genómy mikroorganizmov. Za túto metódu dostali Sanger a Gilbert v roku 1980 Nobelovu cenu. Ďalšou významnou metódou dodnes hojne využívanou na identifikáciu mikroorganizmov je **PCR** (polymerázová reťazová reakcia, z angl. polymerase chain reaction). V súčasnosti ide azda o najvyužívanejšiu metódu molekulovej biológie. Nositeľom Nobelovej ceny za objav tejto metódy sa stal v roku 1993 **Kary Mullis** (nar. 1944).

Literatúra

ANDROUTSOS, G. 2004. Paul Ehrlich (1854-1915): founder of chemotherapy and pioneer of haematology, immunology and oncology. J BUON 9, 485-491.

BAXBY, D. 1999. Edward Jenner's inquiry; a bicentenary analysis. Vaccine 17, 301-307.

BEIJERINCK, M. W. 1898. Über ein Contagium vivum fluidum als Ursache der Fleckenkrankheit der Tabaksblätter. Verhandelingen der Koninklijke akademie van Wetenschappen te Amsterdam (v nemčine). 65: 1–22. Preložené do angličtiny v: Johnson, J., Ed. (1942) Phytopathological classics. (St. Paul, Minnesota: American Phytopathological Society) No. 7, pp. 33-52 (St. Paul, Minnesota).

BETINA, V. – NEMEC, P. 1977. Všeobecná mikrobiológia. Bratislava: Alfa.

BORDENAVE, G. 2003. Louis Pasteur (1822–1895). Microbes Infect 5, 553–560.

BROCK T. Robert Koch: A life in medicine and bacteriology. ASM Press: Washington DC, 1999.

COLLIER, L. – BALOWS, A. – SUSSMAN, M. 1998. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 9th edition. Vol. 1: Virology. London: Arnold.

DeVITA, V.T. – CHU, E. 2008. A history of cancer chemotherapy. Cancer Res 68, 8643-8653.

DIMMOCK, N. J. – EASTON, A. J. – LEPPARD, K. 2007. Introduction to modern virology. 6th edition. Blackwell Publishing.

FENNER, F. 2009. Desk encyclopedia of general virology. 1st edition. Oxford: Academic Press.

FEINSTEIN, S. 2008. Louis Pasteur: The father of microbiology. Enslow Publishers, Inc.

FLEMING, A. 1980. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of B. influenzae. (Reprinted from the British Journal of Experimental Pathology 10:226–236, 1929). Clin Infect Dis 2, 129–139. Reprint of "On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to their Use in the Isolation of B. influenzæ". Br J Exp Pathol 10, 226–236.

FLEMING, A. 1922. On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. Proc Royal Soc B 93, 306–317.

HOOKE, R. 1665. Micrographia: or some physiological descriptions of minute bodies made by magnifying glasses. With observations and inquiries thereupon. Royal Society, London.

IWANOWSKI, D. 1892. Über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. Bulletin Scientifique publié par l'Académie Impériale des Sciences de Saint-Pétersbourg / Nouvelle Serie III (in German and Russian). St. Petersburg. 35, 67–70. Preložené do angličtiny v: Johnson, J., Ed. (1942) Phytopathological classics (St. Paul, Minnesota: American Phytopathological Society) No. 7, pp. 27-30.

LANE, N. 2015. The unseen world: reflections on Leeuwenhoek (1677) 'Concerning little animals'. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 370, 20140344.

NAVRÁTIL, M. 2011. Základy virologie: obecná virologie. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci.

PETRI, R. J. 1887. Eine kleine Modification des Koch`schen Plattenverfahrens (A small modification of Koch's plate method), Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde 1, 279-280.

PITT, D. – AUBIN, J.-M. 2012. Joseph Lister: father of modern surgeryCan J Surg 55, E8–E9.

RIBATTI, D. 2018. An historical note on the cell theory. Exp Cell Res 364, 1-4.

SHORS, T. 2008. Understanding viruses. Jones and Bartlett Publishers.

4 STRUČNÝ PREHĽAD VÝVOJA KLASIFIKÁCIE ORGANIZMOV

Matej Vesteg

Ľudia mali už od dávnych čias potrebu živé organizmy pomenovávať a klasifikovať ich do systematických skupín na základe podobnosti. Keďže o existencii mikroorganizmov ľudstvo väčšinu času svojej existencie netušilo, prvé snahy o klasifikáciu organizmov boli zamerané na makroskopické organizmy. Už **Aristoteles** (384-322 PNL) rozdeľoval organizmy na dve základné skupiny – **rastliny (Plantae)** a **živočíchy (Animalia)**. Za rastliny boli považované prakticky všetky organizmy (vrátane húb), ktoré sú prichytené o substrát a aktívne sa nehýbu. Naopak všetky pohybujúce sa organizmy, ktoré si aktívne zháňajú potravu, boli považované za živočíchy. Toto členenie pretrvalo prakticky až do druhej polovice 19. storočia.

V pomenovaní organizmov panoval chaos až do čias, kým švédsky botanik **Carl von Linné** (Carl Linnæus) (1707-1778) nepublikoval v roku 1735 prvú edíciu svojho diela Systema Naturae (Linnæus, 1735). Toto dielo však potom až do konca svojho života revidoval, dopĺňal a v rôznych podobách vyšlo niekoľkokrát počas jeho života. Za najvýznamnejšiu je považovaná desiata edícia tohto diela (Linnæus, 1758) V tomto diele zaviedol dvojslovné pomenovanie organizmov – **binomickú nomenklatúru**. Prvé slovo označuje rod (genus) a druhé druh (species). Binomická nomenklatúra poskytla systematickej biológii jednotiaci princíp, ktorý sa využíva dodnes. Okrem rodových a druhových pomenovaní Linné už klasifikuje jednotlivé druhy (resp. rody) rastlín a živočíchov aj do vyšších taxonomických kategórií na základe morfologických podobností. Rody radil do radov (rad = ordo), rady do tried (trieda = classis) a triedy do ríš (ríša = regnum). Zaujímavosťou je, že popri rastlinách (*Regnum Vegetabile*) a živočíchoch (*Regnum Animale*) rozoznával aj tretiu neživú ríšu (*Regnum Lapideum*), kam radil nerasty, horniny a fosílie. Taxonomické kategórie ako ríša, trieda a rad využívajú mnohí systematici dodnes a často sa s nimi možno stretnúť v rôznych učebniciach. Postupne však boli počas vývoja systematiky zavádzané aj ďalšie systematické kategórie, ktorých pomenovania a koncovky názvov jednotlivých skupín sa môžu u rôznych skupín organizmov od seba odlišovať (napr. rozdiely v taxonómii rastlín, živočíchov a húb).

Ernst Haeckel (1834-1919) bol významný nemecký biológ, ktorý popísal množstvo nových druhov a zaviedol aj termíny ako fylogenéza, ekológia, či kmeň (*phylum*). Známy je najmä svojou teóriou, že v prípade zárodočného vývinu živočíchov (ontogenézy) dochádza k skrátenej rekapituláciu fylogenetických štádií, ktorými prešli predchodcovia daného živočícha (Haeckelovo biogenetické pravidlo). Hoci dnes vieme, že toto pravidlo celkom neplatí, táto teória dnes vyústila do disciplíny, ktorú nazývame evolučná vývinová biológia (evolutionary developmental biology = evo-devo). Haeckel vo svojom diele „Generelle Morphologie der Organismen" tvrdí, že **jednobunkové formy** nemožno uspokojivo zaradiť ani medzi rastliny, ani medzi živočíchy a zaraďuje ich do **tretej ríše Protista** (Haeckel, 1866). Haeckel už skupinu Protista ďalej rozdeľuje do viacerých skupín. Jednou zo skupín Protista bola v jeho klasifikácii aj skupina Monera, do ktorej neskôr systematici zaraďovali len prokaryotické organizmy bez jadra. Haeckel však Monera definuje ako „homogénne organizmy bez štruktúry skladajúce sa len z kúska plazmy" a zaraďuje sem najmä jednoduchšie eukaryotické jednobunkovce. Spomedzi dovtedy popísaných rodov prokaryotov zaraďoval Haeckel medzi Monera len rod *Vibrio*. Naopak prokaryotické sinice (cyanobaktérie ako napr. rod *Nostoc*) radil do ríše Plantae, konkrétne do skupiny Archaephyta.

V skutočnosti však už za čias Haeckela bol pravdepodobne aspoň niektorým vedcom známy rozdiel medzi prokaryotickými a eukaryotickými bunkami, hoci sa týmito termínmi ešte neoznačovali. Termín baktéria je odvodený od rodu *Bacterium*, ktorý už v roku 1828 popísal **Christian Gottfried Ehrenberg** (1795-1876). Ehrenberg popísal aj množstvo nových druhov jednobunkových eukaryotov a niekoľko ďalších rodov baktérií. Rod *Bacterium* bol neskôr bakteriológmi zrušený, ale pod tento rod patrila aj dnešná modelová baktéria *Escherichia coli*. Až v roku 1872 však začína termín **baktérie** (v nemčine Bacterien) používať **Ferdinand Cohn** (1828-1898), ktorý týmto termínom neformálne označuje mikroorganizmy bez jadra (Cohn 1872). Cohn je považovaný za jedného zo zakladateľov bakteriológie.

Francúz **Édouard Chatton** (1883-1947) bol prvým biológom, ktorý začal používať termíny **prokaryotický a eukaryotický** (Chatton, 1925). Chatton sa zaoberal jednobunkovcami, a preto rozdelil Haeckelovu ríšu Protista na dve skupiny: prokaryotické Protista bez jadra a mitochondrií a eukaryotické Protista s jadrom a mitochondriami (Chatton, 1925; Katscher, 2004). Chatton už správne zaradil sinice (cyanobaktérie) medzi prokaryoty.

V roku 1938 Američan **Herbert Copeland** (1902-1968) už radil medzi taxón **Monera len prokarytické organizmy** (Copeland, 1938). Jeho systém teda už pozostával zo štyroch ríš (Monera, Protista, Plantae a Animalia). Až **v roku 1969 Robert Whittaker** zaviedol **piatu ríšu Fungi** (huby) (Whittaker, 1969). S klasifikáciou organizmov do piatich ríš sa dodnes stále môžeme pomerne bežne stretnúť v učebniciach, hoci je dnes už jasné, že ani takáto klasifikácia nie je celkom uspokojivá.

V roku 1967 vydala Američanka **Lynn Margulis** (1938-2011) (v tom čase ešte Lynn Sagan) článok „On the Origin of Mitosing Cells“, v ktorom oživila dlho ignorovanú **endosymbiotickú teóriu**, podľa ktorej organely eukaryotickej bunky ako mitochondrie a chloroplasty vznikli z endosymbiotických baktérií (Sagan, 1967). V skutočnosti už začiatkom 20. storočia ruský botanik **Konstantin Mereschkowski** (1844-1921) publikoval hypotézu, že **chloroplasty vznikli z** fotosyntetických **cyanobaktérií** (Mereschkowski, 1905). O niečo neskôr prišiel Američan **Ivan Wallin** (1883-1969) zaoberajúci sa mitochondriami s myšlienkou, že aj **mitochondrie vznikli z baktérií** (Wallin, 1927). Tieto hypotézy boli na dlhý čas zabudnuté, až kým ich najmä v sedemdesiatych rokoch dvadsiateho storočia nespropagovala práve Lynn Margulis. Margulis však uvažovala, že aj iné organely eukaryotickej bunky vznikli z baktérií. Do veľkej miery propagovala najmä vznik bičíkov a mitotického aparátu zo symbiotických spirochét, čo sa napokon nepotvrdilo. Teória pôvodu mitochondrií z α-proteobaktérií a primárnych chloroplastov (obalených dvomi membránami) rastlín a zelených a červených rias je dnes všeobecne uznávaná a len veľmi ťažko spochybniteľná. V jej prospech svedčí množstvo dôkazov (napr. prítomnosť DNA a ribozómov baktériového typu v týchto organelách). Endosymbiotická teória má v súčasnosti veľký dopad na systematiku eukaryotov (viď nižšie).

V roku 1977 zistil Američan **Carl Woese** (1928-2012) a jeho spolupracovník George Fox na základe porovnávacích analýz ribozómových RNA z malých podjednotiek ribozómov (fylogenetická analýza 16S rRNA), že na molekulovej úrovni existujú dve radikálne odlišné skupiny prokaryotov (Woese a Fox, 1977). V tom čase ich spočiatku začali označovať ako archaebaktérie (Archaebacteria) a eubaktérie (Eubacteria). Zdalo sa, že tieto dve skupiny sa molekulovej úrovni odlišujú natoľko, ako sa obe tieto skupiny líšia od eukaryotov. Neskôr sa však ukázalo, že archaebaktérie sú na molekulovej úrovni podobnejšie eukaryotom ako eubaktériám. Archaebaktérie boli teda premenované na Archaea (archeóny) a eubaktérie na Bacteria (baktérie). Carl Woese a kol. (1990) sú teda autormi základnej **klasifikácie organizmov do troch** tzv. **domén: Bacteria, Archaea a Eukarya**. Rozdelenie organizmov do troch domén je dodnes všeobecne uznávanou klasifikáciou.

V súčasnosti je **molekulová fylogenetika** založená na porovnávaní sekvencií nukleových kyselín a proteínov za účelom zisťovania príbuznosti organizmov (Felsenstein, 2004) silným nástrojom modernej systematiky a klasifikácie organizmov. Fylogenetické analýzy v súčasnosti ukazujú, že ani doménu **Eukarya** nemožno rozdeliť len na rastliny, živočíchy, huby a Protista. Najčastejšie sa v súčasnosti stretávame s rozdelením eukaryotov do **piatich veľkých „superskupín**" (z angl. „supergroups"): **Amoebozoa** (viď kapitola 23), **Opisthokonta** (viď kapitola 24), **Archaeplastida** (viď kapitola 25), **SAR** (**S**tramenopiles + **A**lveolata + **R**hizaria, viď kapitola 26) a **Excavata** (viď kapitola 27) (Adl a kol., 2012). V súčasnosti sa tiež často upúšťa aj od klasifikácie organizmov do klasických systematických jednotiek (ako napr. kmeň, trieda, rad) a dôležité pre systematiku je len poradie rozvetvovania línií počas evolúcie danej skupiny. Dôraz sa teda kladie len na systematicky nadradené a podradené taxóny (Adl a kol., 2012). Takýto prístup ku klasifikácii organizmov sa nazýva kladistika. Ukázalo sa, že huby a živočíchy sú si natoľko príbuzné, že sú spoločne radené do taxónu Opisthokonta. Naopak nie všetky fotosyntetické eukaryoty sa zaraďujú do jedného taxónu. Do skupiny Archaeplastida patria iba organizmy s tzv. primárnymi plastidmi (resp. chloroplastami) s dvomi membránami, ktoré vznikli endosymbiózou z cyanobaktérií u ich spoločného predka. Medzi Archaeplastida patria suchozemské rastliny, zelené riasy, červené riasy a skupiny Glaucophyta. Skupiny Excavata a SAR zahŕňajú heterotrofné aj fototrofné eukaryoty. Množstvo línií (najmä Protista) zo skupín SAR a Excavata má plastidy obalené tromi alebo štyrmi membránami, ktoré vznikli už tzv. sekundárnou endosymbiózou z eukaryotických červených alebo zelených rias, preto nemôžu byť radené do spoločného taxónu s rastlinami, keďže im nie sú príbuzné.

Okrem spomínaných piatich veľkých skupín eukaryotov však existuje **viacero skupín jednobunkových eukaryotov (Protista)**, ktoré **nemožno na základe fylogenetických analýz zaradiť ani do jednej z týchto piatich skupín**. Medzi najznámejšie z týchto skupín patria **Haptophyta, Cryptophyta, Kathablepharida, Centrohelida, Telonemida, Rigifilida, Breviatea, Apusomonadida, Ancyromonadida, Mantamonadida, Collodictyonida, Picozoa, Hemimastigophora, „rappemonády" a rod *Palpitomonas*** (viď kapitola 28). V systéme podľa Adl a kol. (2012) boli tieto skupiny označené ako skupiny nejasného taxonomického postavenia (*incertae sedis*). Podľa najnovšej klasifikácie na základe najnovších fylogenetických analýz sú **Opisthokonta radené spoločne s Breviatea a Apusomonadida** do taxónu **Obazoa** a **Collodictyonida, Rigidifilida a Mantamonadida sú radené do spoločného taxónu CRuMs** (Adl a kol., 2019). **Amoebozoa a Obazoa** spolu vytvárajú taxón **Amorphea**. **Centrohelida a Haptophyta** sa spolu zaraďujú do taxónu **Haptista** a **Cryptophyta, Katablepharida a rod *Palpitomonas*** do taxónu **Cryptista**. **Haptista, Cryptista, Archaeaplastida** a ďalšie skupiny ako napr. Picozoa, Telonemida a „rappemonády" spolu tvoria taxón **Diaphoretickes** (Adl a kol., 2019, viď kapitola 28). **Taxón Excavata sa** naopak **rozpadol** na tri samostatné skupiny – **Metamonada, Discoba a Malawimonadidae** (viď kapitola 27), ktoré sú v súčasnosti nejasného taxonomického postavenia. Aj v tomto najnovšom rozdelení eukaryotov (Adl a kol., 2019) však ešte možno v blízkej budúcnosti očakávať viacero zmien. Pre tieto zmeny v klasifikácii eukaryotov bude kritické zistiť najmä evolučné vzťahy eukaryotov nejasného taxonomického postavenia ku zoskupeniam eukaryotov, ktoré sú dobre podporené fylogenetickými analýzami.

Literatúra

ADL, S. M. a kol. 2012. The revised classification of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 59, 429-493.

ADL, S. M. a kol. 2019. Revisions to the classification, nomenclature and diversity of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 66, 4-119.
CHATTON, É. 1925. Pansporella perplexa. Ann Sci Nat Zool 8, 5-85.
COHN, F. 1872. Untersuchungen über Bakterien. Beiträge zur Biologie der Pflanzen 1, 127-224.
COPELAND, H. 1938. The kingdoms of organisms. Quarterly Review of Biology 13, 383-420.
EHRENBERG, C. G. 1828 [plates], 1831 [text]. Symbolae physicae animalia evertebrata. In: Symbolae physicae, seu Icones adhue ineditae corporum naturalium novorum aut minus cognitorum, quae ex itineribus per Libyam, Aegyptum, Nubiam, Dengalam, Syriam, Arabiam et Habessiniam. Pars Zoologica. Hemprich F. G. & Ehrenberg C. G. (eds.). Officina Academica: Berlin.
FELSENSTEIN, J. 2004. Inferring phylogenies. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.
HAECKEL, E. 1866. Generelle Morphologie der Organismen : allgemeine Grundzüge der organischen Formen-Wissenschaft, mechanisch begründet durch die von Charles Darwin reformirte Descendenz-Theorie. Reimer, Berlin.
KATSCHER, F. 2004. The history of the terms prokaryotes and eukaryotes. Protist 155, 257-263.
LINNÆUS, C. 1735. Systema naturæ, sive regna tria naturæ systematice proposita per classes, ordines, genera, & species. Lugduni Batavorum. (Haak).
LINNÆUS, C. 1758. Systema naturæ per regna tria naturæ, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Holmiæ. (Salvius).
MERESCHKOWSKI, C. 1905. Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. Biol Centralbl 25, 593-604. (Preložené do angličtiny v Martin, W., Kowallik, K.V., 1999. Eur J Phycol 34, 287-295).
SAGAN, L. 1967. On the origin of mitosing cells. J Theor Biol 14, 225-274.
WALLIN, I.E. 1927. Symbionticism and the origin of species. London: Bailliere, Tindall and Cox.
WHITTAKER, R. H. 1969. New concepts of kingdoms of organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. Science 163, 150-160.
WOESE, C. R. – FOX G. E. 1977. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. Proc Natl Acad Sci USA 74, 5088-5090.
WOESE, C. R. – KANDLER, O. – WHEELIS, M. L. 1990. Toward a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proc Natl Acad Sci USA 87, 4576-4579.

5 CHEMICKÉ ZLOŽENIE MIKROORGANIZMOV

Simona Kobušová, Matej Vesteg

Živá hmota okolo nás sa skladá prevažne z vody a organických molekúl. Menšie množstvo predstavujú anorganické látky. Zlúčeniny tvoriace živé organizmy sa po izolácii z biologického systému chovajú podľa fyzikálnych a chemických zákonov platiacich pre neživé objekty. Tieto molekuly sú zložené z atómov chemických prvkov. Kostru organických zlúčenín tvorí uhlík.

5.1 Prvky prítomné v živých organizmoch

Napriek obrovskej pestrosti živých systémov sa každý organizmus skladá z rovnakých chemických prvkov, ktoré majú väčšinou podobné zastúpenie. Na chemickom zložení buniek a ich organel sa zúčastňuje približne 20 prvkov, ktoré rozdeľujeme na:

1. **Makroelementy (primárne):** C, H, O, N, S, P. Tieto prvky vytvárajú približne 99% živej hmoty, preto ich označujeme aj ako biogénne prvky. Tvoria podstatnú zložku nukleových kyselín, bielkovín, lipidov a sacharidov.
2. **Mikroelementy (sekundárne):** K, Mg, Cl, Fe, Ca, Na, Cu, Mn, Zn. Tieto prvky tvoria asi len 1% živých organizmov, ale sú esenciálne pre správne fungovanie biofyzikálnych procesov v bunkách.
   Makroelementy a mikroelementy sú zastúpené vo všetkých živých bunkách.
3. **Ultramikroelementy (stopové prvky):** Mo, B, Br, Co, Ti, Va, Ag, Au a iné. Na rozdiel od vyššie uvedených prvkov nie sú stopové prvky zastúpené vo všetkých bunkách a ich podiel je menší ako 0,001%. Tieto prvky sú potrebné pre fungovanie iba niektorých enzymatických reakcií niektorých organizmov (Šimonovičová a kol., 2013).

5.2 Chemická väzba

Anorganické aj organické látky sa skladajú z atómov, ktoré sú pospájané chemickými väzbami. Vlastnosti látok sú podmienené obsahom atómov a typom chemických väzieb, ktorými sú pospájané do molekúl (resp. makromolekúl).

Atómy sa skladajú z kladne nabitého jadra a záporne nabitého elektrónového obalu. V jadre každého atómu sa nachádzajú kladne nabité protóny a elektricky neutrálne neutróny. Jadro má preto kladný náboj. Záporne nabité elektróny sa neustále pohybujú okolo jadra v priestoroch (orbitáloch) rýchlosťami blížiacimi sa k rýchlostiam svetla. Jednotlivé orbitály vytvárajú záporne nabitý elektrónový obal atómov. V každom orbitáli môžu byť najviac dva elektróny líšiace sa tzv. spinom.

Chemická väzba medzi dvomi atómami vzniká prostredníctvom prekrytia posledných (valenčných) vrstiev ich elektrónových obalov. Atómy sa spájajú preto, aby zaplnili svoje valenčné vrstvy elektrónmi, čo je pre ne energeticky výhodné. Spojením dvoch alebo viacerých atómov s nespárenými elektrónmi tak vznikajú energeticky stabilnejšie molekuly.

Prvky, ktoré nemajú úplne zaplnenú poslednú vrstvu elektrónového obalu, majú tendenciu zlučovať sa s inými prvkami s nezaplnenou poslednou vrstvou. Všetky prvky

nachádzajúce sa v živých sústavách nemajú úplne zaplnené elektrónové vrstvy, preto sú schopné tvorby chemických väzieb s inými atómami za vzniku molekúl. Medzi tieto prvky patria napr. H, C, N, O, Na, Mg, P, S, Cl, K a Ca. Prvky patriace medzi vzácne (inertné) plyny (napr. He, Ne a Ar) majú úplne obsadené posledné elektrónové vrstvy, preto nie sú schopné tvorby chemických väzieb.

Existuje viacero typov chemických väzieb. Energeticky stabilný stav môže atóm s nezaplnenou valenčnou vrstvou dosiahnuť prenosom elektrónu z jedného atómu na druhý. Napr. v prípade **iónovej väzby** v molekule **NaCl** atóm sodíka odovzdá svoj jediný elektrón z poslednej vrstvy atómu chlóru, ktorému na úplné zaplnenie poslednej vrstvy práve jeden elektrón chýba, čím sa z atómu Na stane katión Na^+ a z atómu Cl anión Cl^-, pričom sa tieto dva ióny priťahujú. Iným typom chemickej väzby je **kovalentná väzba**, ktorá vzniká práve prekrytím nezaplnených orbitálov poslednej elektrónovej vrstvy. Elektróny poslednej vrstvy dvoch atómov vytvoria elektrónový pár(y) spoločný(é) pre oba atómy. Reaktivita a väzbovosť prvkov (počet možných väzieb s inými atómami) je daná počtom elektrónov nachádzajúcich sa v poslednej (valenčnej) vrstve elektrónového obalu. Pokiaľ spoločný elektrónový pár patrí rovnocenne obom atómom, ide o **nepolárnu kovalentnú väzbu**. Pokiaľ je spoločný pár viac priťahovaný jedným ako druhým atómom, ide **o polárnu kovalentnú väzbu**. V prípade polárnej kovalentnej väzby sa na jednom atóme vytvára parciálny kladný a na druhom atóme parciálny záporný náboj. Príkladom nepolárnej kovalentnej väzby je napr. jednoduchá väzba medzi dvomi rovnakými atómami v molekulách H_2 alebo dvojitá väzba v molekule O_2. Príkladom polárnej kovalentnej väzby je napr. väzba medzi atómami kyslíka a vodíka v molekulách vody (H_2O), v ktorých je na kyslíku parciálny záporný a na vodíkoch parciálny kladný náboj. Vďaka týmto parciálnym nábojom sú molekuly vody schopné medzi sebou vytvárať **nekovalentné vodíkové väzby**. Nekovalentné (slabé) interakcie sú kritické pre správnu funkciu makromolekúl (napr. nukleových kyselín a bielkovín) v živých systémoch.

5.3 Voda

Voda je síce anorganickou látkou, ale predstavuje hlavnú zložku živých organizmov. V prípade mikroorganizmov predstavuje približne 75-90% z ich celkového chemického zloženia (Šimonovičová a kol., 2013). Voda sa nachádza v organizmoch v dvoch formách – ako voľná alebo viazaná.

Voľná voda umožňuje rozpúšťanie koloidných a kryštalických materiálov. Pri jej odstránení z mikroorganizmu sa neporušuje ich bunková štruktúra. Keď sa však odstráni z mikroorganizmov viazaná voda, ktorá predstavuje len 3-6 % z jej celkového obsahu, bunková štruktúra sa narúša. Na odstránenie vody zo zamrznutých látok alebo produktov sa využíva proces lyofilizácie. Tento proces má uplatnenie aj v mikrobiológii, keď je potrebné uskladniť kultúry mikroorganizmov na dlhšiu dobu (Šimonovičová a kol., 2013). Po príprave suspenzie obsahujúcej mikroorganizmy sa skúmavky zamrazia pri teplote –40 až –50 °C. Zamrznuté skúmavky sa pod vysokým podtlakom vysušia (zamrznutá voda sublimuje) a zatavia. Takéto zatavené skúmavky s kultúrami mikroorganizmov prežijú bez akejkoľvek zmeny vlastností niekoľko rokov. Ak sa k lyofilizovanej kultúre pridá vhodné živné médium, mikroorganizmus sa znova oživí a začne sa množiť.

Mikroorganizmy aj makroorganizmy sa obsahom vody v bunkách líšia nielen medzi druhmi, ale aj v rámci jedincov toho istého druhu. Rozdiel v obsahu vody v bunkách medzi jedincami toho istého druhu je zapríčinený vnútornými činiteľmi, medzi ktoré patrí napr. starnutie bunky, kedy sa pomer obsah vody znižuje alebo tiež vonkajšími činiteľmi ako napr. vysychanie. Aby mikroorganizmy prečkali nepriaznivé obdobia ako vysychanie, môžu vytvárať útvary s hrubostennými obalmi, ako sú spóry alebo cysty.

Voda je najdôležitejšiu anorganickou látkou vyskytujúcou sa v živom organizme. Je polárnym rozpúšťadlom pre väčšinu anorganických či organických látok. Podieľa sa na zabezpečení transportu rôznych zlúčenín v organizme na cieľové miesta. Voda sa tiež podieľa na biochemických reakciách prebiehajúcich v živých organizmoch, ale môže byť aj ich produktom. Taktiež môže aktivovať chemické reakcie, spôsobuje napr. disociáciu (rozklad/štiepenie) mnohých pevných anorganických zlúčenín na vo vode rozpustné katióny a anióny. Umožňuje priebeh mnohých reakcií, ktoré by sa v bezvodom prostredí nemohli uskutočniť. Väčšina biochemických reakcií prebieha práve vo vodnom prostredí. Voda sa podieľa na udržiavaní homeostázy (rovnováhy vnútorného prostredia organizmu).

Okrem vody sú anorganickou zložkou organizmov aj plyny (napr. CO_2, O_2 a N_2), minerály (napr. ióny K, Mg, Cl, Fe, Ca, Na, Cu, Mn a Zn) a tzv. popoloviny (Chalupová-Karlovská, 2010). Popoloviny sú nespáliteľné časti vytvárajúce 5-10% sušiny mikroorganizmov (napr. draselné fosfáty).

5.4 Atómy uhlíka tvoria kostru organických zlúčenín

Uhlík zaberá viac ako polovicu hmotnosti buniek v sušine. Uhlík je základnou stavebnou jednotkou všetkých organických látok. Tento chemický prvok má v poslednej elektrónovej vrstve štyri elektróny, pričom pre dosiahnutie energeticky rovnovážneho stavu mu chýbajú ďalšie štyri, preto je štvorväzbový. Jeho štvorväzbovosťou je daná aj jeho schopnosť viazania sa do rôznych pomerne komplikovaných reťazcov a štruktúr. V biológii je mimoriadne dôležitá schopnosť uhlíka vytvárať stabilné jednoduché väzby uhlík-uhlík (C-C). Medzi dvomi uhlíkmi však môže byť v makromolekulách aj dvojitá väzba (C=C). Kovalentne viazané atómy uhlíka v organických molekulách môžu vytvárať lineárne nerozvetvené alebo rozvetvené reťazce a cyklické štruktúry. Uhlík tvorí v podstate kostru všetkých organických látok a makromolekúl, pričom na reťazce uhlíka v makromolekulách sú naviazané aj ďalšie atómy (najčastejšie H, O, N, P a S). Vytvára jednoduché kovalentné väzby s vodíkom a jednoduché alebo dvojité väzby s dusíkom a kyslíkom.

V bunkách sa nachádza veľké množstvo organických molekúl s nízkou molekulovou hmotnosťou, ako sú aminokyseliny, nukleotidy, cukry (= sacharidy) a ich fosforylované deriváty a mono-, di- a trikarboxylové kyseliny. Tieto molekuly sú polárne (nabité alebo aspoň s čiastkovým nábojom), preto sú rozpustné vo vode. Rozpustnosť týchto látok vo vode je daná ich schopnosťou tvoriť vodíkové väzby s parciálne záporne nabitým kyslíkom a/alebo parciálne kladne nabitými vodíkmi v molekulách vody. Nukleotidy sú základnou zložkou nukleových kyselín, aminokyseliny proteínov, sacharidy polysacharidov a karboxylové kyseliny sú súčasťou lipidov. Univerzálny výskyt spomínaných zlúčenín uhlíka v živých bunkách je odrazom vysokej evolučnej konzervatívnosti základných metabolických dráh všetkých bunkových organizmov.

Okrem týchto univerzálnych látok sa môžu v bunkách organizmov vyskytovať aj látky, ktoré sú špecifické pre určité typy buniek a/alebo organizmov (napr. morfín, chinín, nikotín a kofeín v bunkách rastlín alebo hormóny a rastové faktory v bunkách živočíchov).

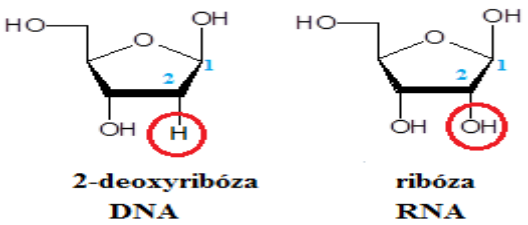
5.5 Nukleové kyseliny

Nukleové kyseliny sú biomakromolekulové zlúčeniny zodpovedajúce za uchovávanie a prenos genetickej informácie. Medzi nukleové kyseliny patria deoxyribonukleová kyselina (DNA) a ribonukleová kyselina (RNA). Prvýkrát boli izolované z jadier bielych krviniek švajčiarskym lekárom Johannesom Friedrichom Miescherom v roku 1869 (Dahm, 2008).

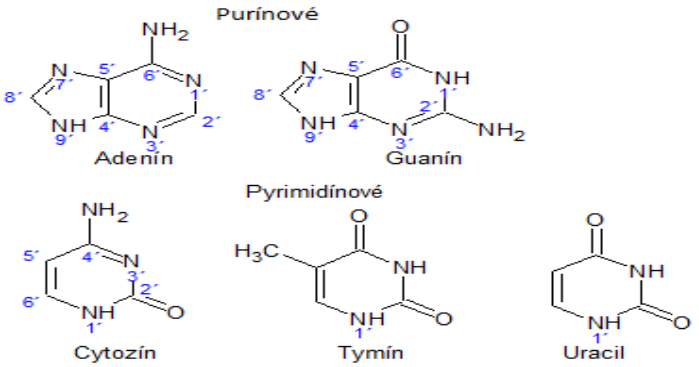
Výskum štruktúry a funkcie nukleových kyselín poskytol ľuďom hlbšie chápanie biologických procesov a je aj silným nástrojom používaným v rozmanitých oblastiach ako napr. identifikácia mikroorganizmov, diagnostika a liečba chorôb, forenzné vyšetrovanie a štúdium fylogenézy a systematiky organizmov (McKee a McKee, 2016).

5.5.1 Nukleotidy sú stavebnými jednotkami nukleových kyselín

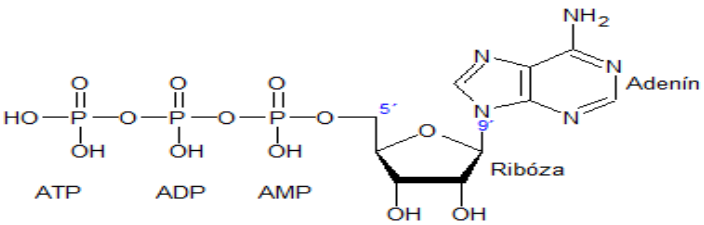
Nukleové kyseliny sa skladajú z nukleotidov, ktoré sa skladajú z troch zložiek. Prvou je **sacharidová zložka** (pentóza) – **ribóza** (v prípade **RNA**) alebo **deoxyribóza** (v prípade **DNA**) (obr. 5.1). Druhou zložkou je zvyšok kyseliny trihydrogénfosforečnej (**H_3PO_4**) a treťou zložkou sú **dusíkaté bázy** (zásady) odvodené od **purínu** – **adenín** (**A**) a **guanín** (**G**) alebo od **pyrimidínu** – **cytozín** (**C**), **uracil** (U) a **tymín** (**T**) (obr. 5.2). Spojením dusíkatej bázy s pentózou vzniká **nukleozid**. Keď sa naň naviaže zvyšok kyseliny fosforečnej, vzniká **nukleotid** (obr. 5.3). Pyrimidínové bázy sa na pentózu viažu N-glykozidovou väzbou prostrednícvom dusíka $N_{1'}$ a purínové bázy sa na pentózu viažu N-glykozidovou väzbou prostredníctvom dusíka $N_{9'}$ (obr. 5.2 a obr. 5.3).



Obr. 5.1. Sacharidové zložky (pentózy) DNA (2-deoxyribóza) a RNA (ribóza). *Pentózy patria medzi monosacharidy, ktoré obsahujú vo svojich molekulách päť atómov uhlíka. Deoxyribóza a ribóza majú skoro rovnakú štruktúru. V prípade deoxyribózy je však na druhom uhlíku (C_2) naviazaný atóm vodíka (H), pričom v prípade ribózy je na ňom naviazaná hydroxylová (-OH) skupina. S dusíkatými bázami sa obe pentózy viažu prostredníctvom prvého uhlíka (C_1).*



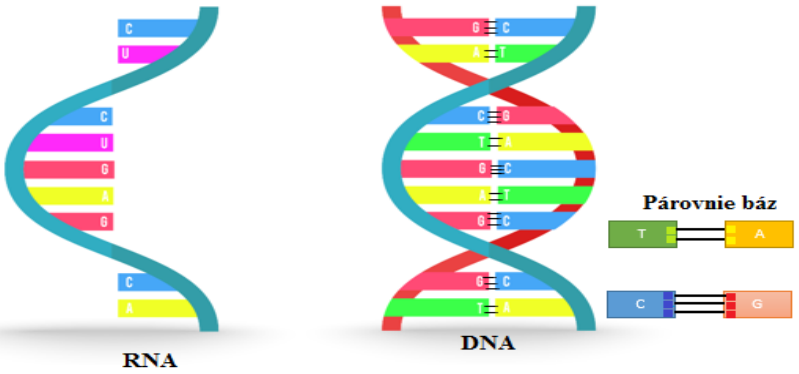
Obr. 5.2. Dusíkaté bázy. *Pyrimidínové bázy C (cytozín), T (tymín) a U (uracil) sa na pentózu viažu N-glykozidovou väzbou prostredníctvom dusíka $N_{1'}$ a purínové bázy A (adenín) a G (guanín) sa na pentózu viažu prostrednícvom dusíka $N_{9'}$.*



Obr. 5.3. Štruktúra nukleotidu (príklad ATP). *Nukleotid tvorí sacharid ribóza (v prípade RNA) alebo deoxyribóza (v prípade DNA), dusíkatá báza (A, C, G, T alebo U) a zvyšok kyseliny fosforečnej. Podľa počtu zvyškov kyseliny fosforečnej* (H_3PO_4) *rozoznávame AMP (obsahuje jeden zvyšok* H_3PO_4*), ADP (dva zvyšky* H_3PO_4*) a ATP (tri zvyšky* H_3PO_4*). Okrem toho, že ATP je jedným zo štyroch prekurzorov syntézy reťazca RNA, je aj univerzálnym nosičom chemickej energie potrebnej pre syntetické procesy v bunkách. ATP vzniká napr. počas glykolýzy, respirácie a fotosyntézy.*

Nukleotidy ATP, GTP, CTP, UTP predstavujú základné prekurzory (monoméry) pre syntézu RNA a nukleotidy dATP (deoxyATP), dGTP (deoxyGTP), dCTP (deoxyCTP) a dTTP (deoxyTTP) pre syntézu DNA. ATP (adenozíntrifosfát) (obr. 5.3) a GTP (guanozíntrifosfát) vznikajú vo viacerých dráhach energetického metabolizmu organizmov a sú potom využívané ako zdroje energie pre ďalšie biochemické procesy.

Pentózy s naviazanými bázami sa v jednovláknovom reťazci nukleovej kyseliny viažu pomocou fosfátového zvyšku kyseliny fosforečnej kovalentne fosfodiesterovou väzbou medzi $C_{3'}$ jedného sacharidu a $C_{5'}$ ďalšieho sacharidu. Rôzne poradie nukleotidov v rôznych reťazcoch RNA a DNA vytvára obrovské množstvo kombinácií. Molekuly RNA sú obyčajne jednovláknové, pričom DNA je v živých systémoch obyčajne dvojvláknová (obr. 5.4). Nukleotidy dvoch jednovláknových reťazcov v dvojvláknovej DNA (ale aj v rámci jednovláknovej RNA) sa navzájom viažu vodíkovými väzbami, ktoré sú na rozdiel od kovalentných väzieb slabšie. V dvojvláknovej molekule DNA stoja oproti sebe vždy dusíkaté bázy purínu a pyrimidínu. Adenín (A) z jedného vlákna sa viaže v dvojvláknovej DNA molekule vždy s tymínom (T) z druhého vlákna dvomi vodíkovými väzbami a cytozín (C) sa viaže vždy s guanínom (G) za účasti troch vodíkových väzieb (obr. 4). Tomuto párovaniu báz (A s T a C s G) hovoríme princíp komplementarity (Alberty, 2011). V prípade jednovláknovej RNA sa C taktiež viaže s G tromi vodíkovými väzbami, ale A sa viaže dvomi vodíkovými väzbami s uracilom (U) namiesto T.



Obr. 5.4. Štruktúra RNA a DNA. *Molekula RNA je zvyčajne tvorená jedným vláknom, ktoré obsahuje dusíkaté bázy A, C, G a U. Molekula DNA je v živých systémoch zvyčajne tvorená dvomi vláknami obsahujúcimi dusíkaté bázy A, C, G a T, ktoré sa párujú na princípe komplementarity (A s T dvomi vodíkovými väzbami a G s C tromi vodíkovými väzbami).*

5.5.2 DNA

Štruktúru **DNA** (**deoxyribonukleová kyselina**, z angl. deoxyribonucleic acid) detailne popísali Američan James Watson a Angličan Francis Crick v roku 1953. Model molekuly DNA navrhli na základe röntgenovej (RTG) analýzy a ďalších experimentálnych výsledkov svojich predchodcov, hlavne Erwina Chargaffa, Rosalindy Franklinovej a Maurica Wilkinsa (Watson a Crick, 1953). Pomocou tohto modelu vysvetlili fyzikálne a chemické vlastnosti DNA. Neskôr aj ozrejmili mechanizmus replikácie DNA. V roku 1962 udelili J. Watsonovi, F. Crickovi a M. Wilkinsovi za objasnenie štruktúry DNA Nobelovu cenu (Mišúrová a Solár, 2007).

Sacharidovou zložkou v molekule DNA je deoxyribóza, ktorá sa viaže s fosfátovým zvyškom a dusíkatými bázami (A, C, G, T). Nukleotidy sa spájajú do jednovláknového reťazca kovalentnými väzbami medzi sacharidmi a fosfátovými zvyškami a tieto dve striedajúce sa zložky vytvárajú kostru jednovláknového reťazca DNA. Jednotlivé nukleotidy sa navzájom líšia len dusíkatými bázami. Podľa počtu nukleotidových jednotiek môžeme rozlišovať mono- (jeden nukleotid), oligo- (dva až desiatky nukleotidov) a polynukleotidy (stovky a viac nukleotidov). Dva polynukleotidové reťazce sú v dvojvláknovej molekule DNA navzájom spojené vodíkovými väzbami medzi bázami (obr. 5.4). Vonkajšie časti dvojzávitnice DNA tak tvoria cukorno-fosfátové kostry a vnútornú časť bázy dvoch reťazcov pospájaných vodíkovými väzbami na základe komplementárneho párovania báz (A s T a C s G). Spojenie komplementárnych párov dvoch jednovláknových molekúl DNA tak umožňuje vytvoriť energeticky najvýhodnejšiu konformáciu dvojzávitnice (obr. 5.4).

Primárna štruktúra DNA je presné **poradie** (sekvencia) **nukleotidov**, ktoré sú navzájom spojené fosfodiesterovou väzbou do polynukleotidového reťazca v rámci jednovláknového reťazca DNA. Sekvenciou báz je kódovaná genetická informácia. V DNA je uložená informácia (gény) o tom, ako majú vyzerať funkčné nekódujúce RNA (napr. transferové tRNA alebo ribozómové rRNA) a proteíny. Genetický kód pre proteíny určuje poradie aminokyselín v bielkovinách. Gény pre funkčné nekódujúce RNA aj pre proteíny sa prepisujú podľa vlákna DNA do sekvencie nukleovej kyseliny RNA v procese nazvanom transkripcia (prepis génov). Gény kódujúce proteíny sú po prepise do mRNA (mediátorová RNA) následne prekladané do poradia aminokyselín v polypeptidovom reťazci proteínov v procese translácie (proteosyntézy) na bunkových organelách nazývaných ribozómy. Tri nukleotidy (kodón, triplet) príslušnej mRNA vždy kódujú jednu aminokyselinu (princíp genetického kódu). Príslušné aminokyseliny zase na ribozómy prinášajú nekódujúce tRNA, ktoré rozpoznávajú príslušné kodóny. Párujú sa pomocou vodíkových väzieb na princípe komplementarity so svojimi antikodónmi (trojica nukleotidov na tRNA molekule). Pre správnu transláciu sú esenciálne nekódujúce rRNA, ktoré sú súčasťou ribozómov. Je teda zrejmé, že následkom porušenia primárnej štruktúry DNA, teda zmeny sekvencie v nukleotidoch (génovej mutácii) môže dôjsť k dedičným genetickým zmenám (evolúcii), ale aj k rôznym genetickým poruchám živých organizmov (dedičným ochoreniam), prípadne až k smrti.

Sekundárna štruktúra dvojvláknovej DNA je **priestorové usporiadanie** dvoch polynukleotidových reťazcov pospájaných vodíkovými väzbami **do dvojzávitnice**. Molekula DNA je tvorená dvomi polynukleotidovými reťazcami, ktoré sú orientované antiparalelne – jeden reťazec je orientovaný v smere 5´-3´ a druhý 3´-5´ (5´-koniec predstavujú fosfátové zvyšky naviazané na piatom uhlíku deoxyribózy prvého nukleotidu jednovláknového reťazca DNA a 3´-koniec predstavuje –OH skupina naviazaná na deoxyoribóze posledného nukleotidu jednovláknového reťazca DNA. Vodíkové väzby medzi bázami antiparalelných reťazcov sa zvyčajne zobrazujú ako prerušované čiary (dve medzi A a T a tri medzi C a G).

V dôsledku uhlov kovalentných väzieb a nekovalentných interakcií medzi bázami vzniká typická dvojzávitnicová štruktúra DNA (helix), ktorá môže existovať v rôznych formách v závislosti od zloženia prostredia, v ktorom sa dvojvláknová DNA (dsDNA = double stranded DNA) nachádza. Za rôznych podmienok sú rozmery zárezov DNA veľkého a malého žliabku v dvojzávitnici väčšie alebo menšie (Moat a kol., 2003).

Molekula DNA môže vytvárať rôzne konformácie. Pravotočivá B-DNA je stabilná vo vodnom prostredí a pri relatívnej vlhkosti nad 92%. Obsahuje 10.5 bázových párov na jednu otočku v dvojzávitnici a rozmer jedného závitu predstavuje približne 3.3 nm. Táto forma je najbežnejšou formou v živých organizmoch. Za určitých podmienok môže B-DNA zmeniť svoju konformáciu na pravotočivú A-DNA, ktorá je stabilná pri relatívnej vlhkosti menej ako 75%. A-DNA obsahuje 11 bázových párov na jeden závit, ktorého dĺžka nadobúda približne 2.8 nm. Najzriedkavejšou formou je Z-DNA, ktorá je na rozdiel od predchádzajúcich dvoch foriem ľavotočivá a obsahuje 12 bázových párov na jeden závit s rozmerom približne 4.5 nm (Saenger, 1984).

Poznanie sekundárnej štruktúry výrazne prispelo k pochopeniu replikácie (zmnoženia) DNA. Princípom je, že v prípade dvojzávitnice, môžu oba reťazce po rozrušení vodíkových väzieb slúžiť ako templát (matrica) pre syntézu komplementárneho reťazca, čím sa vytvoria dve identické kópie dsDNA, z ktorých každá obsahuje jedno materské a jedno novonasyntetizované vlákno DNA (tzv. semikonzervatívny spôsob replikácie DNA). Tým sa zaisťuje uchovávanie a prenos genetickej informácie z materskej bunky do dcérskych buniek. Veľkou výhodou sekundárnej štruktúry DNA ako duplexu (dvojvlákna) je aj ochrana genetickej informácie pred poškodením. Ak by došlo k poškodeniu jedného reťazca, jeho oprava je možná pomocou molekulových reparačných systémov opravy DNA na základe neporušenej informácie z druhého reťazca vďaka princípu komplementarity.

Terciárna štruktúra DNA zahrňuje **ďalšie priestorové (3D) usporiadanie dvojzávitnice** DNA („zbaľovanie“ resp. „rozbaľovanie“ DNA). Výsledkom ďalšieho stočenia vlákna DNA v smere helixu hovoríme o pozitívnej superšpiralizácii. Ak sú vlákna stočené v opačnom smere, ide o negatívnu superšpiralizáciu (Kisková a Jurčovičová, 2008).

DNA sa v prokaryotických mikroorganizmoch (baktérie a archeóny) najčastejšie vyskytuje v podobe kruhových (do kruhu uzavretých) DNA molekúl. Prokaryoty majú teda obyčajne len jeden do kruhový chromozóm, ktorý je uložený v ich cytoplazme. V prípade baktérií túto kružnicovú molekulu tvorí obyčajne niekoľko miliónov (10^6) párov báz (bp = base pairs). Chromozómová molekula DNA baktérií je po obvode kružnice dlhá obyčajne viac ako 1 mm. Je zrejmé, že takáto molekula musí byť v cytoplazme prokaryotov zbalená do ďalších priestorových štruktúr pomocou proteínov. Bunky prokaryotických mikorganizmov okrem chromozómovej DNA však často obsahujú aj menšie (niekoľko tisíc až 10^5 bp dlhé) kruhové DNA nazývané plazmidy. Za zmienku stojí, že aj DNA v chloroplastoch (plastidoch) a mitochondriách eukaryotických buniek sú väčšinou kovalentne uzavreté do kruhu.

V prípade eukaryotických organizmov sa DNA najčastejšie vyskytuje v podobe viacerých dlhých lineárnych útvarov (eukaryotické chromozómy), ktoré sú uložené v jadre. Tieto molekuly DNA sú ale v jadre usporiadané („zmotané“ resp. „zbalené“) do zložitých priestorových štruktúr prostredníctvom bielkovín (proteínov). DNA spoločne s proteínmi prítomnými v jadre nazývame chromatín. Najviac je DNA zbalená obyčajne počas mitózy (delenia buniek), kedy sú pozorovateľné jednotlivé lineárne molekuly DNA so svojim proteínovým lešením vo forme jednotlivých chromozómov. Zbaľovanie DNA pomocou proteínov závisí aj od miery expresie génov (prepisu génov). V eukaryotických organizmoch sú vysoko prepisované oblasti zbalené len málo (tzv. euchromatín), zatiaľ čo neprepisované oblasti DNA sú zbalené oveľa výraznejšie (tzv. heterochromatín). Okrem eukaryotov sa s lineárnou DNA molekulu môžeme stretnúť aj v prípade niektorých jednovláknových alebo dvojvláknových DNA vírusov a plazmidov.

5.5.3 RNA

Ribonukleová kyselina (z angl. ribonucleic acid = **RNA**) obsahuje na rozdiel od DNA ribózu namiesto deoxyribózy a uracil namiesto tymínu. Uracil sa líši od tymínu neprítomnosťou metylovej skupiny. Ribóza má na druhom uhlíku naviazanú hydroxylovu skupinu na rozdiel od vodíka, ako je to u deoxyribózy. Ribózy pospájané fosfodiesterovými väzbami cez fosfátové skupiny tvoria kostru jednováknovej RNA (obr. 5.4). V prírode sa vyskytuje v rôznych formách a zabezpečuje rôzne funkcie (Rulík a kol., 2015).

Prokaryotické aj eukaryotické organizmy obsahujú jednovláknové molekuly RNA, ktoré **vznikajú prepisom (transkripcou) DNA**. **Mediátorové mRNA sú** po prepise **prekladané do proteínov v procese translácie (proteosyntézy) na ribozómoch**. **Ribozómové rRNA** a **transférové tRNA sa zúčastňujú procesu translácie**. Eukaryoty obsahujú aj ďalšie malé jadrové (small nuclear) snRNA molekuly ako napr. spliceozómové snRNA, ktoré sa zúčastňujú procesu vystrihovania nekódujúcich častí génov (intrónov) po prepise proteín-kódujúcich génov z pre-mRNA (hnRNA). Jednovláknové RNA vytvárajú zložité sekundárne (2D) a terciárne (3D) štruktúry zabezpečené intramolekulovým párovaním báz na princípe komplementarity v rámci jednej molekuly RNA. Nekódujúce RNA podliehajú aj celej rade posttranskripčných modifikácii báz, ktoré sú kritické pre ich správnu štruktúru a funkcie. Existuje celá rada ďalších typov nekódujúcich RNA podieľajúcich sa najmä na regulácii expresie génov predovšetkým v eukaryotických bunkách.

V prípade RNA vírusov je RNA molekulou priamo nesúcou genetickú informáciu. U ssRNA (ss = single stranded) vírusov sa vyskytuje v jednovláknovej a u dsRNA (ds = double stranded) vírusov v dvojvláknovej forme.

Ribozómová RNA (rRNA)

rRNA molekuly sú súčasťou ribozómov prokaryotických aj eukaryotických buniek. Vytvárajú kostru malej a veľkej podjednotky ribozómov, na ktorú sa viaže množstvo ribozómových proteínov. Ribozómy sú bunkové organely prítomné u všetkých živých organizmov okrem vírusov. V prokaryotických bunkách sa vyskytujú v cytoplazme, prípadne sa viažu na plazmatickú membránu. V eukaryotických bunkách sú buď naviazané na membránu endoplazmatického retikula (ER) alebo sa nachádzajú voľne v cytoplazme. Okrem toho sa v eukaryotických bunkách nachádzajú aj v semiautonómnych organelách s vlastnou genetickou informáciou, akými sú mitochondrie a chloroplasty. V prokaryotických aj eukaryotických bunkách sa môžu vyskytovať samostatne ako monozómy alebo viaceré naviazané na jednu mRNA molekulu ako polyribozómy. Polyzómy možno pozorovať vo forme retiazok, slučiek a špirál. **Funkciou ribozómov** je zabezpečovať proces **proteosyntézy**, čiže **preklad (translácíu) genetického kódu z mRNA do polypeptidov**.

Ribozómová RNA je najhojnejším typom bunkovej RNA. Zahrňuje obyčajne 80-90 % celkového obsahu RNA bunky. V bunkách sa nachádza viacero typov rRNA. Charakterizujú sa podľa ich správania v silovom poli ultracetrifúgy sedimentačným koeficientom vo Svederbergových jednotkách označovaných symbolom „S“. Táto jednotka udáva rýchlosť sedimentácie častíc počas centrifugovania (1S = 10^{-13}s) a je mierou vyjadrenia veľkosti makromolekúl alebo makromolekulových komplexov (Vodrážka, 2007).

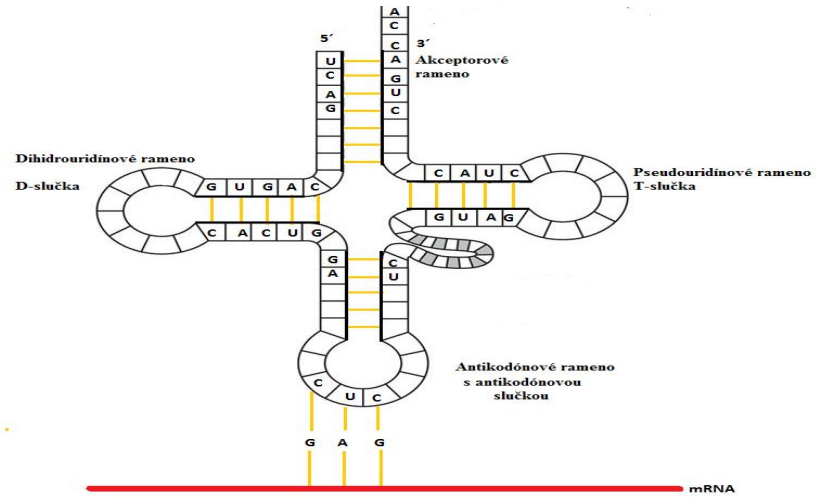
Prokaryotický ribozóm baktérií a archeónov so sedimentačným koeficientom **70S** pozostáva z dvoch podjednotiek. **Veľká podjednotka (50S)** obsahuje **dve rRNA** molekuly (**23S** a **5S**) a okolo 30 rôznych proteínov. **Malá podjednotka 30S** obsahuje **jednu rRNA** (**16S**) a okolo 20 rôznych proteínov (Akanuma a kol., 2014). **Eukaryotické ribozómy** majú sedimentačný koeficient **80S** a pozostávajú tiež z dvoch podjednotiek. **Veľká podjednotka**

60S obsahuje tri rRNA molekuly (**28S**, **5.8S** a **5S**) a okolo 50 proteínov. Malá podjednotka **40S**, ktorá obsahuje jednu **18S rRNA** a okolo 33 proteínov (Cruz a kol., 2015). Jednotlivé rRNA majú svoje zásadné funkcie v procese translácie. Napr. 16S (resp.18S) RNA je dôležitá pri napojení mRNA na menšiu podjednotku ribozómu (pri tvorbe iniciačného translačného komplexu).

Univerzálny fylogenetický strom, ktorý odhalil, že existujú dve zásadne odlišné skupiny prokaryotov (baktérie a archeóny) bol zostavený práve **na základe porovnávacej analýzy nukleotidov prokaryotickej 16S rRNA a eukaryotickej 18S rRNA** (Woese a Fox, 1977; Woese a kol., 1990). Tieto dve rRNA sú homologické, t.j. majú spoločný pôvod, ktorý siaha až k spoločnému predkovi všetkých živých organizmov. Rovnako sú homologické aj prokaryotické 23S a eukaryotické 28S rRNA molekuly.

Transférová RNA (tRNA)

Transférová RNA predstavuje cca 10% celkového obsahu RNA bunky. U prokaryotov je ich okolo šesťdesiat typov, u niektorých eukaryotov až okolo sto typov. **Hlavnou úlohou tejto RNA je prenos špecifickej aminokyseliny k rastúcemu polypeptidovému reťazcu počas proteosyntézy na ribozómoch.** V mieste translácie je príslušný triplet (trojica báz, kodón) na mRNA rozpoznaný antikodónom (taktiež trojica báz) príslušnej tRNA nesúcej príslušnú aminokyselinu na princípe komplementarity. Keďže tRNA sú špecifické prenášače aminokyselín, pre každú aminokyselinu existuje aspoň jedna špecifická tRNA. Niektoré aminokyseliny však môžu byť kódované viacerými kodónmi a prinášané na ribozómy rôznymi tRNA s rôznymi antikodónmi. Bez ohľadu na ich špecifickosť majú všetky tRNA podobnú 2D štruktúru tzv. ďatelinového lístka zabezpečenú intramolekulovým párovaním báz v rámci jednej molekuly tRNA (obr. 5.5). V maturovanej tRNA molekule sú podobne ako v prípade rRNA niektoré bázy posttranskripčne modifikované.



Obr. 5.5. tRNA. *Sekundárna štruktúra tRNA má vzhľad ďatelinového štvorlístka. Tento tvar je zabezpečený intramolekulovým párovaním báz na princípe komplementarity (na obr. sú znázornené dve aj tri vodíkové väzby len jednou čiarou). Jednotlivé časti tRNA označujeme ako ramená. Akceptorové rameno kovalentne viaže aminokyselinu na svojom 3´konci. Antikodónové rameno s antikodónovou slučkou rozpoznáva kodón (triplet = trojica báz) na mRNA. Pseudouridínové rameno s TψC slučkou obsahuje modifikovaný uracil (pseudouracil) a dihydrouridínové rameno s D-slučkou obsahuje inak modifikovaný uracil (dihydrouracil). Jednotlivé aminokyseliny sú pripájané na akceptorové rameno príslušných tRNA špecifickými enzýmami (aminoacyl-tRNA-syntetázy).*

Mediátorová RNA (mRNA)

Tretím typom RNA, ktoré sú **univerzálne prítomné** vo všetkých prokaryotických aj eukaryotických bunkách je mediátorová RNA (mRNA), ktorá sa prekladá do proteínov na základe univerzálneho genetického kódu. V prípade **prokaryotov** vzniká **v cytoplazme počas transkripcie (prepisu) viacerých génov naraz (polycistronická transkripcia)** a už počas transkripcie sa prekladá v cytoplazme na ribozómoch do proteínov. V **eukaryotických bunkách vzniká obyčajne prepisom jedného génu (monocistronická transkripcia)** a následnou úpravou primárneho transkriptu pre-mRNA – **zostrihom intrónov (nekódujúcich častí génu), spojením exónov (kódujúcich častí génu) a úpravou 3´a 5´konca**. Aby mohla byť mRNA eukaryotov translatovaná, musí byť najprv prepravená z jadra do cytoplazmy obsahujúcej ribozómy cez jadrové póry. mRNA tvorí približne 5-10% celkového obsahu RNA v bunke.

snoRNA (small nucleoar RNA) molekuly sú skupinou malých nekódujúcich RNA vyskytujúcich sa u všetkých **eukaryotov** a u všetkých prokaryotov z domény Archaea (**archeónov**). Vykonávajú zásadnú **úlohu pri chemickej modifikácii báz v rRNA a tRNA**. V prípade baktérií ich funkciu nahrádzajú proteíny (baktérie nemajú snoRNA). Procesy modifikácií báz v rRNA a tRNA sa uskutočňujú v prípade eukaryotov v jadierku (časť jadra), v prípade prokaryotov v cytoplazme (Scott a Ono, 2011).

snRNA (small nuclear RNA) sú malé jadrové RNA vyskytujúce sa **výhradne u eukaryotov**. Boli náhodne objavené počas gélovej elektroforézy v roku 1966, kedy sa v géli našiel vtedy neočakávaný typ RNA (Hadjiolov a kol., 1966). snRNA spolu s asociovanými proteínmi vytvárajú komplexy ribonukleoproteínov (snRNPs). Päť z nich (U1, U2, U4, U5 a U6) vytvára druhý najväčší molekulový komplex v bunkách eukaryotov (60S) – **spliceozóm**. Ostatné majú iné funkcie. Spliceozóm sa vyskytuje len v jadre eukaryotov. Prokaryoty tento komplex nemajú. V prípade eukaryotov sa v jadre zúčastňuje procesu nazývaného **splicing** (zostrih), pri ktorom sa po prepise proteín-kódujúcich génov do pre-mRNA z nej **vystrihujú nekódujúce časti (intróny) a spájajú sa kódujúce časti (exóny)**. Spliceozómy sa teda viažu na špecifické sekvencie na substráte pre-mRNA ohraničujúce intróny (5`-GU a AG-3`) (Guo a kol., 2009).

5.6 Proteíny

V živých bunkách je obsiahnutý rôznorodý súbor proteínových molekúl, ktoré sa skladajú **z aminokyselín** navzájom **pospájaných peptidovými väzbami**. Proteíny (bielkoviny) sú teda tvorené **polypeptidovými reťazcami** obsahujúcich rôzne veľký počet monomérov (aminokyselín). Proteíny môžu pomocou nekovalentných slabých interakcií ďalej vytvárať aj pomerne veľké proteínové komplexy skladajúce sa z viacerých proteínových podjednotiek. Proteíny spoločne tvoria najmenej 50% sušiny buniek.

Molekuly proteínov majú veľké množstvo rôznych funkcií. Môžu mať štruktúrnu funkciu, zabezpečujú replikáciu a transkripciu DNA, zúčastňujú sa translácie ako aj syntézy a rozkladu ďalších látok ako sú sacharidy a lipidy. Sú to nenahraditeľné **katalyzátory biochemických dráh**, ktoré hrajú dominantnú úlohu v riadení energetického metabolizmu buniek. Riadenie prechodu malých molekúl z buniek do vonkajšieho prostredia a z neho do buniek alebo aj medzi bunkami je zabezpečené proteínmi situovanými v cytoplazmatickej membráne prostredníctvom proteínových kanálov a púmp. Proteíny zabezpečujú aj prenos informácií z buniek do buniek a tiež prenos signálov z plazmatickej membrány do jadier

eukaryotických buniek. Niektoré proteíny sú aj jedy, hormóny, protilátky, či molekuly podieľajúce sa na bioluminiscencii.

Bielkoviny môžeme klasifikovať z chemického hľadiska na jednoduché a zložené. Jednoduché proteíny obsahujú len polypeptidové reťazce a sú biologický aktívne bez prítomnosti inej zložky. Zložené bielkoviny zahŕňajú okrem polypeptidových reťazcov aj nebielkovinovú časť, ktorá je nevyhnutná pre ich funkciu. Najbežnejšie takéto nebielkovinové tzv. prostetické skupiny sú sacharidy, fosfátové skupiny, nukleotidy, lipidy alebo kovové ióny (Walsh a kol., 2007).

5.6.1 Aminokyseliny

Z hľadiska chemickej štruktúry sú proteíny najrozmanitejšími organickými makromolekulami. Počty aminokyselín v rôznych proteínoch sú značne variabilné (spravidla desiatky až tisíce aminokyselín). Proteíny obyčajne obsahujú rôzne kombinácie dvadsiatich najbežnejších aminokyselín.

Rôznych aminokyselín sú známe stovky, ale len 22 z nich je kódovaných geneticky. Výskyt dvoch z nich (selenocysteínu a pyrolyzínu) je viazaný len na zopár proteínov (Alberty, 2011). Selén obsiahnutý v selenocysteíne má podobné vlastnosti ako síra v molekule cysteínu. Namiesto skupiny –SH v molekule cysteínu je v molekule selenocysteínu naviazaná reaktívnejšia –SeH skupina. Prítomnosť selénu v bielkovinách je nevyhnutná pre zabezpečenie správneho fungovania niektorých enzýmov. Pyrolyzín sa vyskytuje v niektorých proteínoch metanogénnych (metán produkujúcich) baktérií a archeónov.

Tabuľka 5.1. Rozdelenie aminokyselín podľa polarity a náboja

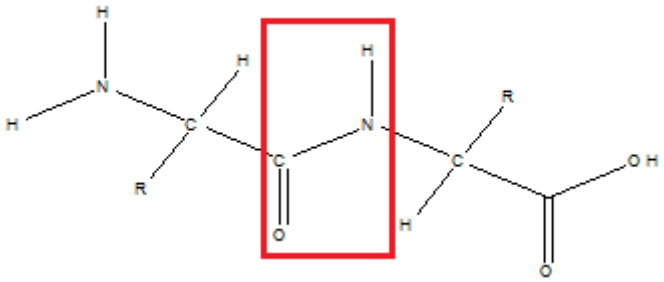
Nepolárne (hydrofóbne)	**Polárne (bez náboja)**	**Polárne (s nábojom)**
Glycín (Gly)	Serín (Ser)	Aspartát (Asp)
Alanín (Ala)	Treonín (Thr)	Glutamát (Glu)
Valín (Val)	Tyrozín (Tyr)	Lyzín (Lys)
Leucín (Leu)	Cysteín (Cys)	Arginín (Arg)
Izoleucín (Ile)	Asparagín (Asn)	Histidín (His)
Metionín (Met)	Glutamín (Gln)	
Prolín (Pro)		
Fenylalanín (Phe)		
Tryptofán (Trp)		

Aminokyseliny vytvárajúce bielkoviny obsahujú na svojich koncoch funkčné skupiny $–NH_2$ (amino skupinu) a –COOH (karboxylovú skupinu) s výnimkou prolínu, v ktorom je NH_2 skupina naviazaná na postranný reťazec (je súčasťou kruhovej štruktúry). Všetky proteinogénne aminokyseliny sú v tzv. L konfigurácii – otáčajú rovinu polarizovaného svetla doľava. Všetky aminokyseliny s výnimkou glycínu sú teda chirálne (opticky aktívne). Glycín chirálne centrum neobsahuje, pretože nemá naviazané štyri rôzne substituenty na atóme α-uhlíka (dva substituenty sú atómy vodíka). Molekuly proteínov sú tvorené reťazcom

aminokyselín, ktoré sa navzájom viažu prostredníctvom kovalentnej peptidovej väzby –NH–CO–. Niektoré aminokyseliny sú nepolárne a hydrofóbne, iné môžu byť polárne a hydrofilné s nábojom alebo bez neho (Tabuľka 5.1).

5.6.2 Peptidová väzba

Peptidová väzba vzniká kondenzáciou karboxylovej skupiny jednej aminokyseliny s aminoskupinou druhej aminokyseliny za uvoľnenia molekuly vody. Začiatok reťazca proteínu je tvorený N-koncom (–NH_2 skupinou) začiatočnej aminokyseliny proteínu a koniec reťazca je tvorený C-koncom (–COOH skupinou) poslednej aminokyseliny. Poradie aminokyselín v polypeptidoch predstavuje základnú primárnu štruktúru bielkoviny. Podľa počtu aminokyselín rozoznávame oligopeptidy (dipetidy, tripetidy, tetrapetidy atď.) a polypeptidy s dĺžkou nad 10 aminokyselín. Proteíny predstavujú predovšetkým polypeptidy dlhé desiatky až stovky (prípadne až tisíce) aminokyselín. Peptidová väzba je znázornená na obr. 5.6 (červený rámček).



Obr. 5.6. Peptidová väzba. *Vzniká kondenzáciou karboxylovej skupiny (–COOH za vzniku >C=O) jednej aminokyseliny s aminoskupinou (–NH_2 vzniká –NH–) druhej aminokyseliny, pričom sa odštiepi voda.*

5.6.3 Štruktúra a tvar proteínov

Proteíny sa skladajú z kostry tvorenej peptidovými väzbami spájajúcimi α-uhlíky jednotlivých aminokyselín. Na túto kostru sú na jednotlivé α-uhlíky naviazané postranné reťazce aminokyselín, ktoré významne ovplyvňujú vlastnosti proteínov. Niektoré z bočných reťazcov sú nepolárne a hydrofóbne (vo vode nerozpustné), iné sú kladne alebo záporne nabité a hydrofilné (vo vode rozpustné). Existuje obrovské množstvo rôznych proteínov, ktoré sa líšia poradím (sekvenciou) aminokyselín a dĺžkou peptidového reťazca. Rôzne proteíny majú rôzne biochemické vlastnosti a funkcie.

Na výsledný tvar proteínu vplývajú rôzne faktory prostredia, ale v živých organizmoch najmä aminokyselinové zloženie. Medzi jednotlivými aminokyselinami dochádza k slabým interakciám ako hydrofóbne interakcie, van der Waalsove sily a vodíkové väzby, prostredníctvom ktorých sa poskladajú do svojej priestorovej funkčnej 3D štruktúry.

Pre skladanie proteínov do správnej priestorovej konformácie hrá významnú úlohu rozloženie polárnych a nepolárnych aminokyselín. Hydrofóbne nepolárne časti reťazca aminokyselín (ako napr. valín, leucín alebo tryptofán) v proteínoch sa snažia zhlukovať (napr. do vnútra molekuly proteínu), čím minimalizujú svoj styk s vodou. Naopak hydrofilné polárne bočné reťazce aminokyselín (ako napr. arginín, glutamín alebo histidín) vytvárajú

vodíkové mostíky s molekulami vody (prípadne s molekulami iných polárnych látok), preto bývajú často orientované smerom do vodného prostredia.

Každý proteín má svoju vlastnú trojrozmernú štruktúru, ktorá je v princípe daná primárnou sekvenciou aminokyselín v polypeptidovom reťazci. Proteíny majú snahu vo vodnom prostredí zaujať stav (nadobudnúť tvar) s najnižšou voľnou energiou.

Primárna štruktúra proteínu je teda definovaná **poradím (sekvenciou) aminokyselinových zvyškov v polypeptidovom reťazci**. Všetky informácie o zložení, tvare a funkcii proteínu sú v princípe uložené v jeho primárnej aminokyselinovej sekvencii.

Sekundárna štruktúra proteínu definuje usporiadanie polypeptidovej kostry v priestore. Štruktúra je stabilizovaná vodíkovými väzbami medzi atómami kostry proteínu. Najčastejšími typmi sekundárnych štruktúr sú helikálne závitnicové štruktúry (**α-helix**) a štruktúra **β skladaného listu**.

Terciárna štruktúra proteínu je **definitívne 3D priestorové usporiadanie** a tvar proteínu, ktorý závisí od slabých interakcií jednotlivých sekundárnych štruktúr a od vzájomných interakcií bočných reťazcov aminokyselín. Terciárnu štruktúru stabilizujú kovalentné disulfidové väzby medzi cysteínmi z rôznych častí peptidového reťazca, ale aj nekovalentné vodíkové väzby, hydrofóbne interakcie a van der Waalsove sily. Definitívny priestorový tvar (konformácia) proteínu môže byť napr. fibrilárny (vláknitý) alebo globulárny (guľovitý).

Pod **kvartérnou štruktúrou proteínových komplexov** rozumieme priestorové **usporiadanie proteínových podjednotiek v rámci proteínových komplexov**. Podobne ako terciárna štruktúra proteínov, aj kvartérna štruktúra proteínových komplexov je stabilizovaná rovnakým typom slabých interakcií, sú to však intermolekulové interakcie. Napr. hemoglobín má kvartérnu štruktúru tvorenú dvomi α a dvomi β globínovými reťazcami (Hames a Hooper, 2011).

5.6.4 Biologické funkcie proteínov

Trojrozmerná štruktúra proteínov vplýva na špecifickosť biologických funkcií proteínov. Proteíny predstavujú esenciálnu zložku živých organizmov a zúčastňujú sa na všetkých biochemických procesoch prebiehajúcich v živých sústavách.

Enzýmy sú **proteíny vo funkcii biokatalyzátorov biochemických reakcií**. Podieľajú sa na katalýze biochemických reakcií súvisiacich s energetickým metabolizmom. Každú biochemickú reakciu istého biochemického cyklu katalyzujú enzýmy alebo veľké enzymatické komplexy. Enzýmy a enzymatické komplexy sa tiež vyznačujú vysokou špecifičnosťou a schopnosťou regulácie. Na svoje substráty sa viažu prostredníctvom aktívneho miesta. Proteínové komplexy sú aj prenášačmi elektrónov v cytoplazmatických membránach prokaryotov, či mitochondrií a chloroplastov. Veľké enzymatické komplexy zabezpečujú aj replikáciu DNA, opravy poškodenej DNA a RNA syntézu. Ribozómové proteíny sa zúčastňujú proteosyntézy počas translácie. V tomto procese však hrajú významnú katalytickú úlohu aj rRNA molekuly. Katalyticky aktívna RNA sa nazýva ribozým (obdoba proteínového enzýmu).

Štruktúrne bielkoviny zabezpečujúce stabilitu, ako aj dynamiku tvarov štruktúr biologických komponentov. Eukaryotický cytoskelet je tvorený proteínmi, najmä aktínmi a tubulínmi. Tubulín je súčasťou mitotického aparátu a eukaryotických bičíkov. Aktín je zasa zodpovedný napr. za zmeny tvaru bunky, amébovitý pohyb alebo transport membránových vezikúl v rámci eukaryotickej bunky. Proteíny nazývané históny zase vytvárajú akúsi kostru eukaryotického chromatínu, na ktorú je naviazaná dvojvláknová DNA.

Protilátky sú bielkoviny vytvárané imunitným systémom živočíchov, ktoré slúžia ako akási značka na označenie antigénov (cudzorodých látok resp. povrchov mikroorganizmov) určených na zneškodnenie bunkami imunitného systému (Kisková a Jurčovičová, 2008). Podstata protilátok spočíva vo vytvorení pevnej väzby proteínu k antigénu na základe špecifičnosti. Molekula protilátky má tvar Y a je zložená z dvoch identických ľahkých a dvoch identických ťažkých reťazcov, ktoré sa môžu naviazať na antigén.

Membránové proteíny sú súčasťou biologických membrán, ktorých kostru tvoria lipidy. Môžu prechádzať naprieč celou membránou (integrálne transmembránové proteíny) alebo v nej môžu byť vnorené iba istou časťou (obr. 5.7). V rámci svojej terciárnej štruktúry musia obsahovať hydrofóbne časti, aby mohli byť začlenené do hydrofóbnej lipidovej dvojvrstvy. Membránové proteíny môžu byť posttranslačne modifikované napr. naviazaním lipidových alebo sacharidových zložiek.

Prostredníctvom nekovalentnej väzby sa na membránu môžu viazať aj tzv. periférne membránové bielkoviny, ktoré sú s membránou len asociované. Väzba, ktorou sa viažu, môže byť elektrostatická, hydrofóbna alebo komplexná. Transmembránové aj periférne membránové proteíny zabezpečujú napr. aktívny transport látok alebo protónov vodíka cez membránu, ale aj prenos elektrónov medzi enzymatickými komplexami membránových proteínov (Kodíček, 2015).

Uplatnenie membránových bielkovín je taktiež v regulačných mechanizmoch, v ktorých fungujú ako receptory alebo prenášače signálov. Medzi signálne bielkoviny patria napr. hormóny (Vodrážka, 2007).

5.7 Lipidy

Lipidy sú významné nízkomolekulové látky patriace medzi základné zložky živých sústav. Sú zásobným zdrojom energie, podieľajú sa na stavbe **biomembrán** a tiež sú to látky s výraznou fyziologickou aktivitou v podobe hormónov a vitamínov. Niektoré tuky umožňujú rozpúšťanie a tým lepšie vstrebávanie niektorých vitamínov tráviacou sústavou živočíchov.

Lipidy baktérií a eukaryotov sú z chemického hľadiska **estery vyšších mastných kyselín a alkoholu**. Navzájom sa líšia alkoholovou zložkou. Netvoria makromolekuly, ale spájajú sa do komplexov na základe hydrofóbnych interakcií. Alkoholovou zložkou v molekulách lipidov býva najčastejšie **glycerol**, okrem neho to môžu byť vyššie alkoholy a sterol. Mastné kyseliny tvoriace hydrofóbnu časť lipidov baktérií a eukaryotov môžu byť nasýtené alebo nenasýtené, cyklické alebo rozvetvené. Lipidy sa delia na jednoduché (acylglyceroly, vosky a acylsteroly), zložené (fosfolipidy a glykolipidy) a izoprenoidné lipidy (steroly a žlčové kyseliny). Biologicky najvýznamnejšie sú fosfolipidy.

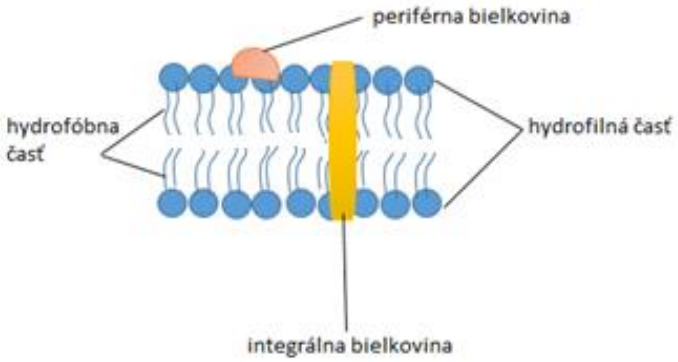
Lipidy archeónov majú v porovnaní s lipidmi baktérií a eukaryotov svoje špecifiká. Tento rozdiel bude vysvetlený v kapitole 20.

Plazmatická (cytoplazmatická) **membrána** predstavuje obal živých buniek, ktorý je tvorený **dvojvrstvou lipidov**. Je to bariéra, ktorá zabraňuje úniku obsahu bunky do vonkajšieho prostredia, udržuje bunku pri živote, zabezpečuje prechod živín do bunky a odpadových látok von z bunky. Aby dokázala vykonávať tieto funkcie je prestúpená molekulami proteínových kanálov a púmp, ktoré zabezpečujú import a export látok. Gram-pozitívne baktérie a väčšina archeónov obsahujú len jednu membránu, pričom Gram-negatívne baktérie obsahujú dve membrány (vonkajšiu a cytoplazmatickú, medzi ktorými je periplazma vyplnená bunkovou stenou). Eukaryotické bunky obsahujú okrem cytoplazmatickej membrány celú radu vnútorných membránových štruktúr tvoriacich jednotlivé kompartmenty eukaryotickej bunky. Príkladmi membránami ohraničených organel

eukaryotickej bunky sú jadro, endoplazmatické retikulum (ER), Golgiho aparát (GA), mitochondrie, chloroplasty a peroxizómy.

Všetky membrány sú zložené z lipidov a proteínov a majú v princípe rovnakú štruktúru. Lipidové zložky membrán sú **usporiadané do dvojvrstvy za pomoci hydrofóbnych interakcií**. Vnútorná časť membrány je hydrofóbna a obidve vonkajšie časti (napr. v prípade plazmatickej membrány orientované do vonkajšieho prostredia a do vnútra bunky) sú hydrofilné (obr. 5.7). Hydrofóbna časť je vo vode nerozpustná a jej atómy sú nenabité a teda nepolárne. Nemôžu preto vytvárať vodíkové väzby s molekulami vody a vo vodnom prostredí sa tieto časti rôznych molekúl lipidov zhlukujú, aby minimalizovali kontakt s vodou. Naopak hydrofilné časti obsahujú nabité atómy alebo polárne skupiny s nerovnomerne rozloženým parciálnym elektrickým nábojom, čo im umožňuje vytvárať vodíkové väzby. Molekuly s hydrofóbnymi a hydofilnými vlastnosťami sa označujú ako amfipatické. Z takýchto molekúl ako napr. **fosfolipidy** (diacylfosfoglyceroly) sa preto vytvára vo vodnom prostredí fosfolipidová dvojvrstva, v ktorej hydrofilné hlavičky naviazané na treťom atóme glycerolu cez fosfátovú skupinu smerujú k vode a hydrofóbne časti (dva reťazce mastných kyselín naviazané na prvom a druhom uhlíku glycerolu) sa otočia smerom k sebe, čím sa vode vyhýbajú (obr. 5.7).

Najrozšírenejšie membránové lipidy sú teda fosfolipidy, v ktorých je hydrofilná hlavička spojená so zvyškom molekuly cez fosfátovú skupinu. Príkladom jedného z najbežnejších fosfolipidov je fosfatidylcholin, ktorý obsahuje malú molekulu cholínu pripojenú k fosfátu a k jeho hydrofilnej hlavičke a dva uhľovodíkové reťazce mastných kyselín predstavujú hydrofóbne časti (Alberts a kol., 1998).



Obr. 5.7. Štruktúra biomembrán. *Polárne lipidy najčastejšie fosfolipidy, glykolipidy a cholestrol vytvárajú fosfolipidovú dvojvrstvu. Obsahujú hydrofilnú časť (hlavičku) smerujúcu do vodného prostredia (napr. von do mimobunkového priestoru alebo do cytoplazmy resp. do vnútra intracelulárneho kompartmentu) a hydrofóbnu časť (chvostík) orientovanú dovnútra membrány. Hydrofóbne časti dvojvrstvy sú otočené k sebe, v prípade baktérií a eukaryotov však nie sú kovalentne spojené. Cez membránu prechádzajú integrálne bielkoviny, ktoré môžu byť vnorené z vnútornej alebo vonkajšej strany alebo prechádzať cez celú membránu. Na povrchu membrány sú nekovalentne naviazané periférne bielkoviny, ktoré sa od membrány dajú ľahko oddeliť.*

5.8 Sacharidy

Sacharidy slúžia v bunkách najmä ako zdroj a zásoba energie. Primárnymi producentmi sacharidov sú fotosyntetické organizmy – sinice, riasy a rastliny, ktoré

produkujú sacharidy počas fotosyntézy. Fotosyntézou sa zo vzduchu aj fixuje CO_2, ktorý je práve zabudovávaný do sacharidov v tmavej fáze fotosyntézy pomocou enzýmu RuBisCo. Počas **fotosyntézy** vzniká **glukóza** a uvoľňuje sa kyslík, ktorý je nevyhnutný pre život mnohých organizmov. Heterotrofné organizmy zase získavajú sacharidy prevažne z potravy alebo v prípade parazitov z hostiteľských organizmov.

Sacharidy predstavujú štruktúrne pestrú skupinu prírodných látok. Sú zložené **z uhlíkového reťazca, na ktorom sú okrem alkoholovej skupiny –OH** (resp. viacerých –OH skupín) naviazané funkčné skupiny **aldehydu** alebo **ketónu**. Podľa typu funkčnej karbonylovej skupiny rozlišujeme **aldózy** a **ketózy**. Sacharidy sa delia na jednoduché sacharidy (monosacharidy), ktoré nie je možné hydrolýzou rozštiepiť na jednoduchšie sacharidy, a zložené sacharidy, ktoré sa navzájom spájajú glykozidovou väzbou, ktorá sa dá hydrolyticky štiepiť. Medzi **monosacharidy** patrí napr. **šesťuhlíkatá glukóza** a **galaktóza** alebo **päťuhlíkatá ribóza** a **fruktóza**. Najjednoduchšími zloženým sacharidmi sú **disacharidy** zložené z dvoch monosacharidov (napr. **laktóza** zložená z glukózy a galaktózy alebo **sacharóza** zložená z glukózy a fruktózy) spojených glykozidovou väzbou. Sacharidy sú tiež zložkami iných látok napríklad nukleotidov (ribóza a deoxyribóza), koenzýmov a glykoproteínov a sú aj prekurzormi syntézy iných látok (napr. lipidov a aminokyselín).

Z monosacharidov môžu bunky syntetizovať aj polysacharidy, ktoré vznikajú kovalentným spojením väčšieho počtu monosacharidových podjednotiek. **Polysacharidy** môžu vytvárať **bunkové steny** (napr. **celulóza u rastlín** a mnohých rias alebo **chitín u húb**) alebo slúžia ako **zásobné látky** napr. vo forme **škrobu u rastlín** a mnohých rias a **glykogénu u živočíchov**. Ak je štruktúra polysacharidov tvorená len jedným druhom monosacharidov nazývame ich homoglykány (homopolysacharidy). Ak štruktúru tvorí viac monosacharidových jednotiek ide o heteroglykány (heteropolysacharidy).

Príkladmi homoglykánov produkovaných baktériami sú napr. dextrán a leván. Ak sa napr. baktériový rod *Leuconostoc* pestuje v médiu obsahujúcom disacharid sacharózu skladajúcej sa z glukózy a fruktózy, ako zdroj uhlíka využíva len jej fruktózovú časť. Glukózu odstraňuje vo forme polysacharidu dextránu ako odpad. Baktéria *Bacillus subtilis* využíva zase zo sacharózy len glukózu a fruktózu odstraňuje vo forme polysacharidu levánu. Dextrán je príkladom homoglykánu zloženého z glukózy a leván homogykánu zloženého z fruktózy. Vznik týchto dvoch polysacharidov je nežiaducim javom v potravinárskom priemysle (Šípal a kol., 1992). Príkladom homoglykánov zložených z glukózy je aj zásobný živočíšny polysacharid glykogén a celulóza tvoriaca bunkové steny rastlín. Homoglykán chitín je zložený z N-acetyl-D-glukozamínu a je súčasťou nielen bunkových stien húb, ale aj exoskeletu článkonožcov.

Medzi heteroglykány patrí napr. škrob. Je zložený z amylózy a amylopektínu.

Literatúra

AKANUMA, G. a kol. 2014. Defect in the formation of 70S ribosomes caused by lack of ribosomal protein L34 can be suppressed by magnesium. J Bacteriol 196, 3820-3830.

ALBERTS, B. a kol. 1998. Základy buněčné biologie. 1.vyd. Ústí nad Lábem: Espero Publishing.

ALBERTY, R. 2011. Fundamental genetics, skrátené slovenské vydanie. 1. vyd. Banská Bystrica: Fakulta prírodných vied, Univerzita Mateja Bela, Banská Bystrica.

CRUZ, J. – KARBSTEIN, K. – WOOLFORD, J.L. 2015. Functions of ribosomal proteins in assembly of eukaryotic ribosomes in vivo. Annu Rev Biochem 84, 93-129.

DAHM, R. 2008. Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research. Human Genetics 122, 565-581.

GUO, Z. – KARUNATILAKA, K. S. – RUEDA, D. 2009. Single-molecule analysis of protein-free U2–U6 snRNAs. Nature Struct Mol Biol 16, 1154-1159.
HAMES, D. – HOOPER, N. 2011. Biochemistry. 4th edition. New York: Garland Science 2011.
HADJIOLOV, A.A. – VENKOV, P.V. – TSANEV, R.G. 1966. Ribonucleic acids fractionation by density-gradient centrifugation and by agar gel electrophoresis: A comparison. Analytical Biochemistry 17, 263-267.
CHALUPOVÁ-KARLOVSKÁ, V. 2010. Obecná biologie 2. vyd. Olomouc: Nakladatelství Olomouc.
KISKOVÁ, J. – JURČOVIČOVÁ, M. 2008. Molecular ecology/Molekulová ekológia. 1. vyd. Žilina: Ústav vysokohorskej biológie Žilinskej univerzity.
MCKEE, T. – MCKEE, J. R. 2016. Biochemistry the molecular basis of life. 6th edition. New York: Oxford University press.
MIŠÚROVÁ, E. – SOLÁR, P. 2007. Molekulová biológia. 2. vyd. Košice: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach.
MOAT, A. G. – FOSTER, J. W. – SPECTOR, M. P. 2003. Microbial physiology. 4th edition. New York: John Willey & Sons.
RULÍK, M. – BURÁNKOVÁ, I. – BRABLCOVÁ, L. 2015. Vybrané kapitoly z molekulární ekologie mikroorganizmů. 1.vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci.
SAENGER, W. 1984. Principles of nucleic acid structure. 1st edition. New York: Springer-Verlag.
SCOTT, M. S. – ONO, M. 2011. From snoRNA to miRNA: Dual function regulatory non-coding RNAs. Biochemie 93, 1987-1992.
ŠIMONOVIČOVÁ, A. a kol. 2013. Enviromentálna biológia. 1. vyd. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave.
ŠÍPAL, Z. a kol. 1992. Biochemie. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství.
VODRÁŽKA, Z. 2007. Biochemie. 2. vyd. Praha: Nakladatelství Academia Praha.
WALSH, D. M. a kol. 2007. The APP family of proteins: similarities and differences. Biochem Soc Trans 35 416-420.
WATSON, J. D. – CRICK F.H. 1953. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171, 737-738.
WOESE, C. R. – FOX G. E. 1977. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. Proc Natl Acad Sci USA 74, 5088-5090.
WOESE, C. R. – KANDLER, O. – WHEELIS, M. L. 1990. Toward a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proc Natl Acad Sci USA 87, 4576-4579.

6 ŠTRUKTÚRA PROKARYOTICKÝCH A EUKARYOTICKÝCH BUNIEK

Katarína Majkútová, Matej Vesteg

V súčasnosti rozdeľujeme na základe fylogenetických analýz organizmy do troch domén – Bacteria (baktérie), Archaea (archeóny) a Eukarya (eukaryoty). Napriek tomu, že doména Archaea je na molekulovej úrovni príbuznejšia doméne Eukarya ako doméne Bacteria, štruktúra bunky archeónov je prokaryotická a v zásade veľmi podobná prokaryotickým baktériám. Prokaryoty (baktérie a archeóny) nemajú viaceré organely, ktoré spravidla nachádzame u eukaryotov. Medzi organely špecifické pre eukaryoty patria jadro, endoplazmatické retikulum (ER), Golgiho aparát (GA) a mitochondrie. Tieto organely nikdy nenachádzame u prokaryotov. Základné rozdiely medzi bunkami prokaryotov (Bacteria a Archaea) a eukaryotov (Eukarya) sú uvedené v Tabuľke 6.1.

Tabuľka 6.1. Základné rozdiely medzi prokaryotickými (Bacteria a Archaea) a eukaryotickými (Eukarya) bunkami

	Bacteria	Archaea	Eukarya
Veľkosť	Θ 0,2 – 2,0 µm	Θ 0,1 – 15 µm	Θ 10 – 100 µm Niekedy aj niekoľko cm
Jadro a jadierko	Nie	Nie	Áno
Membránové organely	Žiadne pozorovateľné alebo malé Nemajú jadro, ani mitochondrie, ani ER, ani GA, ani chloroplasty	Žiadne pozorovateľné alebo malé Nemajú jadro, ani mitochondrie, ani ER, ani GA, ani chloroplasty	jadro, ER, GA, mitochondrie a iné
Bičíky	Protónová pumpa, vonkajší filament z flagelínu	Zložený z archaelínov, evolučne príbuznejší baktériovým pilusom sk. IV ako baktériovým bičíkom	Zložitejšie – z viacerých mikrotubulov zložených z proteínov tubulínov, organizácia mikrotubulov 9+2
Ribozómy	Menšie 70S	Menšie 70S	80S (v mitochondriách 70S)
Chromozóm	1 – cirkulárny, bez histónov	1 – cirkulárny, niekedy s histónmi niekedy bez histónov	Viac – lineárne, s histónmi
Delenie buniek	Jednoduché binárne delenie	Jednoduché binárne delenie	Mitóza
Pohlavné rozmnožovanie	Nie, len prenos častí DNA	Nie, len prenos častí DNA	Meióza a splývanie gamét

6.1 Prokaryotická bunka

Prokaryoty sú najmä jednobunkové organizmy s pomerne jednoduchou štruktúrou bunky. Medzi prokaryoty patria archeóny (doména Archaea) a baktérie (doména Bacteria) vrátane fotosyntetizujúcich siníc (cyanobaktérie). Napriek tomu, že prokaryoty sú väčšinou jednobunkové, mnohé sinice sú mnohobunkové vláknité a mnohé majú špecializované

diferencované bunky v rámci vlákien (viď kapitola 19). Aj v prípade iných baktérií sa však stretávame s mnohobunkovými zoskupeniami, ako sú napr. streptokoky, stafylokoky, streptobacily, diplokoky či tetrakoky (viď kapitola 15).

Niekedy sa v literatúre môžeme stretnúť s tvrdením, že prokaryoty majú tzv. „nepravé jadro“. Toto označenie však môže pôsobiť pomerne zmätočne. Realita je taká, že **prokaryoty** žiadne morfologicky vydiferencované **jadro nemajú**. Ich DNA nie je ohraničená jadrovou membránou a je uložená v cytoplazme. Okrem absencie jadra **chýbajú prokaryotom viaceré bunkové organely** (kompartmenty), ktoré sú **prítomné iba v eukaryotických bunkách ako napr. mitochondrie, ER a GA**. Prokaryoty však tiež majú obyčajne svoje kompartmenty. **Gram-negatívne** baktérie (G^--baktérie) majú na rozdiel od Gram-pozitívnych baktérií (G^+-baktérií) a väčšiny archeónov až **dve membrány – vonkajšiu a vnútornú (cytoplazmatickú)**. **Priestor medzi nimi** označujeme ako **periplazma**. Periplazmu možno považovať popri cytoplazme za samostatný bunkový kompartment. V prípade **G^+-baktérií** obalených len jednou (cytoplazmatickou) membránou sa ako **periplazma** zvykne označovať **priestor medzi cytoplazmatickou membránou a bunkovou stenou**. S pojmom periplazma sa nestretávame u eukaryotov. Okrem periplazmy a cytoplazmy môžu niektoré prokaryoty taktiež obsahovať ďalšie kompartmenty. Príkladom môžu byť rôzne **membránové štruktúry prítomné v cytoplazme niektorých prokaryotov**. **U siníc** s dvoma membránami sú v cytoplazme dobre pozorovateľné membránové **fotosyntetické organely** – **tylakoidy**. Sú to deriváty vnútornej (cytoplazmatickej) membrány siníc.

V cytoplazme prokaryotov môžeme nájsť **ribozómy (70S)**, ktoré sú menšie ako ribozómy v eukaryotických bunkách (80S). Skladajú sa **z veľkej 50S podjednotky** a **malej 30S podjednotky** (Black a Black, 2014). Na ribozómoch prebieha translácia (proteosyntéza).

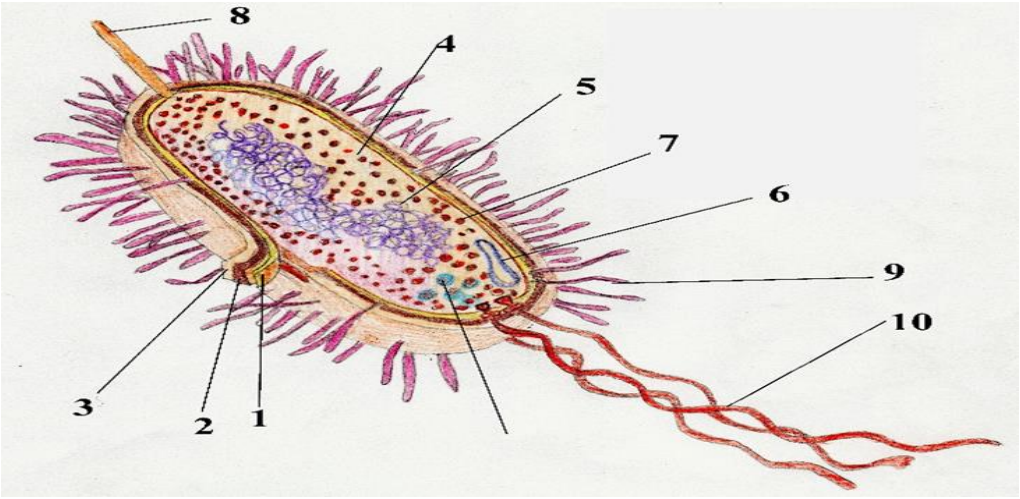
V cytoplazme prokaryotov sa pomerne často nachádzajú aj **bunkové inklúzie**. Sú to produkty bunkového metabolizmu v podobe **kvapiek alebo kryštálikov** (odpadové a zásobné látky). Spravidla nie sú obalené membránou.

Učebnicový príklad prokaryotickej bunky má **len jednu kruhovú molekulu DNA** označovanú aj ako **prokaryotický chromozóm** alebo **nukleoid** (obr. 6.1). Táto kruhová molekula je uložená **v cytoplazme**, nie je od nej oddelená membránou a je spravidla pripojená na cytoplazmatickú membránu. Keď sa však DNA replikuje rýchlejšie, ako sa prokaryotická bunka delí, môže byť v bunke prítomných aj viacero kópií aspoň častí prokaryotického chromozómu. Veľmi zriedkavo niektoré baktérie obsahujú lineárny chromozóm, ktorý však nemá typické eukaryotické teloméry (konce lineárnych chromozómov eukaryotov).

Okrem DNA nukleoidu sa v cytoplazme niektorých prokaryotických buniek nachádzajú aj **menšie kruhové molekuly DNA – plazmidy** (obr. 6.1). Plazmidy nie sú obyčajne nevyhnutné pre život bunky, ale nesú doplňujúcu genetickú informáciu ako napr. rezistencia na antibiotiká, rezistencia voči ťažkým kovom a/alebo schopnosť konjugácie. Konjugácia je jednosmerný proces, ktorým baktérie s plazmidmi odovzdávajú plazmidy baktériám, ktoré plazmidy nemajú (viď kapitola 13).

Bunková stena baktérií sa významne odlišuje chemickými vlastnosťami a štruktúrou od bunkovej steny rastlín či húb. Skladá sa z peptidoglykánu mureínu. Bunková stena archeónov, ak je prítomná, sa skladá z iných typov molekúl, najčastejšie proteínov resp. glykoproteínov ako napr. pseudopeptidoglykán. Nad bunkovou stenou sa môže nachádzať puzdro alebo slizová vrstva (kapsula) (obr. 6.1).

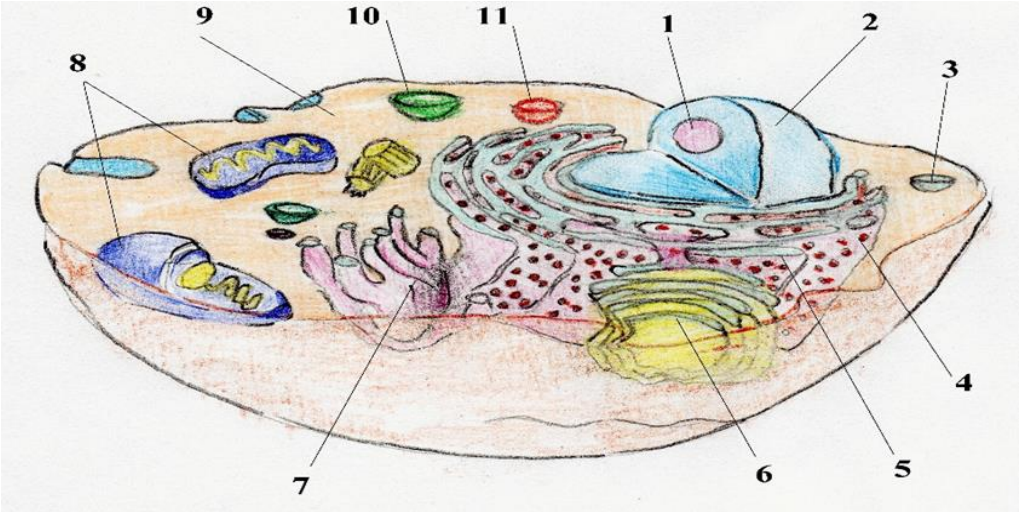
Prokaryotická bunka môže mať aj **bičík(y), fimbrie a pili** (jedn. č. pilus) (obr. 6.1). **Bičíky** slúžia bunkám **baktérií** na pohyb a sú zložené **z flagelínu**, pričom u eukaryotov sa skladajú z tubulínu. Fimbrie využíva bunka zvyčajne na priľnutie k povrchu a pili na proces konjugácie (Chalupová-Karlovská, 2018).



Obr. 6.1. Prokaryotická bunka. *1 – cytoplazmatická membrána, 2 – bunková stena, 3 – kapsula (prípadne vonkajšia membrána u G⁻-baktérií), 4 – cytoplazma, 5 – nukleoid (prokaryotický chromozóm), 6 – plazmid, 7 – 70S ribozóm, 8 – pilus, 9 – fimbrie, 10 – bičíky.*

6.2 Eukaryotická bunka

Eukaryoty sú jednobunkové (Protista) aj mnohobunkové organizmy (napr. živočíchy, huby a rastliny). V porovnaní s prokaryotickou bunkou je eukaryotická bunka zložitejšia (obr. 6.2). Má diferencované jadro, viacero lineárnych chromozómov uložených v jadre a vo vnútri bunky sa nachádzajú organely, ktoré sú obklopené jednou (napr. ER, vezikuly a vakuoly) alebo dvoma membránami (napr. mitochondrie). Rastlinné bunky a bunky húb majú obyčajne aj bunkovú stenu (Lodish a kol., 2016).



Obr. 6.2. Eukaryotická bunka. *1 – jadierko, 2 – jadro, 3 – vezikula, 4 – 80S ribozóm, 5 – drsná forma ER, 6 – GA, 7 – hladká forma ER, 8 – mitochondrie, 9 – cytoplazma, 10 – vakuola, 11 – lyzozóm.*

Jednobunkové Protista môžu alebo nemusia mať na svojom povrchu bunkovú stenu. Niektoré majú na povrchu schránku z organických alebo anorganických zlúčenín, iné majú pod povrchom pomerne dynamickú cytoskeletárnu štruktúru – pelikulu, ktorá môže mať

rôzne funkcie, napr. pohyb, zmena tvaru bunky a podobne. Niektoré Protista majú bičíky slúžiace na pohyb, iné a pohybujú pomocou panôžok (pseudopódií) a niektoré sú nepohyblivé.

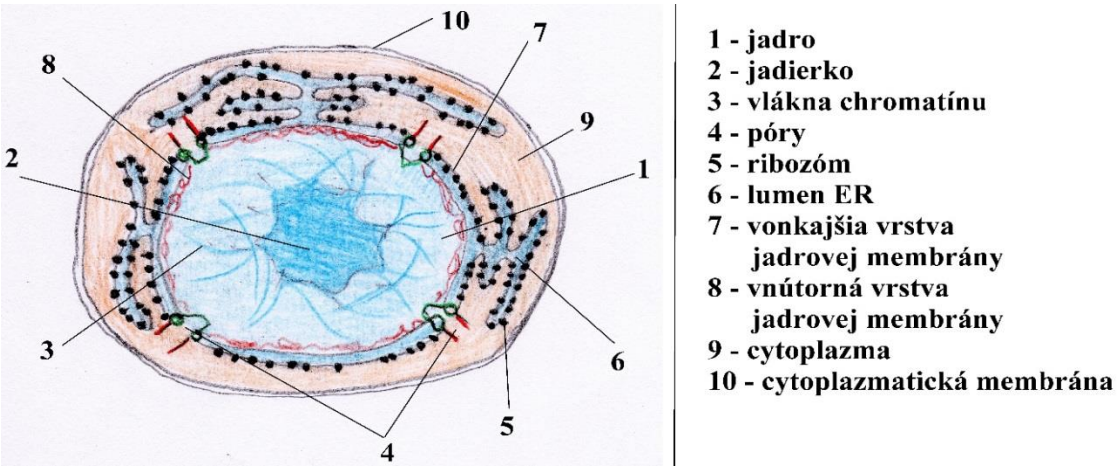
6.2.1 Jadro (nucleus/karyon)

Jadro je **typickým znakom eukaryotickej bunky**. Výnimkou sú niektoré vysoko diferencované bunky komplexných mnohobunkových eukaryotov. Jadro nemajú napr. erytrocyty (červené krvinky) cicavcov alebo bunky cievneho zväzku suchozemských rastlín. Tieto bunky sú vysokošpecializované na svoju funkciu a takmer nemajú vlastný metabolizmus. Bez jadra nie je eukaryotická bunka schopná sa reprodukovať, ale nejakú dobu dokáže existovať a plniť si svoju funkciu potrebnú pre život mnohobunkového organizmu.

Veľkosť jadra je druhovo špecifická, pretože škála veľkosti buniek je veľká, od čoho sa odvíja aj veľkosť organel. U mnohobunkovcov v mladých bunkách tvorí jadro podstatnú časť objemu bunky, avšak ďalej nerastie, čo dokazuje fakt, že v starých bunkách, ktorých objem sa rastom podstatne zväčšil, je pomerne malé.

Poloha jadra je u jednobunkových eukaryotov rôznorodá v závislosti od druhu, ale aj od podmienok, v akých jednobunkovec žije, či štádia životného cyklu. U živočíchov a húb je jadro na začiatku vývinu v bunke uložené centrálne, neskôr môže dôjsť k excentrickej lokalizácií. Polohu jadra môžu ovplyvňovať aj vakuoly či ukladanie zásobných látok. Jadro má najčastejšie guľovitý alebo oválny tvar.

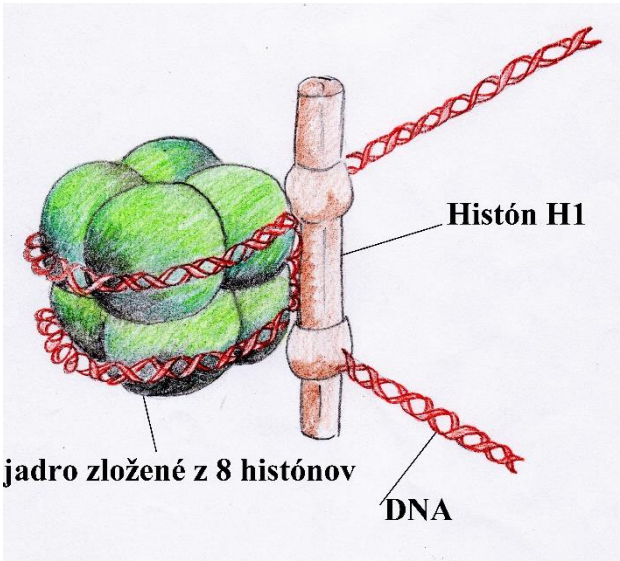
Jadro **je od cytoplazmy oddelené jednou jedinou kontinuálnou membránou**, ktorá však v priestore **vytvára dve vrstvy, ktoré sa stretávajú v mieste jadrových pórov**. Priestor medzi dvoma vrstvami jadrovej membrány sa nazýva perinukleárny priestor. S cytoplazmou jadro komunikuje pomocou **pórov**, **ktoré sa nachádzajú v miestach, kde sa stretáva vonkajšia a vnútorná vrstva jadrovej membrány** (obr. 6.3). Póry majú pomerne zložitú štruktúru a riadia výmenu makromolekúl medzi cytoplazmou a jadrom. **Vonkajšia vrstva jadrovej membrány** je na mnohých miestach **spojená s membránou endoplazmatického retikula** (ER) (obr. 6.3). Lumen (vnútro) ER a perinukleárny priestor tak vytvárajú jeden súvislý kompartment (Benda a kol., 2006).



Obr. 6.3. Jadro a endoplazmatické retikulum (ER)

Jadro je vyplnené polotekutou karyoplazmou, v ktorej sa nachádzajú vlákna a granule chromatínu. Hlavnou zložkou **chromatínu** je **DNA**, molekuly **bázických proteínov** – **histónov**, RNA a tiež nehistónové proteíny. DNA naviazaná na históny vytvára štruktúru nazývanú **nukleozóm** (obr. 6.4). DNA s dĺžkou približne 147 bázových párov je omotaná okolo jadra nukleozómu skladajúceho sa z ôsmich molekúl histónov – H2A, H2B, H3 a H4 (každý histón je v jadre nukleozómu prítomný dvakrát). Z boku sa k nukleozómom pripája histón H1 (obr. 6.4).

Počas delenia eukaryotických buniek (mitóza) sa chromatín špiralizuje a vytvára kratšie a hrubšie tyčinkovité štruktúry – **chromozómy** (Tortora a kol., 2016). Dĺžka a počet chromozómov sú špecifické pre každý druh. Chromozómy sú **viditeľné** zvyčajne pod svetelným mikroskopom **len v metafáze a anafáze mitotického delenia** (Lodish a kol., 2016).



Obr. 6.4. Nukleozóm. *Jadrová DNA eukaryotov je naviazaná na jadrá nukleozómov skladajúcich sa z ôsmich bázických molekúl histónov – H2A, H2B, H3 a H4 (každý histón je v jadre nukleozómu prítomný dvakrát). Z boku sa k nukleozómom pripája histón H1.*

V jadre sa nachádza **jedno alebo viacero jadierok (nucleolus)** (obr. 6.3), ktoré sú tvorené vláknami DNA, RNA a proteínmi. Jadierko nie je u všetkých eukaryotov stálou súčasťou jadra. Zaniká počas tzv. otvorenej mitózy (viď kapitola 13), počas ktorej zaniká aj jadrová membrána (napr. u suchozemských rastlín a živočíchov). V prípade mnohých jednobunkovcov s uzatvorenou mitózou (viď kapitola 13), počas ktorej nezaniká jadrová membrána, nezaniká ani jadierko (či jadierka) (napr. u Dinoflagellata a Euglenozoa). Úlohou jadierka je najmä **syntéza rRNA**, ribozómovej RNA, ktorá po spojení s proteínmi vytvorí ribozómové podjednotky, ktoré sú následne z jadra transportované do cytoplazmy (Chalupová-Karlovská, 2018).

6.2.2 Endoplazmatické retikulum (ER)

ER (obr. 6.3) predstavuje rozsiahly vnútrobunkový membránový systém ohraničený jednou membránou kontinuálnou s vonkajšou vrstvou jadrovej membrány, ktorý vytvára

početné kanáliky, mechúriky a sploštené cisterny. Existuje drsná a hladká forma ER (obr. 6.2), ktoré sa líšia štruktúrou a funkciou (Tortora a kol., 2016).

Na membráne drsného ER sú z cytoplazmatickej strany **naviazané ribozómy**, na ktorých prebieha proteosyntéza (translácia). Tieto ribozómy syntetizujú niektoré membránové a organelové proteíny a prakticky všetky proteíny, ktoré sú neskôr vylučované z bunky. **Proteíny syntetizované ribozómami naviazanými na drsnom ER sú už počas proteosyntézy** (translácie) **importované do lumena (vnútra) ER** – tzv. **kotranslačný import** proteínov.

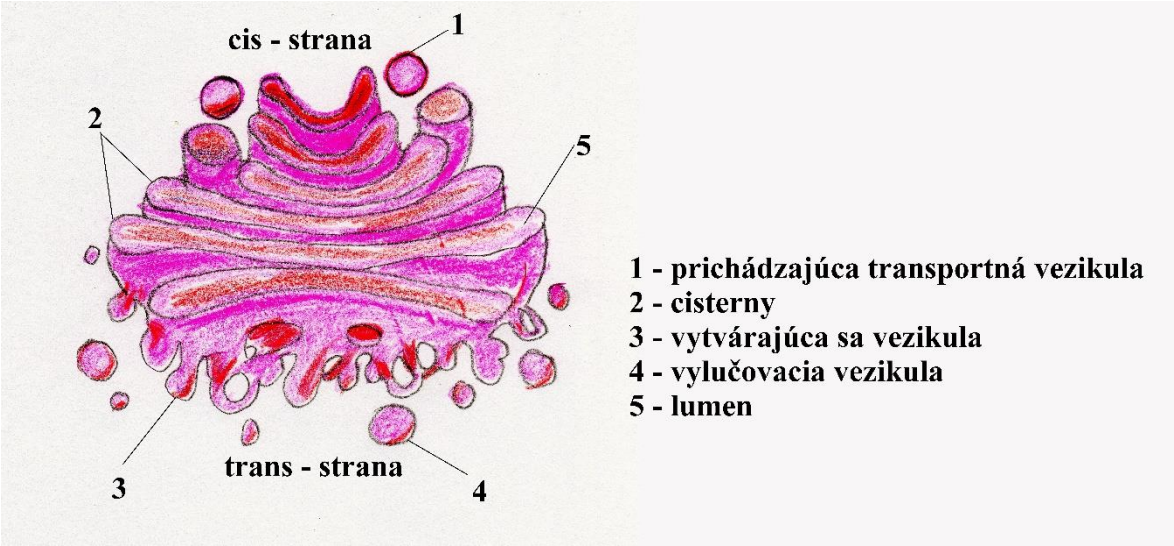
Na membráne hladkej formy ER nie sú naviazané ribozómy. V hladkom ER prebieha **syntéza lipidov**, fosfolipidov a hormónov, ale aj **detoxikácia jedov**.

Mnohé proteíny importované kotranslačne do ER a lipidy sú následne **pomocou vezikúl transportované do Golgiho aparátu** (GA). Ešte predtým sú však mnohé z nich v ER upravované (chemicky modifikované) (Lodish a kol., 2016).

6.2.3 Golgiho aparát (GA)

GA predstavuje **súbor** niekoľkých približne rovnako **veľkých sploštených cisterien uložených paralelne vedľa seba** (obr. 6.5). Funkčne a často aj priestorovo nadväzuje na ER. V živočíšnej bunke je jeden GA v tesnej blízkosti ER, naopak v rastlinnej bunke sa nachádza viacero GA po celej bunke (Rosypal a kol., 2003). Základnou **funkciou GA je úprava nasyntetizovaných látok, ktoré sú do GA importované z ER a ich ďalší transport** (Chalupová-Karlovská, 2018).

Proteíny syntetizované na ribozómoch drsného ER a transportované do ER ako aj lipidy syntetizované v hladkom ER sa **pomocou transportných vezikúl dostanú ku GA**, kde dôjde k spojeniu vezikuly a cisterny GA a následnej úprave obsahu vezikuly. Niektoré **látky sú pomocou vezikúl transportované k plazmatickej membráne**, do ktorej sa buď zabudujú alebo sa **exocytózou vylúčia** do extracelulárneho priestoru. Iné sú transportované **k lyzozómom**, prípadne k iným organelám (Tortora a kol., 2016).



Obr. 6.5. Golgiho aparát

6.2.4 Mitochondrie

Prítomnosť mitochondrií alebo aspoň ich pozostatkov (mitozómy a hydrogenozómy) bola donedávna považovaná za jeden z definujúcich znakov eukaryotov. Jediným doposiaľ známym eukaryotom, u ktorého sa aj napriek veľkým snahám nepodarilo identifikovať mitochondrie a ani ich pozostatky, je rod *Monocercomonoides* zo skupiny oxymonád (superskupina Excavata) (Karnkowska a kol., 2016). Počet mitochondrií v jednej bunke sa líši v závislosti od organizmu. Napr. parazitické prvoky rodu *Trypanosoma* (Euglenozoa, Excavata) spôsobujúce spavú nemoc a Chagasovu chorobu majú len jednu veľkú mitochondriu (tzv. kinetoplast), zatiaľ čo pečeňové bunky alebo bunky priečne pruhovaného svalu ich majú niekoľko tisíc. Vo vysokošpecializovaných bunkách (napr. v erytrocytoch cicavcov) môžu chýbať. Mitochondrie môžu byť aj poprepájané a vytvárať v cytoplazme sieť. Celková hmotnosť mitochondrií môže dosahovať 15-20 % celkovej hmotnosti bunky.

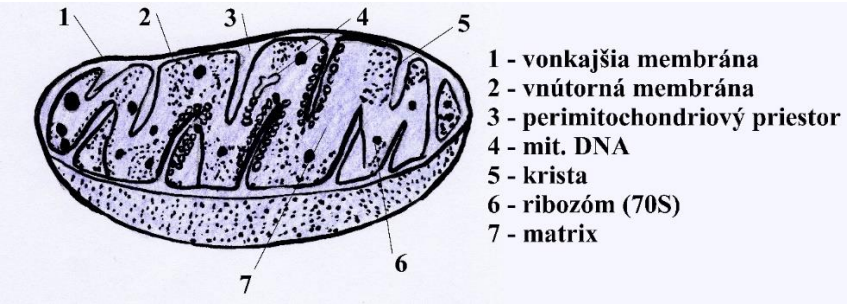
Mitochondrie **sú ohraničené dvomi membránami**, medzi ktorými je tzv. perimitochondriový priestor. Vonkajšia membrána je hladká, avšak **vnútorná** je usporiadaná do formy mnohých **záhybov**, ktoré nazývame **kristy** (obr. 6.6). Tvar kríst (napr. tubulárne, diskoidné a pod.) je špecifický pre rôzne taxonomické skupiny eukaryotov. **Vnútro mitochondrií** nazývame **matrix** (obr. 6.6.).

Mitochondrie nazývame aj **semiautonómne organely**, pretože obsahujú malý počet vlastných génov uložených v niekoľkých malých kruhových obyčajne identických molekulách DNA (**mitochondriový genóm**), ktoré kódujú malý počet mitochondriových proteínov a obyčajne aj mitochondriové rRNA a niektoré tRNA. Počty génov kódovaných mitochondriovým genómom (cca od 5 do niekoľko desiatok) ako aj veľkosti mitochondriového genómu (cca niekoľko kbp až po niekoľko desiatok kbp) sú druhovo špecifické. Väčšina proteínov potrebných pre funkciu mitochondrií je kódovaná jadrovou DNA. **Mitochondrie** taktiež **obsahujú ribozómy baktériového typu (70S)**, čo im umožňuje proteosyntézu. Ďalšie **mitochondrie vznikajú len delením už existujúcich mitochondrií**. Mitochondrie **vznikli z** pôvodne voľne žijúcich **α-proteobaktérií**, ktoré boli prijaté hostiteľskou bunkou (predchodcom eukaryotickej bunky) v procese tzv. **endosymbiózy** (Benda a kol., 2006). Evolúcia α-proteobaktérií v mitochondrie bola sprevádzaná stratou génov z pôvodného genómu symbiotických baktérií a ich prenosom do genómu hostiteľa. **Mitochondriový genóm je** teda **pozostatkom genómu endosymbiotických baktérií**.

Mitochondrie sú väčšinou popisované ako **aeróbne organely**, ktoré **spotrebúvajú atmosférický kyslík** (dýchajú). Vnútorný priestor vyplňuje matrix, ktorá obyčajne obsahuje **enzýmy Krebsovho cyklu** a oxidácie mastných kyselín. **Vnútorná membrána mitochondrií obsahuje** zase obyčajne **enzýmy oxidatívnej fosforylácie a enzým ATP syntázu**, ktorá syntetizuje ATP. **ATP** je molekula, ktorá slúži ako **základný zdroj energie** vo všetkých bunkách. Mitochondrie sa preto niekedy označujú aj **ako energetické centrum eukaryotickej bunky** (Tortora a kol., 2016).

Mitochondrie niektorých prvokov (napr. rod *Euglena* zo skupiny Excavata) sú však **schopné produkovať energiu za aeróbnych (s kyslíkom) aj za anaeróbnych (bez kyslíka)** podmienok. Niektoré anaeróbne prvoky majú mitochondrie značne zredukované a ťažko identifikovateľné. Takéto mitochondrie nazývame **hydrogenozómy a mitozómy**. Hydrogenozómy väčšinou a mitozómy nikdy **neobsahujú mitochondriový genóm a ribozómy** a **stratili** aj schopnosť **oxidatívnej fosforylácie**. Hydrogenozómy aj mitozómy sú však **obalené dvomi membránami** ako mitochondrie. Zatiaľ čo **hydrogenozómy** majú **schopnosť produkcie ATP a molekúl vodíka**, **mitozómy ATP neprodukujú**, prebiehajú však v nich iné obligátne biochemické procesy. Medzi organizmy, ktoré majú hydrogenozómy patrí napr. vaginálny parazit *Trichomonas vaginalis* (Excavata).

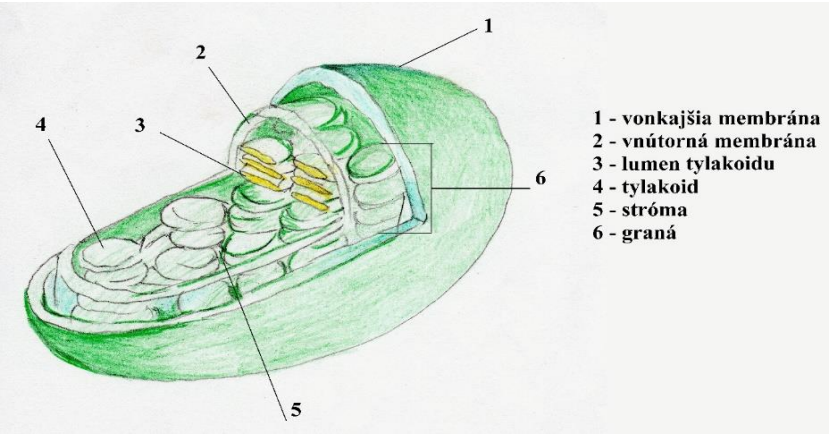
Medzi organizmy s mitozómami patria napr. črevné parazity rodov *Entamoeba* (Amoebozoa) a *Giardia* (Excavata) (Makiuchi a Nozaki, 2014).



Obr. 6.6. Mitochondria

6.2.5 Plastidy

Organizmy zo skupiny **Archaeplastida**, medzi ktoré patria Glaucophyta, červené riasy (Rhodophyta/Rhodoplantae), zelené riasy a suchozemské rastliny (dokopy nazývané Viridiplantae) obsahujú jedinečnú organelu – **plastid** (resp. **chloroplast**), ktorá **je ohraničená dvomi membránami** (vnútornou a vonkajšou). Hoci sa v literatúre termín plastidy a chloroplasty často využívajú ako synonymá, niektorí odborníci navrhujú termínom chloroplast označovať len zelené chloroplasty (napr. u zelených rias a suchozemských rastlín), ktoré popri fotosyntetickom farbive chlorofyle *a* obsahujú aj chlorofyl *b*. Plastidy obalené dvomi membránami nazývame aj **primárne plastidy** (resp. primárne chloroplasty). **Vnútro plastidu** vypĺňa **stróma**, v ktorej sa nachádza zložitý **membránový systém derivovaný z vnútornej membrány chloroplastu – tylakoidy**, ktoré obsahujú **chlorofyl**. **Tylakoidy** často **vytvárajú zoskupenia**, ktoré nazývame **graná** (obr. 6.7). Rovnako ako mitochondrie aj **plastidy zvyčajne obsahujú ribozómy prokaryotického typu s veľkosťou 70S a svoju vlastnú DNA** – teda aj plastidy sú **semiautonómne organely**. **Plastidy skupiny Archaeplastida vznikli** tzv. **primárnou endosymbiózou z** fotosyntetických baktérií – **cyanobaktérií** (siníc). Mnohé riasy a Protista však obsahujú tzv. sekundárne plastidy obalené tromi alebo štyrmi membránami, ktoré vznikli endosymbiózou z červených alebo zelených rias (Vesteg a kol. 2009). Plastidy niektorých organizmov schopnosť fotosyntézy stratili (viď kapitola 22.4).



Obr. 6.7. Primárny chloroplast obalený dvomi membránami

6.2.6 Lyzozómy

Lyzozómy sa nachádzajú napr. v bunkách niektorých **fagotrofných prvokov** alebo **v živočíšnych bunkách**. Predstavujú 0.5-1 µm veľké membránové organely, ktoré sú derivátmi GA. Majú len **jednu membránu** a chýba im vnútorná štruktúra. Vo vnútri lyzozómov je pH o niečo kyslejšie ako v cytoplazme. Lyzozómy obsahujú množstvo tzv. **tráviacich enzýmov**, ktoré majú schopnosť rozkladať rôzne organické molekuly a keby sa dostali do cytoplazmy, dokázali by zničiť bunku (Black a Black, 2014). Tieto enzýmy dokážu **tráviť baktérie** alebo drobné eukaryoty, ktoré sa dostali do buniek dravých prvokov prostredníctvom **fagocytózy**. Taktiež dokážu **tráviť organické molekuly**, ktoré boli **prijaté** bunkou z prostredia **prostredníctvom endocytózy**. Ľudské biele krvinky, ktoré fagocytujú parazitické baktérie obsahujú veľké množstvo lyzozómov (Tortora a kol., 2016).

6.2.7 Peroxizómy

Peroxizómy sú podobné organely ako lyzozómy, s veľkosťou cca 0,15-1,5 µm. Vyskytujú sa u mnohých, ale nie všetkých prvokov, v živočíšnych, ale aj rastlinných bunkách a v bunkách húb. Väčšinou sú **asociované s mitochondriami**, **ktoré počas oxidatívnej fosforylácie produkujú toxické kyslíkové radikály, ktoré sa menia na peroxid vodíka H_2O_2. Peroxizómy premieňajú H_2O_2 na vodu, čím ho zneškodnia**. Ak by došlo k hromadeniu H_2O_2 v bunke, spôsobilo by to jej smrť (Black a Black, 2014). Okrem tejto svojej univerzálnej funkcie môžu mať peroxizómy celú radu ďalších funkcií, ktoré sú špecifické pre daný druh, resp. skupinu organizmov. Môžu sa napr. podieľať na metabolizme mastných kyselín alebo na oxidácii aminokyselín. V niektorých organizmoch môžu byť značne modifikované a môžu vykonávať vysokošpecializované funkcie (napr. glyoxalátový cyklus v „glyoxyzómoch“ v klíčiacich semenách rastlín či dokonca glykolýza v „glykozómoch“ trypanozóm). Peroxizómy **vznikajú z ER**, **môžu sa** však **množiť aj delením** a môžu aj fúzovať (Gabaldón, 2010).

6.2.8 Vakuoly

Vakuola je priestor alebo dutina v cytoplazme, ktorá je **uzavretá membránou – tonoplastom**. V rastlinných bunkách môže vakuola zaberať 5-95% objemu bunky, v závislosti od typu bunky. Vakuoly **vznikajú** odtrhnutím vezikúl **z GA**. Majú niekoľko funkcií. Jednou z nich je, že slúžia ako dočasné **zásobné organely** pre látky ako sú proteíny, sacharidy, organické kyseliny či anorganické ióny. Vakuoly tiež môžu mať degradačné účinky podobne ako lyzozómy v živočíšnych bunkách. Vakuoly **môžu nasávať vodu**, čím zväčšujú objem bunky a tak isto zabezpečujú pevnosť listov a stoniek u suchozemských rastlín. Takzvané **pulzujúce vakuoly u prvokov** slúžia **na vyrovnávanie osmotického tlaku**. Špeciálnym typom vakuol **u prvokov, ktoré sa živia fagocytózou sú potravové vakuoly** (Tortora a kol., 2016).

6.2.9 Cytoplazma (cytosol)

Cytoplazma eukaryotickej bunky je obalená cytoplazmatickou membránou zloženej z dvojvrstvy fosfolipidov, ktorá však na rozdiel od prokaryotov nemá funkciu v energetickom metabolizme buniek. Túto funkciu obyčajne u eukaryotov nahrádza vnútorná membrána mitochondrií. Cytoplazma zaberá u eukaryotických buniek menšiu časť bunky ako v prokaryotických bunkách, pretože jadro a ostatné membránové organely vypĺňajú väčšinu priestoru bunky. Rovnako ako u prokaryotov je cytoplazma zložená z vody a látok v nej rozpustených. Okrem toho sa **v nej** nachádzajú **súčasti** tzv. **cytoskeletu**, ktoré bunku podporujú, dávajú jej tvar a zúčastňujú sa transportu látok pomocou vezikúl (Black a Black, 2014).

V cytoplazme prebieha mnoho chemických reakcií, ktoré sú základom existencie bunky. Dochádza tu k jednému z najdôležitejších dejov v bunke – **k proteosyntéze**, ktorá prebieha **na ribozómoch**. **V cytoplazme** prokaryotov aj eukaryotov obyčajne **prebieha** tzv. **glykolýza** – enzymatický **rozklad glukózy za vzniku ATP** (Alberts a kol., 2007).

6.2.10 Cytoskelet

V cytoplazme eukaryotov sa nachádza **súbor vláknitých proteínov**, ktoré sa súborne nazývajú cytoskelet. Cytoskelet častokrát aj vystužuje plazmatickú membránu. U prvokov často vytvára pod plazmatickou membránou tzv. pelikulu. Súčasťou cytoskeleletu sú aj eukaryotické bičíky zložené z tubulínu, ktoré slúžia obyčajne na pohyb. Zložky cytoskleletu sa rozdeľujú podľa hrúbky a funkcie na:

- **Mikrotubuly** (priemer 20 nm) – zložené **z tubulínu**
- **Mikrofilamenty** (priemer 7 nm) – zložené **z aktínu**
- Intermediárne filamenty (priemer 10 nm).

Jednotlivé monoméry polymerizujú do vlákien, ktoré sa spájajú do zväzkov. Cytoskelet pomáha bunke **udržiavať tvar**, ale **plní aj pohybovú úlohu**. Za **pomalý amébovitý pohyb** niektorých prvokov je obyčajne zodpovedný **najmä aktínový cytoskelet**. Najmä aktínový cytoskelet je zodpovedný aj **za premiestňovanie organel a transport látok pomocou vezikúl**. **Tubulín** je nielen **súčasťou bičíkov**, ale aj **mitotického vretienka**, ktoré spôsobuje pohyb chromozómov pri mitotickom delení. (Lodish a kol., 2016)

6.2.11 Ribozómy

Ribozómy eukaryotických buniek sú väčšie ako u prokaryotov. Sú **tvorené ribozómovými rRNA a proteínmi**. **Eukaryotické ribozómy** s veľkosťou **80S** sa skladajú **z veľkej podjednotky 60S**, ktorá obsahuje **tri molekuly rRNA** a **z menšej podjednotky 40S**, ktorá obsahuje len **jednu molekulu rRNA**. Proteíny a ribozómové rRNA sa zhromažďujú do podjednotiek v jadierku jadra, odkiaľ sú transportované do cytoplazmy, kde sa následne spoja. **Chloroplasty a mitochondrie** obsahujú obyčajne **ribozómy prokaryotického typu (70S)**, čo potvrdzuje ich **pôvod z baktérií** (Tortora a kol., 2016).

Na všetkých ribozómoch prebieha **proteosyntéza**. **Niekoľko ribozómov** (najčastejšie 10-20) môže byť **naviazaných** naraz **na jednu molekulu mRNA** a vytvárať tak **reťazce**

polyribozómov (polyzómov). **Ribozómy**, ktoré sú uložené **voľne v cytoplazme**, zvyčajne syntetizujú proteíny, ktoré si plnia svoju funkciu v cytoplazme alebo v mitochondriách. Naopak **ribozómy naviazané na ER** syntetizujú proteíny, ktoré sú neskôr transportované do GA alebo von z bunky (Black a Black, 2014).

6.2.12 Bunková stena

Bunky mnohých skupín eukaryotov majú nad cytoplazmatickou membránou bunkovú stenu, ktorá môže mať variabilné zloženie v závislosti od druhu organizmu. **Obyčajne** sa bunkové steny skladajú **z polysacharidov**. Hlavnou zložkou bunkových stien **rastlín a mnohých rias** je polysacharid **celulóza**. Bunkové steny väčšiny **húb** obsahujú polysacharid **chitín**. **Živočíšne bunky** nemajú polysacharidovú bunkovú stenu, ale majú cytoplazmatickú membránu pokrytú **vrstvou glykoproteínov – glykokalyxom**. Funkciu bunkovej steny môžu **u mnohých prvokov** nahrádzať **rôzne typy schránok zložených** najčastejšie **z kremičitých alebo vápenatých zlúčenín** (Tortora a kol., 2016).

Literatúra

ALBERTS a kol. 2007. Molecular biology of the cell. 5th edition. New York: Taylor & Francis Group.

BENDA, V. – BABŮREK, I. – KOTRBA, P. 2006. Základy biologie. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.

BLACK, J. G. – BLACK, L. J. 2014. Microbiology: principles and explorations. 9th edition. John Wiley & Sons.

CHALUPOVÁ – KARLOVSKÁ, V. 2010. Obecná biologie. 2. vyd. Olomouc: Nakladatelství Olomouc.

GABALDÓN, T. 2010. Peroxisome diversity and evolution. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 365, 765-773.

KARNKOWSKA, A. a kol. 2016. A eukaryote without a mitochondrial organelle. Curr Biol 26, 1274-1284.

LODISH, L. a kol. 2016. Molecular cell biology. 8th edition. Macmillan Learning.

MAKIUCHI, T. – NOZAKI, T. 2014. Highly divergent mitochondrion-related organelles in anaerobic parasitic protozoa. Biochimie 100, 3-17.

ROSYPAL, S. a kol. 2003. Nový přehled biologie. Praha: Scientia.

TORTORA, G. J. – FUNKE, B. R. – CASE, C. L. 2016. Microbiology: An introduction. 12th edition. Pearson.

VESTEG, M. – VACULA, R. – KRAJČOVIČ, J. 2009. On the origin of chloroplasts, import mechanisms of chloroplast-targeted proteins, and loss of photosynthetic ability. Folia Microbiol 54, 303-321.

7 ORGANIZÁCIA A VEĽKOSŤ GENÓMOV PROKARYOTOV A EUKARYOTOV

Katarína Majkútová, Matej Vesteg

Každý bunkový organizmus má svoju genetickú informáciu uloženú v jednom alebo vo viacerých chromozómoch. Chromozómy sa skladajú z dvojvláknovej DNA, na ktorú sa viažu proteíny. Pod pojmom **genóm** rozumieme **súbor všetkých génov organizmu** (Ringo, 2010).

Genómy sa skladajú z funkčných sekvencií, ako sú gény, regulačné sekvencie, centroméry, teloméry a počiatky replikácie, ale aj zo sekvencií, ktoré nemajú žiadnu funkciu alebo je ich funkcia neznáma. Základný rozdiel medzi genómami prokaryotov a eukaryotov spočíva v tom, že prokaryoty majú týchto zdanlivo nefunkčných sekvencií zväčša veľmi málo, pričom v genómoch eukaryotov je ich obyčajne pomerne veľa.

7.1 Prokaryotické genómy

Prokaryotická bunka môže obsahovať dva typy genetických elementov uložených v cytoplazme. Pre život a normálne fungovanie bunky je zvyčajne potrebný len **jeden esenciálny chromozóm** predstavovaný obyčajne **do kruhu uzavretou molekulou DNA**. Mnohé prokaryoty však obsahujú aj druhý typ genetických elementov, ktorými sú **plazmidy**. **Plazmidy zvyčajne nie sú úplne nevyhnutné pre prežitie** či reprodukciu, ale **za určitých podmienok môžu svojim nositeľom poskytovať určitú výhodu**. **Plazmidy** sú tiež **zvyčajne uzavreté do kruhu**. **Esenciálny chromozóm** sa **v nereprodukujúcej bunke** nachádza zväčša len v jednej kópií. V reprodukujúcich bunkách sa však často vyskytuje vo viacerých kópiách. **Počet plazmidov** na bunku môže byť **rôzny**, od žiadneho až po niekoľko desiatok kópií (Alberty, 2011). Približne 5% preskúmaných prokaryotov však obsahuje viac ako jeden esenciálny chromozóm (napr. *Vibrio cholerae* alebo *Deinococcus radiodurans* obsahujú dva), pričom tieto chromozómy sa zvyčajne líšia svojimi veľkosťami (Touchon a Rocha, 2016). Chromozómy väčšiny prokaryotov sú síce kruhové, ale v zriedkavých prípadoch môžu byť aj lineárne. Nikdy však neobsahujú eukaryotický typ telomér (koncov lineárnych eukaryotických chromozómov). Prokaryotické chromozómy nikdy nemajú štruktúru metafázových eukaryotických chromozómov a nenachádzajú sa v jadre, ale v cytoplazme. Kruhový chromozóm je v bunkách ešte rôznym spôsobom priestorovo zmotaný.

Veľkosť prokaryotického genómu sa pohybuje približne od 50 kb (kilobáz) až po viac ako 13 Mb (megabáz). **U prokaryotov** približne platí, že **čím** majú **väčší genóm**, **tým sa v ňom nachádza viac génov**. Prokaryoty s väčšími genómami sú schopné prežiť vo variabilnejších podmienkach a využívať viac zdrojov energie a metabolických dráh ako prokaryoty s menšími genómami. Naopak parazitické (napr. *Mycoplazma genitalium*) a endosymbiotické baktérie majú veľmi často genómy pomerne malé, redukované, s malým počtom génov (Tabuľka 7.1). Väčšina DNA prokaryotov kóduje RNA a proteíny, prípadne zodpovedá rôznym regulačným a iným funkčným elementom. **Len veľmi malá časť** genómu je **predstavovaná nekódujúcou DNA bez funkcie** (Touchon a Rocha, 2016). **Prokaryotické gény len vo veľmi zriedkavých prípadoch obsahujú nekódujúce časti – intróny**. Ak ich aj majú, je ich veľmi málo a sú **vystrihované tzv. samostrihom** (intróny skupiny I a II). V *in vitro* podmienkach sa z RNA vedia vystrihnúť sami. **Tieto intróny sú veľmi odlišné od eukaryotických intrónov**, ktoré sú veľmi rozšírené v génoch eukaryotov a vystrihuje ich

veľký ribonukleoproteínový komplex nazývaný spliceozóm. Prokaryoty teda nikdy nemajú spliceozóm ani spliceozómové intróny eukaryotického typu.

Tabuľka 7.1. Príklady veľkosti prokaryotických genómov a počet génov, ktoré kódujú

Archeóny	**Veľkosť genómu (~ Mb)**	**Približný počet génov**
Methanocaldococcus jannaschii	1.66	1715
Pyrococcus horikoshii	1.74	2060
Archaeoglobus fulgidus	2.18	2400
Methanosarcina acetivorans	5.75	4540
Baktérie	**Veľkosť genómu (Mb)**	**Približný počet génov**
Mycoplasma genitalium	0.58	525
Deinococcus radiodurans	Chromozóm 1: 2.65 Chromozóm 2: 0.41 Plazmid 1: 0.18 Plazmid 2: 0.05	3200
Bacillus subtilis	4.20	4100
Mycobacterium tuberculosis	4.41	4000
Escherichia coli K-12	4.64	4400

Prokaryotický chromozóm (nukleoid) je síce **uložený voľne v cytoplazme**, ale jedným miestom sa pripája k cytoplazmatickej membráne bunky. Na chromozóme, ale aj plazmide sa nachádza krátka sekvencia nazývaná počiatok replikácie (ori), na ktorej sa začína replikácia chromozómu (Alberty, 2011).

7.2 Eukaryotické genómy

Genóm eukaryotickej bunky je uložený **v jadre** bunky. Skladá sa **z viacerých lineárnych chromozómov**, ktoré sú **zložené z vláknitého chromatínu**. Chromatín sa skladá z histónových proteínov, okolo ktorých je obtočená molekula DNA, čím vytvára základnú elementárnu štruktúru chromatínu – nukleozóm. Vyššou štruktúrou chromozómu je solenoid, ktorý vzniká pospájaním nukleozómov pomocou histónu H1 do 30 nm širokého chromatínového vlákna, ktoré vytvára slučky pripojené k nehistónovým proteínov. Ďalšími ohybmi a skladaním chromatínu vzniká **v metafáze mitózy vysoko kondenzovaný chromozóm**. Chromatín rozdeľujeme podľa intenzity zafarbenia zásaditými cytologickými farbivami, stupňa jeho kondenzácie a intenzity transkripcie na euchromatín a heterochromatín. **Euchromatín** je zložený z unikátnych (neopakujúcich sa) sekvencií DNA a obsahuje **väčšinou aktívne transkribované gény**. V čase interfázy (keď sa bunka nedelí) je euchromatín rozptýlený v jadre (dekondenzovaný). Naopak **heterochromatín** obsahuje vysoko repetitívne nekódujúce sekvencie DNA, teda je **transkripčne neaktívny** (neprepisuje

sa do RNA). Heterochromatín sa za použitia zásaditých farbív farbí intenzívnejšie a je vysoko kondenzovaný počas interfázy (Alberts a kol., 2007).

Eukaryotické chromozómy sú **vždy lineárne** a **na svojich koncoch majú teloméry**. Teloméry sú krátke opakujúce sa terminálne sekvencie lineárnych DNA. Oproti teloméram lineárnych chromozómov prokaryotov, ktoré sú pomerne zriedkavé, sú eukaryotické teloméry komplexnejšie. Teloméry môžu aj priliehať k jadrovej membráne. **Úlohou telomér** je **chrániť chromozóm pred degradáciou alebo fúziou so susedným chromozómom**. Teloméry sú tiež kritické pre úplnú replikáciu terminálnych (koncových) sekvencií chromozómov (Karp, 2016; viď kapitola 8).

Eukaryotické bunky môžu obsahovať jednu alebo dve sady chromozómov. Ak obsahujú len **jednu sadu chromozómov**, nazývame ich **haploidné**. Ak obsahujú **dve sady (kópie) chromozómov** (chromozómové páry), nazývame ich **diploidné**. Jednobunkové eukaryoty obyčajne vo svojom životnom cykle striedajú haploidné a diploidné štádiá. V prípade mnohých mnohobunkových eukaryotov (napr. u živočíchov) sú obyčajne diploidné bunky somatické telové, pričom haploidné sú len pohlavné bunky. Z tejto základnej schémy však existuje veľa výnimiek (napr. mnohé rastliny sú polyploidné – obsahujú viac ako dve kópie chromozóvej sady). Mnohé organizmy (napr. živočíchy) môžu mať okrem **autozómov (nepohlavné chromozómy)** aj **chromozómy determinujúce pohlavie – gonozómy** (napr. živočíšne chromozómy X a Y). Veľkosť genómov eukaryotov sa najčastejšie udáva pre haploidný genóm (Tabuľka 7.2).

Eukaryotický genóm je zvyčajne len z pomerne malej časti tvorený DNA, ktorá kóduje RNA a proteíny. Z oveľa **väčšej časti sa** zvyčajne **skladá z nekódujúcich sekvencií**. Medzi nekódujúce sekvencie, ktoré majú jasnú úlohu patria centroméry, teloméry a DNA regulačné sekvencie. Veľká časť nekódujúcich sekvencií však nemá žiadnu (resp. žiadnu známu) funkciu. Na rozdiel od prokaryotického chromozómu môže mať eukaryotický chromozóm aj viac než tisíc počiatkov replikácie, ktoré predstavujú krátku sekvenciu DNA bohatú na adenín (A) a tymín (T) – teda AT sekvencie (viď kapitola 8). Veľká časť DNA, ktorá je transkribovaná do mRNA však obyčajne neslúži ako matrica pre transláciu a musí byť pred transláciou z mRNA povystrihovaná. Tieto **nekódujúce časti** nazývame **intróny** (Alberty, 2011).

Ďalšími typmi nekódujúcich sekvencií v genómoch eukaryotov sú **pseudogény, transpozónom podobné sekvencie a satelity**. **Pseudogén** predstavuje **nefunkčnú kópiu génu**. Podľa jeho predlohy sa netvorí žiadny finálny proteínový produkt, pretože sa nemôže transkribovať. Transpozónom podobné sekvencie sú napr. **krátke rozptýlené jadrové elementy** (**SINEs** – short interspersed nuclear elements) a **dlhé rozptýlené jadrové elementy** (**LINEs** – long interspersed nuclear elements). SINE a LINE sú väčšinou rozptýlené po celom genóme organizmu, ale najčastejšie sa nachádzajú v oblasti telomér (Alberty, 2011). Tieto sekvencie **sú pravdepodobne potomkami mobilných elementov typu transpozónov, ktoré sa vedia množiť a pohybovať sa po genómoch**. **Satelity** predstavujú **tandemové usporiadanie krátkych opakujúcich sa sekvencií**. Podľa dĺžky opakovania ich rozdeľujeme na:

- **Mikrosatelity** – s opakovaním 2-5 bp.
- **Minisatelity** – s opakovaním 10-20 bp.
- **Makrosatelity** – sekvencie s opakovaním 100-6500 bp.

Stojí za zmienku, že v prípade niektorých parazitických eukaryotov sa nekódujúce oblasti takmer nevyskytujú. Pravdepodobne sa sekundárne stratili v dôsledku a adaptácie k parazitizmu a potreby zrýchlenej replikácie DNA.

Veľkosť genómov eukaryotov je veľmi rozmanitá **od** približne **2.5 do** zhruba **670 000 Mb na haploidné jadro** (Tabuľka 7.2). **Veľkosť genómu človeka** je približne **3000 Mb** na haploidné jadro a predstavuje u cicavcov priemer. Najmenšie eukaryotické genómy

majú niektoré parazitické jednobunkovce. **U vnútrobunkového parazita *Encephalitozoon cuniculi*** nachádzame **genóm s veľkosťou len 2.5 Mb**, čo je **menej ako u niektorých prokaryotov** (*Escherichia coli* má genóm veľký 4.6 Mb). Pomerne veľké genómy môžeme nájsť u niektorých obojživelníkov. U salamandier sa veľkosť genómu pohybuje medzi 14 000 a 120 000 Mb, čo je podstatne viac ako u človeka (3000 Mb). Pomerne veľké genómy (väčšie ako človek) majú aj niektoré kvitnúce rastliny. Je zaujímavé, že **jeden z najväčších genómov majú améby** (napr. *Polychaos dubium*), ktorých genómy **sú 100-200 krát väčšie, ako je ten humánny**. Tieto **variácie vo veľkosti genómov väčšinou zapríčiňuje prítomnosť nekódujúcich sekvencií** (najmä repetitívnych sekvencií a intrónov), ktoré u najväčších genómov predstavujú viac ako 99% (Alberty, 2011).

Tabuľka 7.2. Variácie vo veľkosti eukaryotického genómu a v počte génov a chromozómov

Druh	Veľkosť genómu (~ Mb)	Približný počet génov	Haploidný počet chromozómov
Encephalitozoon cuniculi (vnútrobunkový parazit človeka)	2.5	2 000	11
Saccharomyces cerevisiae (pekárenská kvasinka)	12	6 000	16
Plasmodium falciparum (spôsobuje maláriu)	23	5 300	14
Caenorhabditis elegans (modelový červ)	100	19 000	6
Drosophila melanogaster (vínna muška)	140	14 000	4 (+1Y)
Ratus norvegicus (potkan hnedý)	2 800	20 000 – 30 000	21 (+1Y)
Homo sapiens (človek)	3 000	20 000 – 30 000	23 (+1Y)
Polychaos dubium (*Amoeba dubia* – jednobunková améba)	670 000	?	?

Literatúra

ALBERTS a kol. 2007. Molecular biology of the cell. 5th edition. New York: Taylor & Francis Group.

ALBERTY, R. 2011. Fundamental genetics, skrátené slovenské vydanie. 1. vyd. Banská Bystrica: Fakulta prírodných vied, Univerzita Mateja Bela, Banská Bystrica.

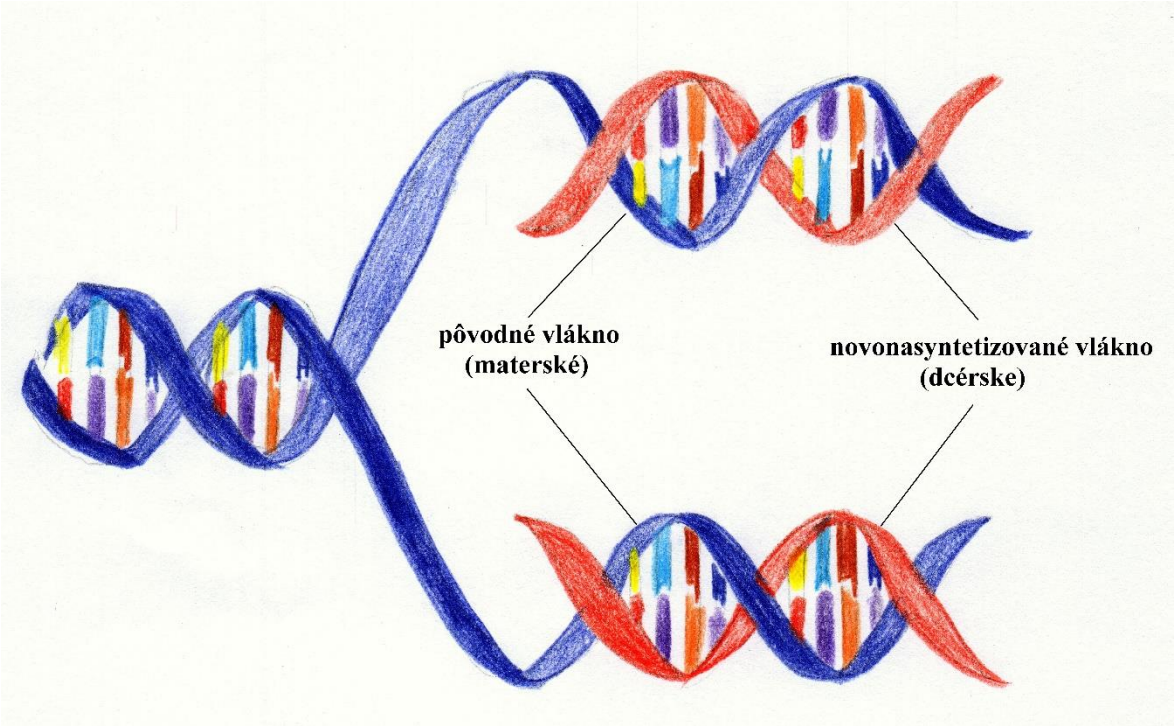
KARP, G. 2016. Cell and molecular biology: Concepts and experiments. 8th edition. Hoboken: John Wiley.

TOUCHON, M., & ROCHA, E. 2016. Coevolution of the organization and structure of prokaryotic genomes. Cold Spring Harb Perspect Biol 8, a018168.

8 REPLIKÁCIA GENÓMOV PROKARYOTOV A EUKARYOTOV

Katarína Majkútová, Matej Vesteg

Replikácia DNA umožňuje prenos genetickej informácie z jednej generácie na druhú. K replikácií DNA dochádza ešte pred rozdelením. V prípade prokaryotov aj eukaryotov je **mechanizmus replikácie semikonzervatívny** (obr. 8.1) – **nová kópia DNA je zložená z jedného pôvodného (materského) vlákna a z jedného novonasyntetizovaného (dcérskeho) vlákna** (Tortora a kol., 2016).



Obr. 8.1. Semikonzervatívna replikácia DNA

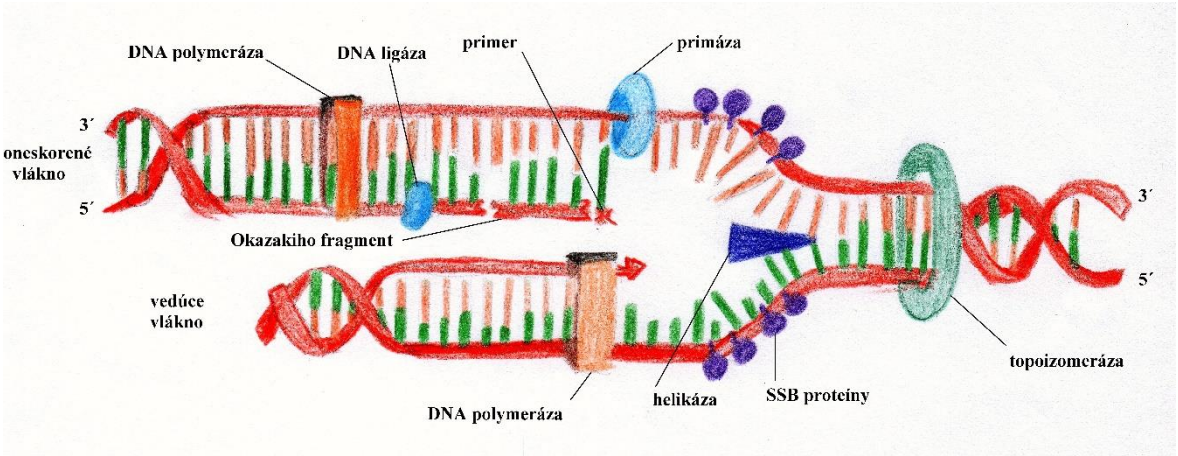
K syntéze DNA sú potrebné **dNTP** (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), **templát** (DNA predloha), **primer** (krátky RNA oligonukleotid potrebný pre začiatok syntézy) a **DNA polymeráza**. Po denaturácii dvojvláknovej DNA (oddelení dvoch vlákien od seba) slúžia obe vlákna ako templát (matrica) pre novosyntetizujúce sa vlákna. **Nukleotidy sú priraďované do novovznikajúceho vlákna na základe párovania s templátom na princípe komplementarity**. Pri formovaní polyméru vzniká fosfodiesterová väzba medzi α-fosfátom nukleotidtrifosfátu a 3´ kyslíkom rastúceho reťazca polynukleotidu (reťazec sa predĺži o jeden nukleotid) (Alberty, 2011). DNA replikáciu možno simulovať aj *in vitro* v reakcii nazývanej PCR (polymerase chain reaction), ktorá je jednou zo základných metód molekulovej biológie a je veľmi často využívaná aj na identifikáciu mikroorganizmov v rôznych vzorkách (napr. z pacientov, z vody, potravín a pod.).

Replikácia DNA sa začína v mieste ori (počiatok replikácie – origin of replication). Je to špecifická sekvencia nukleotidov, ktorá je rozpoznávaná špecifickými proteínmi, ktoré v tomto mieste dve vlákna DNA od seba oddelia. Za **následné rozpletanie** dvojvláknovej

DNA je zodpovedný enzým nazývaný DNA **helikáza**. DNA polymeráza nevie zahájiť syntézu DNA sama, dokáže len pripojiť nukleotid k predchádzajúcemu nukleotidu. Kvôli tomu prichádza po rozletení DNA pred zahájením syntézy DNA enzým **primáza** (je to vlastne DNA-závislá RNA-polymeráza), ktorý je **zodpovedný za syntézu krátkeho úseku RNA** (**primer** – úsek RNA dlhý cca 10-20 nukleotidov) a na jeho 3´ koniec je už DNA polymeráza schopná naviazať prvý nukleotid nového (komplementárneho) vlákna DNA (obr. 8.2).

Vzhľadom k tomu, že vlákna DNA sú antiparalelné a **DNA polymeráza dokáže syntetizovať DNA len v smere 5´-3´** (viď kapitola 5), **prebieha replikácia súvisle (kontinuálne) len na jednom – vedúcom (leading) vlákne**. Druhé – **oneskorené** (lagging) **vlákno je syntetizované diskontinuálne, po krátkych úsekoch** nazývaných **Okazakiho fragmenty** (Otová a Mihálová, 2012) (obr. 8.2).

Pri syntéze vedúceho vlákna je potrebný **len jeden primer**, avšak **syntéza oneskoreného vlákna si vyžaduje tvorbu primeru pre každý Okazakiho fragment** (obr. 8.2.) Pre **vytvorenie súvislého vlákna z Okazakiho fragmentov** sú potrebné tri enzýmy. Pomocou **nukleázy** je potrebné **odstrániť primer**, tento primer nahradiť DNA pomocou inej DNA polymerázy a nakoniec **spojiť všetky fragmenty pomocou enzýmu ligázy** (Alberts a kol., 2007).



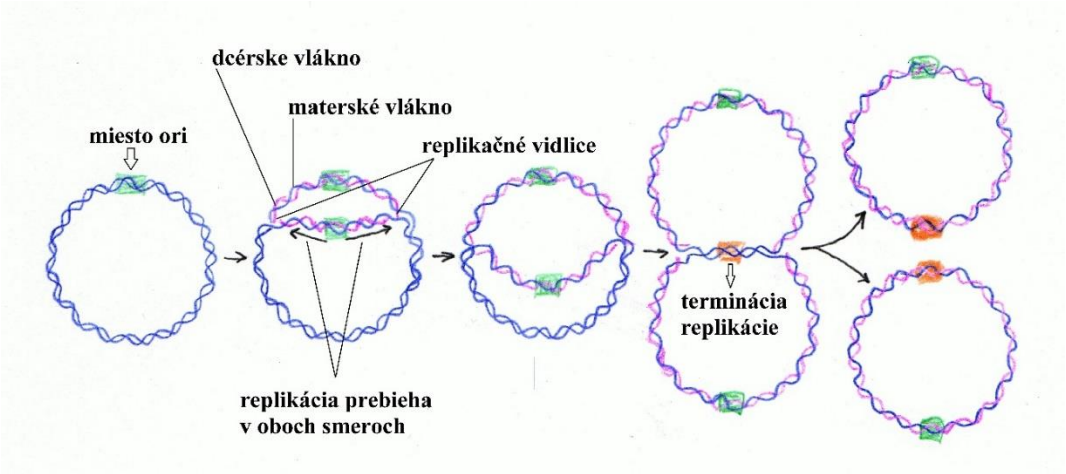
***Obr. 8.2. Proteíny nutné pre replikáciu DNA* in vivo.** *Helikáza zabezpečuje postupné rozpletanie dvojzávitnice DNA. Pomocou enzýmu primázy je nasyntetizovaný RNA primer, na ktorý následne pripája DNA polymeráza v smere 5´-3´ nukleotid za nukleotidom. Po syntéze Okazakiho fragmentov oneskorujúceho vlákna dôjde k ich spojeniu pomocou DNA ligázy. SSB proteíny majú za úlohu zabrániť opätovnému spojeniu vlákien do dvojzávitnice. Topoizomeráza spôsobuje zmeny priestorovej štruktúry DNA.*

DNA polymeráz je u prokaryotov aj eukaryotov viacero a ich funkcie a presnosť, s akou pracujú, sa do značnej miery líši. Rôzne organizmy majú rôzne polymerázy a DNA polymeráza realizujúca replikáciu väčšiny genómu je pomerne presne pracujúci enzým, ktorý urobí jednu chybu na 10^7 zreplikovaných párov báz. DNA polymeráza katalyzuje syntézu DNA, ale jej funkciou je aj následná oprava vzniknutých chýb. Pred pridaním nového nukleotidu do polynukleotidového reťazca DNA polymeráza skontroluje, či sa predchádzajúci nukleotid správne páruje s nukleotidom templátu. Ak áno, pridáva ďalší nukleotid a ak nie, DNA polymeráza sama odstráni chybný nukleotid rozštiepením fosfodiesterovej väzby a pridá správny nukleotid. Mechanizmy opráv DNA, ktoré opravujú chyby vznikajúce počas replikácie DNA, aj keď sa DNA nereplikuje, je však oveľa viac.

8.1 Replikácia DNA u prokaryotov

Replikácia kruhového prokaryotického chromozómu začína spravidla **len na jednom mieste ori**. Na tomto mieste následne začína **rozpletanie dvojzávitnice DNA**, ktoré **pokračuje oboma smermi** – **vytvárajú sa** teda **dve replikačné vidlice**. Na začiatku replikačnej vidlice sa nachádza enzým helikáza, ktorý pokračuje v rozpletaní dvojzávitnice. Potom prichádza enzým primáza, ktorá syntetizuje primer a na jeho 3´ koniec pridáva DNA polymeráza nukleotid po nukleotide v smere 5´-3´ na princípe komplementarity podľa templátového vlákna. V prípade oboch replikačných vidlíc je jedno vznikajúce vlákno vedúce a druhé oneskorujúce. **Syntéza DNA sa ukončí, keď sa dve replikačné vidlice na kruhovej DNA stretnú** (Tortora a kol., 2016).

Na konci syntézy DNA vznikajú teda **dva kruhové chromozómy**, ktoré sú však prepletené (obr. 8.3). **Pomocou enzýmu topoizomerázy** sú tieto kruhové DNA rozštiepené a v miestach štiepenia zase spojené, čím **sa od seba oddelia**, začnú sa od seba vzďaľovať, až sú nakoniec nasmerované do dvoch dcérskych buniek (Karp, 2016).



Obr. 8.3. Replikácia prokaryotickej DNA uzavretej do kruhu

Modelová baktéria *Escherichia coli* má tri DNA polymerázy:

- DNA polymeráza I – opravuje poškodenú DNA, tiež odstraňuje a nahrádza primery na oneskorenom vlákne pri replikácií DNA.
- DNA polymeráza II – opravuje poškodenú DNA.
- DNA polymeráza III – predstavuje hlavný replikačný enzým, ktorý má za úlohu pridávanie jednotlivých nukleotidov.

DNA polymerázy majú aj exonukleázovú aktivitu, teda sú schopné odstrániť chybne naviazaný nukleotid a následne na jeho miesto naviazať správny nukleotid komplementárny s templátovým vláknom (Karp, 2016).

Napriek tomu, že mechanizmus replikácie DNA je univerzálny a replikácia kruhového DNA genómu archeónov je analogická replikácii genómu baktérií, enzýmy, ktoré DNA replikáciu realizujú alebo sa na nej podieľajú, nie sú spravidla u baktérií a archeónov evolučne príbuzné. Niektoré replikačné proteíny archeónov (napr. zahrnuté v iniciácii replikácie alebo PCNA proteín) sú však fylogeneticky príbuzné eukaryotickým replikačným proteínom, čo dokazuje vzájomnú bližšiu evolučnú príbuznosť archeónov a eukaryotov.

DNA polymerázy hypertermofilných archeónov a baktérií, ktoré sú odolné voči vysokým teplotám, sa využívajú pri replikácií DNA *in vitro* (PCR – polymerázová reťazcová reakcia). Niektoré kroky PCR reakcie totiž prebiehajú pri teplote nad 90°C (Alberty, 2011).

8.2 Replikácia DNA u eukaryotov

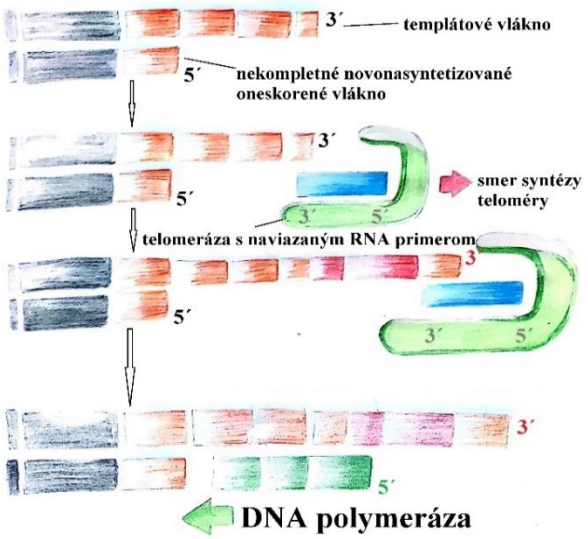
Replikácia eukaryotických lineárnych chromozómov prebieha **v S-fáze** (syntetická fáza) **bunkového cyklu**. Eukaryotické chromozómy sú zvyčajne pomerne dlhé a **každý chromozóm má niekoľko počiatkov replikácie** (Karp, 2016).

Enzýmový komplex, ktorý rozoznáva počiatky replikácie sa na ne naviaže, čím sa iniciuje syntéza DNA. **Na každom chromozóme** môžeme **počas replikácie** pozorovať **niekoľko** tzv. **„replikačných bublín“** z oboch strán ohraničených replikačnými vidlicami. Replikácia DNA je tak ako u prokaryotov semikonzervatívna a semidiskontinuálna – v rámci každej replikačnej vidlice je jedno vlákno vedúce a druhé oneskorené (syntetizované vo forme Okazakiho fragmentov). Replikácia DNA je ukončená v tom momente, keď sa stretnú všetky susedné replikačné vidlice v rámci každého jedného chromozómu a dosyntetizujú sa **koncové časti lineárnych chromozómov – teloméry** (viď nižšie).

U eukaryotov sa stretávame s niekoľkými druhmi DNA polymeráz, napr.:

- DNA polymeráza α – podieľa sa na replikácií chromozómov, tiež na syntéze Okazakiho fragmentov. Predlžuje polynukleotidový reťazec v smere 5´-3´.
- DNA polymeráza β – jej úlohou je oprava poškodenej DNA.
- DNA polymeráza δ – replikuje DNA väčšiny genómu, má 3´-5´ exonukleázovú aktivitu.
- DNA polymeráza ε – replikuje DNA, má 3´-5´ exonukleázovú aktivitu (Ringo, 2010).

V prípade eukaryotických lineárnych chromozómov sa vyskytuje **problém s replikáciou ich koncov**, ktoré nemôžu byť replikované normálnou replikačnou mašinériou kvôli tomu, že obidve vlákna DNA sú po odstránení RNA primeru na 5´ konci nekompletné. **Tento problém** však **rieši** ribonukleoproteínový komplex – **telomeráza** (obr. 8.4).



Obr. 8.4. Replikácia telomér pomocou telomerázy. *RNA podjednotka telomerázy je na obr. naznačená modrou a proteínová bledozelenou farbou.*

Telomeráza je **komplex tvorený RNA a proteínovou podjednotkou** (obr. 8.4). Tento komplex je **zodpovedný za dokončenie replikácie koncov lineárnych eukaryotických chromozómov**. **RNA podjednotka obsahuje telomerické sekvencie, ktoré sa nachádzajú na koncoch eukaryotických chromozómov v mnohonásobných opakovaniach** (tzv. teloméry). **Telomeráza** sa naviaže na 3´ prečnievajúci koniec na základe komplementarity báz svojej RNA podjednotky, kde **dosyntetizuje sekvenciu DNA nukleotidov podľa templátu svojej RNA** (RNA primer). Prepisuje teda RNA sekvenciu do DNA (porušuje centrálnu dogmu molekulovej biológie), čiže ide o **reverznú transkriptázu** (podobne ako u retrovírusov, napr. HIV) (Karp, 2016). **Telomeráza** takto **predlžuje 3´ konce lineárnych chromozómov** a **následne môže DNA polymeráza v smere 5´-3´ dosyntetizovať komplementárny reťazec** (obr. 8.4). Bez tohto mechanizmu by sa eukaryotické lineárne chromozómy v každom replikačnom cykle o niečo skrátili. Aktivita telomerázy však klesá v starých eukaryotických bunkách.

Literatúra

ALBERTS a kol. 2007. Molecular biology of the cell. 5th edition. New York: Taylor & Francis Group.

ALBERTY, R. 2011. Fundamental genetics, skrátené slovenské vydanie. 1. vyd. Banská Bystrica: Fakulta prírodných vied, Univerzita Mateja Bela, Banská Bystrica.

KARP, G. 2016. Cell and molecular biology: Concepts and experiments. 8th edition. Hoboken: John Wiley.

OTOVÁ, B. – MIHÁLOVÁ, R. 2012. Základy biologie a genetiky človeka. Praha: Karlova univerzita.

TORTORA, G. J. – FUNKE, B. R. – CASE, C. L. 2016. Microbiology: An introduction. 12th edition. Pearson.

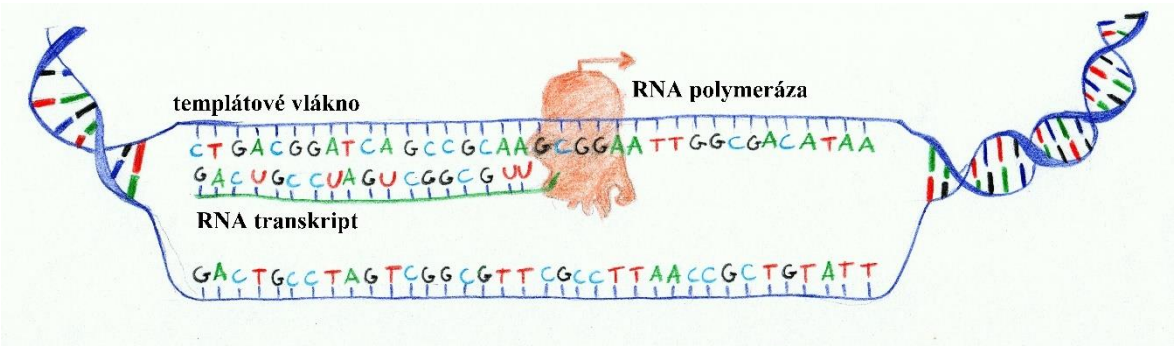
9 EXPRESIA GÉNOV U PROKARYOTOV A EUKARYOTOV

Katarína Majkútová, Matej Vesteg

Pod pojmom **expresia génov** rozumieme **realizáciu genetickej informácie**. **Gény najčastejšie kódujú proteíny, niektoré** však **kódujú funkčné RNA** (napr. tRNA a rRNA), ktoré sa neprekladajú do proteínov, ale si plnia svoju funkciu na úrovni RNA. **Gény kódujúce proteíny** sa najprv musia **prepísať** (transkribovať) **do mRNA** a až **následne sú mRNA prekladané** (translatované) **do sekvencií proteínov pomocou ribozómov**. **Súčasťou ribozómov** sú práve aj funkčné **rRNA** a **pre proces translácie (proteosyntézy)** sú **nevyhnutné** aj funkčné **tRNA**. Okrem transkripcie a translácie **pod expresiu génov zahrňujeme aj úpravu primárnych transkriptov**. **rRNA a tRNA** sú po ich prepise u všetkých organizmov ďalej upravované – **niektoré bázy sú chemicky modifikované**. Tieto modifikácie sú kritické pre ich správnu funkciu. **U eukaryotov úprava primárnych transkriptov zahrňuje** napr. **vystrihovanie nekódujúcich častí (intrónov), spájanie kódujúcich častí (exónov) a úpravy 5´ a 3´ koncov mRNA**. Až takého maturované mRNA môžu byť importované von z jadra a translatované. **Expresiu génov možno regulovať v ktoromkoľvek kroku** v závislosti od signálov z vnútra bunky či signálov z vonkajšieho prostredia.

9.1 Transkripcia

Pod pojmom **transkripcia** rozumieme **prepis genetickej informácie z DNA do jednovláknovej RNA – transkriptu** (obr. 9.1). Do určitej miery je to podobný proces ako replikácia – teda vlákno DNA slúži ako templát pre syntézu vlákna RNA a jednotlivé nukleotidy sú zaraďované do vznikajúceho RNA reťazca na základe princípu komplementarity. Rozdiel je v párovaní priraďovaných báz počas syntézy DNA a RNA. Počas replikácie DNA sa k adenínu (A) priraďuje komplementárny tymín (T), pričom počas syntézy RNA sa k adenínu (A) priraďuje uracil (U). Ďalším rozdielom je, že pri replikácií DNA slúžia ako templát obidve vlákna, pričom **pri transkripcii slúži ako templát len jedno** vlákno, ktoré má orientáciu **3´-5´** a nazýva sa **templátové vlákno**. **Podľa neho sa syntetizuje v smere 5´-3´ komplementárne vlákno RNA**. Transkripciu katalyzuje malá skupina pomerne veľkých enzýmov, z ktorých má najdôležitejšiu úlohu **DNA-závislá RNA-polymeráza** (Otová a Mihálová, 2012).



Obr. 9.1. Transkripcia – prepis genetickej informácie z DNA do RNA

Transkripciou vznikajú všetky typy RNA, ale **schopnosť podliehať translácii** (prekladu genetickej informácie do proteínov) má **len mediátorová RNA (mRNA)**. **Ostatné RNA** nazývame aj **nekódujúce** alebo **funkčné RNA**. Tieto nie sú rozpoznávané ribozómom, nie sú translatované a vykonávajú svoju funkciu na úrovni RNA molekúl.

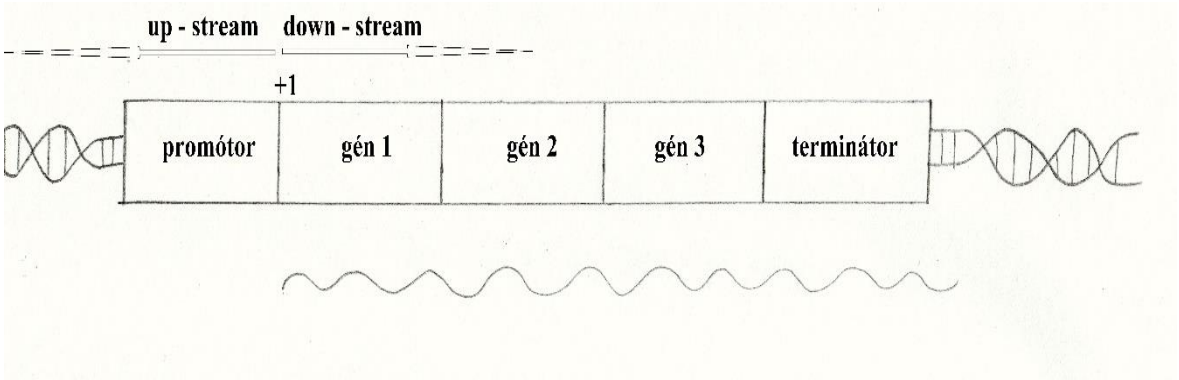
Ribozómová RNA (rRNA) tvorí **kostru ribozómov**, **na ktorých je mRNA prekladaná do proteínov**. **Transferová RNA (tRNA) prináša správne aminokyseliny k ribozómom pri translácií mRNA** a umiestňuje ich do rastúceho aminokyselinového reťazca. Zatiaľ čo sú molekuly DNA zvyčajne pomerne veľké a nesú informácie pre stovky až desať tisíce rôznych proteínov, molekuly RNA sú oveľa kratšie a obsahujú len malú časť informácie kódovanej genomickou DNA (Alberts a kol., 2007).

Pri formovaní RNA reťazca dochádza k vytvoreniu väzby medzi α-fosfátom nukleotidtrifosfátu a 3´-kyslíkom rastúceho polynukleotidového reťazca. Syntéza RNA vlákna prebieha rovnako ako replikácia v smere 5´-3´ postupným pridávaním nukleotidov.

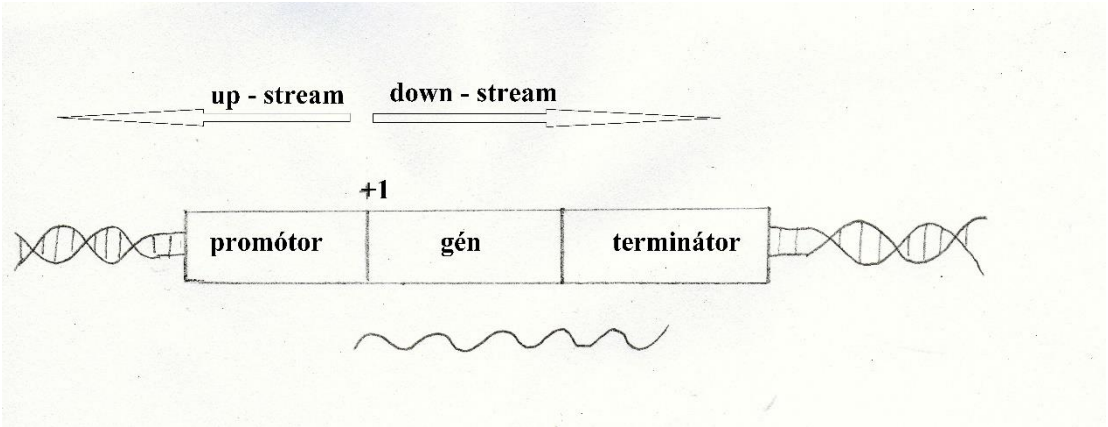
Pred začiatkom transkripcie musí RNA polymeráza presne rozpoznať počiatok transkripcie a naviazať sa na toto miesto. **Promótor je sekvencia DNA, za ktorou alebo v rámci ktorej sa nachádza štartovacie miesto transkripcie (+1 nukleotid)**. **Nukleotidy proti smeru transkripcie** od tohto miesta (upstream) **sa označujú záporne** (-1...-35...). Nukleotid s označením 0 (nula) neexistuje. **Nukleotidy za nukleotidom +1 v smere transkripcie** (downstream) **sú označované kladne** (+2...+10...) (Watson, 2013). **Sekvencia**, ktorá slúži ako **signál pre koniec transkripcie**, sa nazýva **terminátor**. **Ukončenie transkripcie** označujeme ako **terminácia transkripcie**.

Podľa toho, koľko proteínov mRNA kóduje, poznáme:

- **polycistronickú mRNA – obsahuje informáciu pre syntézu viacerých proteínov**. S týmto typom mRNA sa stretávame spravidla **u prokaryotov**. **Súbory génov**, **ktoré kódujú polycistronickú mRNA, nazývame operóny**. Prepis všetkých génov operónu je regulovaný z jedného spoločného promótora (obr. 9.2.).
- **monocistronickú mRNA – obsahuje informáciu pre syntézu jedného proteínu**. S týmto typom mRNA sa stretávame u eukaryotov (obr. 9.3) (Karp, 2016).



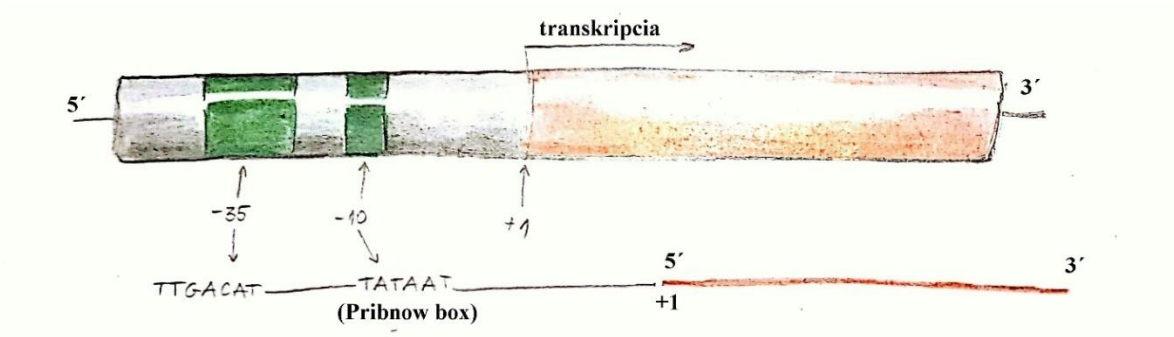
Obr. 9.2. Prokaryotické gény sú usporiadané do operónov, ktoré kódujú polycistronickú mRNA. *Prepis všetkých génov operónu je regulovaný len z jedného promotora. Prokaryotická polycistronická mRNA obsahuje teda informáciu pre syntézu viacerých proteínov zvyčajne jedinej metabolickej dráhy.*



Obr. 9.3. Typický eukaryotický gén kóduje monocistronickú mRNA, ktorá obsahuje informáciu pre syntézu jediného proteínu.

9.1.1 Trankripcia u prokaryotov

Transkripcia u pokaryotov prebieha v cytoplazme. Baktérie majú len jednu RNA polymerázu, ktorá má dve formy: holoenzým (celý kompletný enzymatický komplex), ktorý je potrebný na naviazanie a iniciačné kroky transkripcie a jadro enzýmu, ktoré katalyzuje samotnú transkripciu, ale samo o sebe ju nedokáže iniciovať. Za **rozpoznanie promótora** môže podjednotka RNA polymerázy. V prípade **baktérií** je to **často iniciačný sigma-faktor** (σ) a v prípade archeónov rôzne iné iniciačné faktory. **Promótor baktérií** (obr. 9.4) obsahuje zvyčajne relatívne ustálenú sekvenciu nukleotidov **TATAAT**, známu aj ako **Pribnow box**, ktorá sa nachádza približne **10 nukleotidov pred štartovacím miestom** (+1) (Karp, 2016). Akonáhle sa RNA polymeráza naviaže na promótor a nasyntetizuje cca 10 nukleotidov je sigma-faktor uvoľnený a RNA polymeráza môže pokračovať v syntéze RNA postupným pridávaním nukleotidov. Predlžovanie reťazca je ukončené po tom, ako RNA polymeráza narazí na tzv. terminátor, ktorý poruší väzbu medzi DNA a RNA polymerázou. Uvoľnená RNA polymeráza sa opäť spojí s iniciačným faktorom a môže znova prepisovať ten istý alebo iný gén (Lodish a kol., 2016).



Obr. 9.4. Typický promotor u baktérií

Promótor archeónov na rozdiel od baktérií zvyčajne obsahuje ustálenú sekvenciu nukleotidov TATAAAA (**TATA box**), ktorá sa nachádza približne **25 nukleotidov pred štartovacím nukleotidom transkripcie**. Podobný promótor je **bežný aj u eukaryotov**.

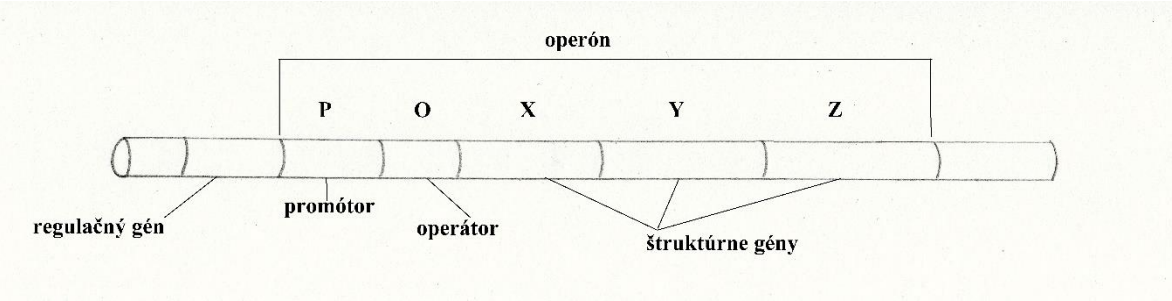
Ako **príklady terminácie transkripcie u baktérií** možno uviesť dva spôsoby:

- **RNA polymeráza sa uvoľní po narazení na RNA vlásenku** – špecifická sekvencia RNA bohatá na uracil, ktorá uvoľní vytvorenú RNA z komplexu DNA-RNA,
- **pomocou rho (ρ) faktoru**, proteínu, ktorý katylyzuje uvoľnenie RNA polymerázy z komplexu (Lodish a kol., 2016).

Gény prokaryotov sú **usporiadané do tzv. operónov**. **Operón** predstavuje **súbor génov**, ktoré zvyčajne **kódujú proteíny s nadväznými funkciami jedinej metabolickej dráhy** (napr. syntéza nejakej aminokyseliny). Syntéza polycistronickej mRNA (obsahujúcej viacero prepísaných génov za sebou) je zvyčajne u prokaryotov regulovaná z jednej regulačnej oblasti. Celkovo **sa** teda **operón** obyčajne **skladá** z (obr. 9.2. a 9.5):

- **promótora** (P) – viaže sa naň RNA polymeráza,
- **operátora** (O) – viaže sa naň regulačný proteín (resp. regulačné proteíny),
- **štruktúrnych génov** – kódujú viacero proteínov (Lodish a kol., 2016)
- prípadne aj **terminátora** (obr. 9.2 a 9.5).

Transkripciu operónu riadi regulačný proteín (alebo viac proteínov) z operátora (sekvencia DNA, na ktoré sa regulačné proteíny viažu). Regulačné proteíny sú zvyčajne kódované inými génmi (resp. operónmi) a nie operónom, ktorý regulujú. Operátor sa v niektorých prípadoch môže prekrývať s promotorom, prípadne aj prepisovanou oblasťou operónu.



9.5. Prokaryotický operón

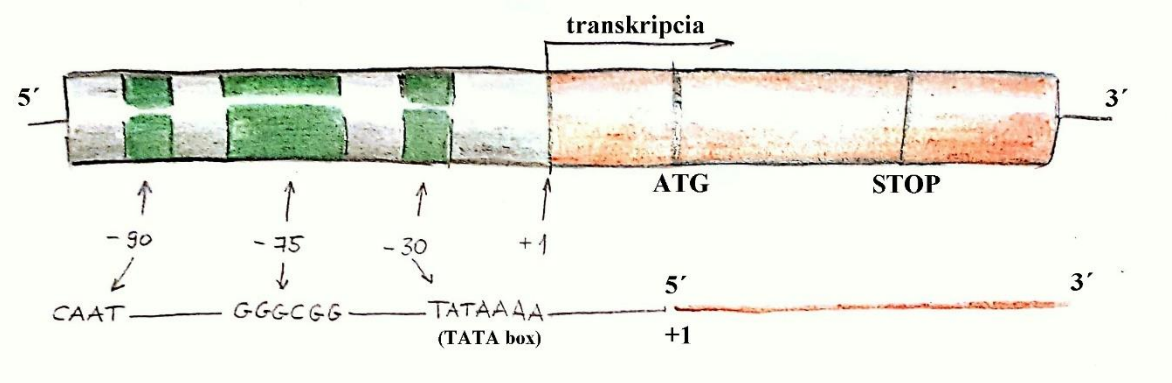
9.1.2 Transkripcia u eukaryotov a úprava ich primárnych transkriptov

Transkripcia väčšiny génov eukaryotov prebieha v jadre, hoci gény kódované mitochondriovými a chloroplastovými genómami sú prepisované v týchto organelách. Takmer všetky RNA kódované jadrovým genómom sú v jadre ďalej upravované a až následne transportované do cytoplazmy. Eukaryoty majú obyčajne minimálne **tri odlišné RNA polymerázy**, pričom každá v jadre transkribuje odlišný typ (odlišné typy) RNA:

- **RNA polymeráza I** – **syntetizuje väčšinu rRNA**,
- **RNA polymeráza II** – **syntetizuje pre-mRNA** (hnRNA) a väčšinu malých RNA (napr. spliceozómových malých jadrových snRNA),
- **RNA polymeráza III** – **syntetizuje** ostatné malé RNA, 5S rRNA a **tRNA**.

Veľký rozdiel medzi transkripciou u prokaryotov a eukaryotov spočíva **v účasti väčšieho počtu rôznych transkripčných faktorov na transkripcii u eukaryotov**. Rôzne faktory sú dôležité počas rôznych fáz priebehu transkripcie – od naviazania na promótor, cez iniciáciu, elongáciu reťazca až po jej termináciu. Procesy regulácie transkripcie sú v prípade eukaryotických génov podstatne zložitejšie ako u prokaryotov. Rôznych promótorov je veľa

typov a niektoré gény môžu regulovať aj sekvencie veľmi ďaleko pred génmi, prípadne aj za génmi alebo dokonca aj v intrónoch. Príklady niektorých typických promotorových sekvencií eukaryotov sú na obr. 9.6. TATA-box nachádzame často aj u archeónov.

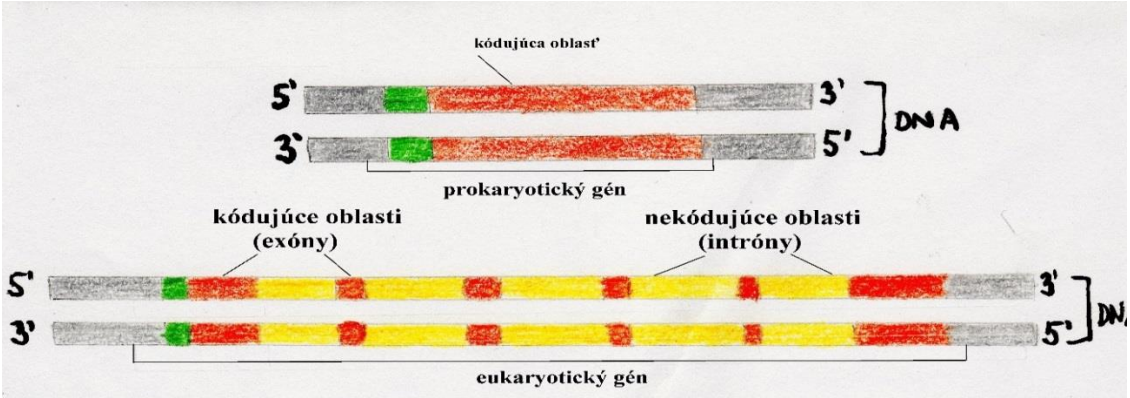


Obr. 9.6. Príklady niektorých promotorových sekvencií typických pre eukaryoty *(naľavo zelenou)*

Po prepise jadrových génov kódujúcich proteíny do tzv. hnRNA je táto následne v jadre upravovaná za vzniku maturovanej (zrelej) RNA (mRNA). **Primárne transkripty (hnRNA) podliehajú trom typom úprav:**

- **vystrihnutie nekódujúcich častí (intrónov) a spájanie kódujúcich častí (exónov)**,
- **pridávanie čiapočky (cap) na 5´ koniec**,
- **polyadenylácia 3´ konca** (pridanie polyA chvosta na 3´ koniec) (Alberts a kol., 2007).

Primárny transkript (hnRNA) jadrom kódovaných génov obsahuje obyčajne niekoľko tzv. intervenčných sekvencií – intrónov, ktoré sa už v maturovanej mRNA nenachádzajú. **Proces, počas ktorého sa vystrihujú intróny a spájajú exóny sa nazýva zostrih (splicing)** (obr. 9.7). Väčšina eukaryotických intrónov má na 5´ konci sekvenciu GU a na 3´ konci sekvenciu AG. Tieto sekvencie sú rozpoznávané **veľkým ribonukleoproteínovým (RNP) komplexom** nazývaným **spliceozóm**, ktorý **realizuje zostrih**. **Spliceozóm obsahuje päť** rôznych **katalytických malých jadrových RNA** (U1, U2, U4, U5 a U6 snRNA), na ktoré sa viažu špecifické proteíny. Zostrih vyžaduje hydrolýzu veľkého množstva ATP (Matera a Wang, 2014; Karp, 2016).

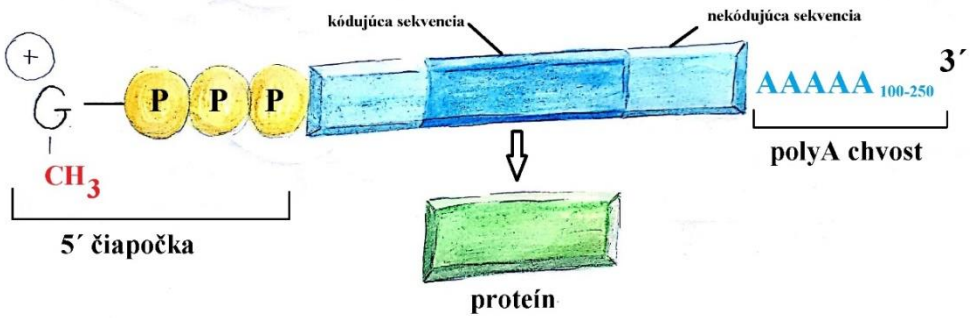


Obr. 9.7. Rozdiel v organizácii génov kódujúcich proteíny u prokaryotov a eukaryotov

Prokaryotické gény na rozdiel od eukaryotických **nikdy neobsahujú tento eukaryotický typ intrónov** (obr. 9.7). Prokaryoty nikdy neobsahujú vo svojich bunkách spliceozómy. Vo veľmi zriedkavých prípadoch však môžu niektoré gény niektorých baktérií obsahovať tzv. samovyštiepujúce sa intróny skupiny I a II, ktoré sú schopné v *in vitro* podmienkach katalyzovať svoj vlastný zostrih. Intróny skupiny I a II sú pomerne časté aj v chloroplastových a mitochondriových genómoch eukaryotov, v ktorých sa spliceozómové intróny taktiež nikdy nevyskytujú.

Maturácia mRNA taktiež zahŕňa **modifikáciu jej 5´ konca pomocou tzv. čiapočky – cap**. Na 5´ konci každej maturovanej mRNA je naviazaný 7-metylguanozín cez tri fosfátové skupiny v smere 5´ - 5´ (obr. 9.8). Táto čiapočka sa k transkriptu pridáva ešte pred ukončením procesu transkripcie (Lodish a kol., 2016). **Čiapočka** slúži ako **signál pre export mRNA z jadra do cytoplazmy** cez póry jadrovej membrány, v cytoplazme je rozpoznávaná ribozómom a **nevyhnutná pre transláciu mRNA**.

Ďalšou úprava eukaryotickej jadrovej mRNA je **polyadenylácia 3´ konca** – pridanie krátkej poly(A) sekvencie k 3´ koncu primárneho transkriptu (obr. 9.8). Táto úprava **chráni mRNA pred enzymatickou degradáciou** na jej 3´ konci a je tiež významná pri exporte mRNA z jadra do cytoplazmy. Enzým polyA-polymeráza pridáva k 3´ koncu primárneho transkriptu poly(A) chvost, ktorý je dlhý približne 100-250 báz (adenínov). Ako signál pre polyadenyláciu slúži sekvencia 10-30 báz pred koncom transkripcie – tzv. polyadenylačný signál (AAUAAA) (Karp, 2016).



Obr. 9.8. Maturovaná eukaryotická mRNA po pridaní 5´ čiapočky, vystrihnutí intrónov a 3´-polyadenylácii môže byť po transporte z jadra do cytoplazmy prekladaná do proteínov

9.2 Translácia

Pod pojmom **translácia** rozumieme **preklad genetickej informácie z mRNA do poradia aminokyselín v proteíne**. Transláciou sa vlastne genetická informácia zapísaná v jednom „jazyku“ (jazyk primárnej štruktúry nukleotidov) prekladá do iného „jazyka“ (jazyk primárnej štruktúry proteínov). **Translácia prebieha** u prokaryotov aj eukaryotov **v cytoplazme na ribozómoch** a prebieha podľa genetického kódu. **Genetický kód** je:

- **Tripletový – trojica nukleotidov (triplet, kodón)** v mRNA (resp. DNA) **kóduje príslušnú aminokyselinu**.
- **Jednoznačný – každý kodón kóduje len jednu aminokyselinu**.
- **Neprekrývajúci sa – susedné kodóny nemajú žiadny spoločný nukleozid**.

- **Degenerovaný** – **okrem dvoch aminokyselín** (metionínu a tryptofánu) **sú** všetky ostatné kódované **minimálne dvomi** (niekedy až šiestimi) **rozdielnymi kodónmi**.
- **Univerzálny** – až na malé výnimky je **rovnaký pre všetky organizmy**.

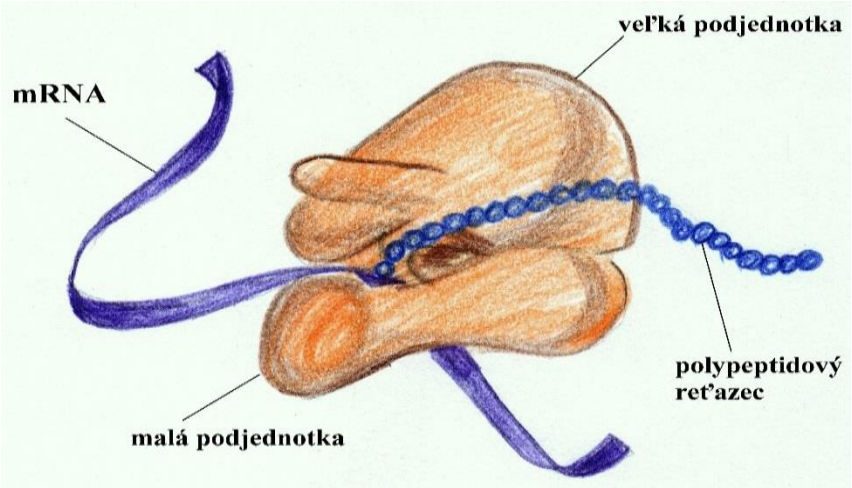
Schopnosť kódovať aminokyseliny sa označuje aj ako zmysel kodónu, avšak existujú **tri kodóny**, ktoré nedokážu nekódujú žiadnu aminokyselinu, ale majú signalizačnú funkciu – **určujú koniec translácie**. Tieto triplety **(UAA, UAG, UGA)** označujeme ako **„stop" kodóny**. Existuje aj kodón **AUG**, ktorý naopak **iniciuje transláciu**, ale taktiež **kóduje** aminokyselinu **metionín** (Otová a Mihálová, 2012). V niektorých zriedkavých prípadoch však môže byť translácia iniciovaná aj iným kodónom a stop kodón translatovaný ako niektorá z aminokyselín. V takýchto prípadoch hovoríme o tzv. odchýlkach od štandardného genetického kódu.

Pred začatím translácie sa musia **aminokyseliny aktivovať** – **naviazať sa na svoju** príslušnú **tRNA**, **pomocou príslušného enzýmu aminoacyl-tRNA syntetázy**. Tento proces vyžaduje dodanie energie hydrolýzou ATP. Aktivácia prebieha v dvoch krokoch:

- Aminokyselina + ATP → vzniká aminoacyl-AMP .
- Aminoacyl-AMP + tRNA → vzniká aminoacyl-tRNA.

Energia z hydrolýzy ATP sa využije na vytvorenie vysokoenergetickej väzby medzi tRNA a aminokyselinou a rozštiepením tejto väzby sa získaná energia využije na tvorbu peptidovej väzby medzi aminokyselinou a vynikajúcim polypeptidovým reťazcom. **Každá** aminokyselina má svoju vlastnú aminoacyl-tRNA syntetázu, ktorá zabezpečuje špecifitu naviazania aminokyseliny na príslušnú tRNA**. tRNA so svojou naviazanou aminokyselinou rozpoznáva svojím antikodónom (trojica báz komplementárna ku kodónu) príslušný kodón na mRNA naviazanej na ribozóm** (Lodish a kol., 2016).

Prokaryotické a eukaryotické **ribozómy** sa odlišujú vo veľkosti a zložení. Skladajú sa **z malej a veľkej podjednotky** (obr. 9.9). Pred začatím translácie sú podjednotky v cytoplazme od seba oddelené a po iniciácii translácie a naviazaní mRNA na malú podjednotku sa spájajú, zvyčajne v blízkosti jej 5´ konca mRNA. Ribozóm sa pohybuje po mRNA (resp. mRNA je ťahaná cez ribozóm), prekladá nukleotidovú sekvenciu do aminokyselinovej za účasti aminoacyl-tRNA, ktoré rozpoznávajú svojimi antikodónmi kodóny na mRNA. Po dosyntetizovaní proteínu sa obidve podjednotky ribozómov od seba opäť oddelia (Alberts a kol., 2007).

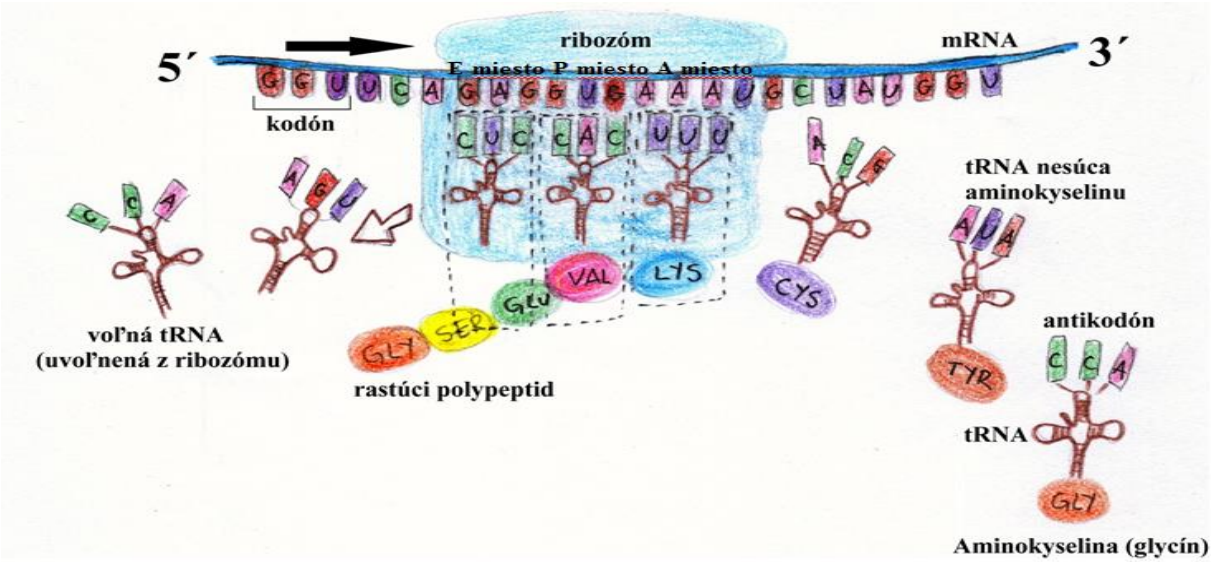


Obr. 9.9. Ribozóm

Na ribozóme môžeme nájsť **jedno väzbové miesto pre mRNA** a **tri rôzne väzbové miesta pre tRNA**:

- **A miesto (aminoacylové) – vstupuje doň tRNA s naviazanou aminokyselinou.**
- **P miesto (peptidylové)** – dochádza tu k **predlžovaniu polypetidového reťazca o jednu aminokyselinu** (k tvorbe peptidovej väzby medzi dvomi susednými aminokyselinami vo vznikajúcom proteíne),
- **E miesto (exit, výstupné)** – **tRNA**, ktorá už odovzdala aminokyselinu, **opúšťa ribozóm** na tomto mieste (Black a Black, 2014).

Iniciácia translácie zahŕňa **naviazanie mRNA a tRNA s iniciačnou aminokyselinou** (formyl-metionín u baktérií a metionín u archeónov a eukaryotov) **na malú podjednotku ribozómu**. K rozpoznaniu iniciačnej aminokyseliny pomáhajú tzv. iniciačné faktory (označované ako IF u baktérií a aIF a/alebo eIF u archeónov a eukaryotov). IF_1 a IF_3 v prípade baktérií pomáhajú mRNA naviazať sa na malú podjednotku ribozómu. Následne IF_2 pomáha iniciačnej tRNA sa svojím antikodónom párovať s iniciačným kodónom AUG, ktorý okrem toho kóduje aj aminokyselinu metionín. U baktérií (ale aj počas iniciácie translácie v mitochondriách a chloroplastoch) má iniciačný metionín na sebe naviazanú formylovú skupinu (translácia začína N-formylmetionínom). V prípade archeónov a eukaryotov začína translácia metionínom a iniciácie sa účastní viacero iniciačných faktorov ako v prípade baktérií. Po spojení veľkej a malej ribozomálnej podjednotky sa vytvorí veľký komplex, ktorý spôsobí konformačnú zmenu a uvoľní iniciačné faktory z ribozómu. Prvá aminokyselina formylmetionín v prípade baktérií aj metioním v prípade archeónov a eukaryotov sú väčšinou z polypeptidového reťazca odstránené špecifickým enzýmom (Karp, 2016).



Obr. 9.10. Elongácia translácie

Iniciačná tRNA sa po spárovaní s iniciačným kodónom nachádza v P mieste ribozómu, čím umožňujú vstup ďalšej aktivovanej aminoacyl-tRNA do A miesta. V tomto momente začína tzv. **elongácia translácie – predlžovanie polypeptidového reťazca** (obr. 9.10). Príslušná aminoacyl-tRNA je v A mieste v prípade baktérií asociovaná s elongačným faktorom EF-Tu (v prípade eukaryotov eEF-1) a s GTP. Keď sa antikodón tRNA spáruje s kodónom na mRNA, GTP sa hydrolyzuje a enzým peptidyltransferáza, ktorý je súčasťou veľkej podjednotky, katalyzuje tvorbu peptidovej väzby medzi karboxylovou

skupinou peptidyl-tRNA (tRNA nesúca vznikajúci peptid) v P mieste a aminoskupinou aminoacyl-tRNA v A mieste. Elongačný faktor EF-G (v prípade eukaryotov eEF-2) pomôže premiestniť deaktivovanú tRNA už bez naviazaného peptidu z P miesta do E miesta a zároveň premiestňuje aktivovaný peptidyl-tRNA z A miesta do P miesta, čím sa opäť uvoľní A miesto pre ďalšiu aktivovanú aminoacyl-tRNA. Neaktívna tRNA odchádza z ribozómu z E miesta a mRNA sa posúva o tri nukleotidy (Karp, 2016).

Terminácia translácie nastáva, keď **do miesta A vstúpi jeden zo „stop" kodónov** (UAA, UAG, UGA). **Translácia sa zastaví**, pretože s týmito kodónmi sa nepáruje žiadna tRNA (s výnimkou niektorých organizmov s odchýlkou od štandardného genetického kódu). Na ukončenie translácie sú potrebné uvoľňovacie faktory RF_1-RF_3 (u eukaryotov sa označujú ako eRF) a GTP. Tieto faktory vstúpia do A miesta a viažu sa na „stop" kodón. Hydrolýza GTP spôsobí uvoľnenie RF faktorov a tRNA viazanej s polypeptidovým reťazcom v mieste P. Polypetidový reťazec sa uvoľní z ribozómu a veľká a malá podjednotka ribozómu sa od seba oddelia (Karp, 2016).

9.2.1 Translácia u prokaryotov

U baktérií prebieha translácia ešte pred ukončením transkripcie polycistronickej mRNA. mRNA baktérií nemá na rozdiel od eukaryotov na svojom 5´ konci čiapočku, ktorá by ju naviedla na ribozóm. Namiesto toho majú baktérie obyčajne veľmi dôležitý **translačný signál**, tzv. **Shine-Dalgarnovu sekvenciu** (5'-AGGA-3'), ktorá je **umiestnená pred každým iniciačným kodónom každého génu v rámci polycistronickej mRNA vzniknutej transkripciou operónu**. Už počas transkripcie sa v cytoplazme naväzujú na Shine-Dalgarnove sekvencie ribozómy pomocou komplementárnej sekvencie (UCCU) na 16S rRNA**. mRNA baktérií** je tak väčšinou **asociovaná s mnohými ribozómami, ktoré začnú prekladať jednotlivé gény ešte pred termináciou transkripcie** (Alberts a kol., 2007).

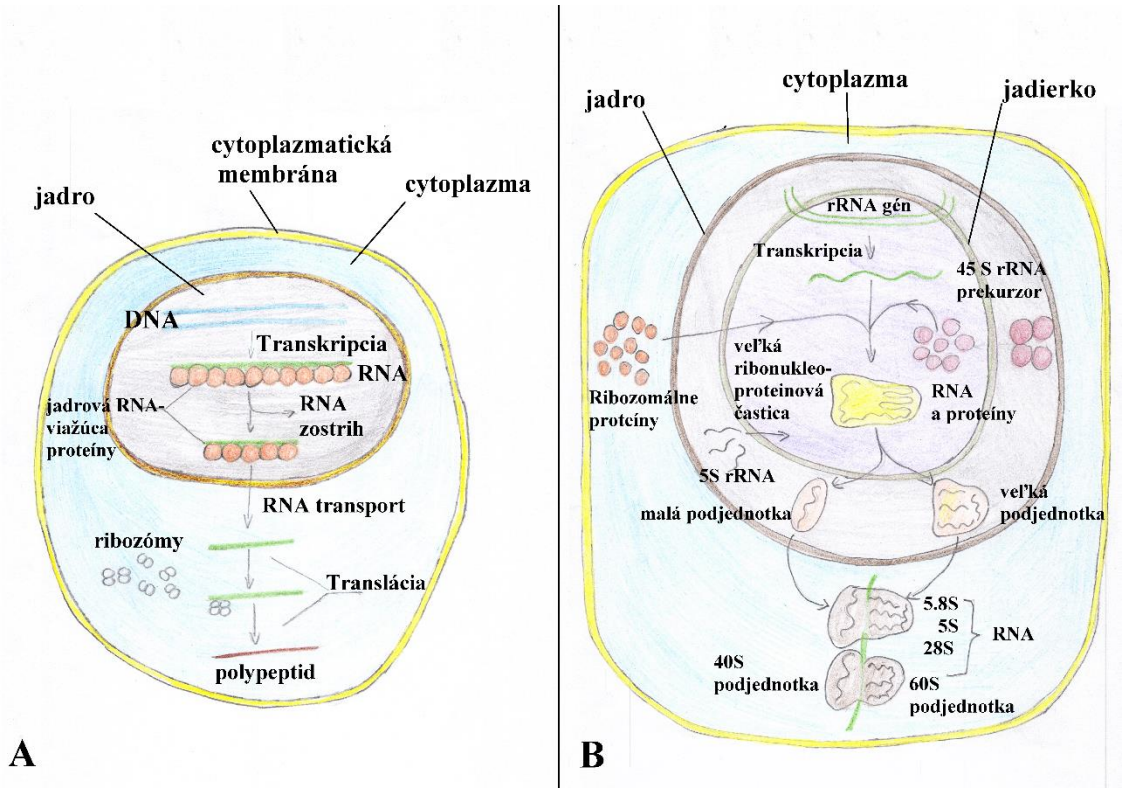
U archeónov je **mRNA** väčšinou tiež **polycistronická, neobsahuje čiapočku** a pomerne často sa u nich stretávame aj so sekvenciami s rovnakou funkciou ako má Shine-Dalgarnova sekvencia u baktérií. Väčšinou však ich polycistronické mRNA pred jednotlivými iniciačnými kodónmi takúto sekvenciu neobsahujú. Ukazuje sa, že archeóny majú viacero odlišných mechanizmov iniciácie translácie, ktoré nie sú zatiaľ dobre preštudované (Benelli a Londei, 2011). **Translácia u nich začína** spravidla **metionínom ako u eukaryotov a nie formyl-metionínom (ako u baktérií)**. Napriek tomu, že **celý proces génovej expresie archeónov pripomína viac baktérie ako eukaryoty, transkripčné aj translačné faktory archeónov sú príbuznejšie eukaryotom** ako baktériám a je ich viac ako u baktérií.

9.2.2 Maturácia ribozómov a translácia u eukaryotov

Translácia u eukaryotov je časovo aj priestoro aj priestorovo oddelená od transkripcie (obr. 9.11A). **Transkripcia rRNA, tRNA, hnRNA aj maturácia mRNA prebieha v jadre, pričom translácia prebieha v cytoplazme**. Aby mohlo dôjsť k translácii mRNA v cytoplazme, musia byť mRNA aj tRNA syntetizované v jadre transportované cez póry jadrovej membrány do cytoplazmy.

Špecifickým prípadom je **maturácia ribozómov** (obr. 9.11B). **Prekurzory rRNA** molekúl (pre-rRNA) sú **syntetizované v jadre v oblasti jadierka** a následne **enzymaticky štiepené a upravované** aj **za pomoci snoRNA** (malé jadierkové RNA, ktoré sú schopné

modifikovať nukleotidy, napr. U na pseudouridín). Až po takomto štiepení a úpravách vzniknú jednotlivé rRNA (18S, 28S a 5.8S), ktoré sa neskôr stanú súčasťou podjednotiek ribozómov. **Do jadra vstupujú ribozómové proteíny nasyntetizované v cytoplazme**. **V jadre sa poskladá hotová malá a veľká podjednotka ribozómov** a až celé **hotové ribozómové subjednotky vychádzajú cez jadrové póry von z jadra do cytoplazmy** (obr. 911B), kde môžu prekladať mRNA do proteínov.



Obr. 9.11. A: Eukaryotická expresia génov kódujúcich proteíny *(od génu k proteínu)*
B: Maturácia ribozómov u eukaryotov

Ribozómy eukaryotov (80S) sú zložené **z veľkej (60S) a malej (40S) podjednotky**, ale translácia je podobná translácii na prokaryotických ribozómoch (70S). Eukaryoty nemajú ekvivalentnú sekvenciu k Shine-Dalgarnovej sekvencii u baktérií. Namiesto toho je iniciačná tRNA s naviazaným metionínom pripojená k malej podjednotke ribozómu za pomoci iniciačných faktorov eIF. Po jej naviazaní sa **malá podjednotka viaže na 5´ koniec mRNA**, ktorý **je rozpoznaný podľa čiapočky na 5´ konci mRNA** a začne sa pohybovať pozdĺž mRNA v smere 5´-3´ a **hľadať iniciačný kodón AUG**. Keď ho nájde, podjednotky sa spoja a uvoľnia iniciačné faktory a môže dôjsť k predlžovaniu (elongácii) polypeptidového reťazca (Lodish a kol., 2016).

Ribozómy sa nachádzajú u eukaryotov **voľne v cytoplazme**, ale tiež aj **naviazané na drsnej forme ER**. Na ribozómoch, ktoré sú uložené **voľne v cytoplazme** prebieha **syntéza proteínov potrebných v cytoplazme alebo mitochondriách**. **Na ribozómoch naviazaných na ER** sa syntetizujú **proteíny, ktoré musia byť modifikované v ER a/alebo GA** (napr. glykoproteíny) a/alebo **proteíny, ktoré putujú do ďalších organel** (napr. ER, GA alebo lyzozómy) alebo **proteíny určené na sekréciu von z bunky** (exocytózou). Tieto proteíny sú už počas syntézy na ribozómoch viazaných na ER importované do ER (tzv. kotranslačný import proteínov do ER).

Často dochádza k situácii, že na jednej mRNA je naviazaných niekoľko ribozómov, ktoré nazývame polyribozómy (polyzómy). Polyzómy značne urýchľujú proces translácie (Black a Black, 2014).

Literatúra

ALBERTS a kol. 2007. Molecular biology of the cell. 5th edition. New York: Taylor & Francis Group.

BENELLI, D. – LONDEI, P. 2011. Translation initiation in Archaea: conserved and domain-specific features. Biochem Soc Trans 39, 89-93.

BLACK, J. G. – BLACK, L. J. 2014. Microbiology: principles and explorations. 9th edition. John Wiley & Sons.

KARP, G. 2016. Cell and molecular biology: Concepts and experiments. 8th edition. Hoboken: John Wiley.

LODISH, L. a kol. 2016. Molecular cell biology. 8th edition. Macmillan Learning.

MATERA, A. G. – WANG, Z. 2014. A day in the life of the spliceosome. Nat Rev Mol Cell Biol 15, 108-121.

OTOVÁ, B. – MIHÁLOVÁ, R. 2012. Základy biologie a genetiky človeka. Praha: Karlova univerzita.

WATSON, J. D. 2013. Molecular biology of the gene. 7th edition. Pearson Education.

10 SPÔSOBY VÝŽIVY MIKROORGANIZMOV

Simona Kobušová, Matej Vesteg

Všetky živé organizmy majú určité základné nutričné požiadavky. Potrebujú zdroje uhlíka, dusíka a energie a iné základné rastové faktory (minerály a niektoré aj vitamíny). Mikroorganizmy sa vo svojich výživových požiadavkách veľmi líšia. Podľa spôsobu výživy rozlišujeme autotrofné a heterotrofné mikroorganizmy.

10.1 Autotrofia

Zdrojom uhlíka autotrofných organizmov je **CO_2** a zdrojom dusíka sú väčšinou amónne soli, dusičnany alebo dusitany. Autotrofné organizmy si sami dokážu syntetizovať zložitejšie organické látky z jednoduchších anorganických látok.

Podľa spôsobu získavania energie sa delia na fototrofné a chemoautotrofné mikroorganizmy.

10.1.1 Fototrofia

Najrozšírenejšou formou autotrofie je fotoautotrofia (fototrofia). Pri tomto procese je **slnečná svetelná energia** využívaná v procese **fotosyntézy** zvyčajne na **produkciu glukózy z vody a oxidu uhličitého**. Ako **odpadový produkt** vzniká počas fotosyntézy **O_2**. Medzi fotoautotrofné organizmy patria jednobunkové a mnohobunkové eukaryotické riasy, suchozemské rastliny a prokaryotické sinice obsahujúce chlorofyl *a*. V prípade fotosyntetických eukaryotov prebieha fotosyntéza v chloroplastoch. V prípade prokaryotických siníc sú enzýmy potrebné pre fotosyntézu lokalizované najmä v tylakoidoch (deriváty vnútornej membrány siníc a chloroplastov) a v ich cytoplazme. Existujú aj fotosyntetizujúce zelené a purporové sírne baktérie obsahujúce bakteriochlorofyl, ktoré však neprodukujú O_2. Známe sú aj fototrofné archeóny ako napr. skupina Halobacteria obývajúce prostredia s vysokou koncentráciou solí, ktoré obsahujú v membráne svetlocitlivú protónovú pumpu bakteriorhodopsín. Protónový gradient, ktorý vytvára bakteriorodopsín s využitím slnečnej energie, využívajú na syntézu ATP.

10.1.2 Chemoautotrofia

Podstatou chemoautotrofie je **získavanie energie** oxidačno-redukčnými chemickými reakciami spojenými s **premenou anorganických látok na iné**. Chemoautotrofné mikroorganizmy **syntetizujú všetky organické zlúčeniny z CO_2**. Na rozdiel od fototrofov však nevyužívajú svetelnú energiu. Do tejto skupiny sa zaraďujú niektoré baktérie žijúce v pôde ako sírne baktérie oxidujúce síru, siričitany alebo sírany, baktérie oxidujúce vodík na vodu a baktérie oxidujúce metán na oxid uhličitý a vodu (Rosypal, 1998). Iné mikroorganizmy majú naopak schopnosť redukovať rôzne anorganické zlúčeniny na iné. Oxidácia a redukcia rôznych látok sú často komplementárne procesy, pričom oxidáciu a

redukciu zabezpečujú iné skupiny mikrorganizmov. Rôzne chemoautotrofné organizmy sa významnou mierou podieľajú na kolobehu biogénnych, prípadne aj iných prvkov v prírode (napr. cyklus dusíka, síry, železa a pod., viď kapitola 12). Väčšina chemoautotrofných mikroorganizmov sú baktérie a archeóny žijúce v extrémnych podmienkach. Bližšie budú rôzne formy chemoautotrofie rozobraté v kapitole 12.

10.2 Heterotrofia

Heterotrofné mikroorganizmy nevedia fixovať vzdušný CO_2 a **zdrojom uhlíka** sú pre ne **organické zlúčeniny uhlíka**. Zdrojom dusíka môžu byť aminokyseliny, bielkoviny, amónne soli, dusičnany a iné dusíkaté látky. Niektoré baktérie (napr. *Azotobacter* sp.) fixujú atmosférický dusík. Väčšina známych heterotrofných mikroorganizmov je **aeróbnych** (využívajú O_2 ako konečný akceptor elektrónov počas oxidatívnej fosforylácie), iné sú **fakultatívne anaeróbne** (vedia získavať energiu aj bez prítomnosti O_2) a niektoré sú striktne **anaeróbne** (získavať energiu len bez prítomnosti O_2).

S týmto spôsobom výživy sa stretávame u väčšiny baktérií, protistov, živočíchov a húb. Heterotrofné baktérie sa prirodzene nachádzajú v tele človeka a zvierat. Niektoré sú pre zvieratá a človeka zdraviu prospešné, iné môžu spôsobovať rôzne ochorenia.

Identifikácia heterotrofných baktérií je užitočná pri posudzovaní kvality pitnej vody v skladovacích nádržiach a vo vodnej sieti. Koncentrácie heterotrofných baktérií v pitnej vode sa môžu pohybovať od menej ako 1 KTJ/ml (KTJ = kolónie tvoriaca jednotka, angl. CFU – colony forming unit) do viac ako 10000 KTJ/ml, čo závisí od teploty vody, množstva chlóru a absorbovateľného organického materiálu. Vo vodnom distribučnom systéme je maximálna prípustná hladina heterotrofných baktérií 500 KTJ/ml (Amanidaz a kol., 2015).

10.2.1 Osmotrofia

Typickou formou heterotrofie je v prípade prokaryotických a eukaryotických mikroorganizmov osmotrofia. Osmotrofia je **prijímanie** poväčšine **jednoduchých organických aj anorganických látok z prostredia** mikroorganizmami prostredníctvom **osmózy** cez semipermeabilnú plazmatickú membránu. Mikroorganizmy sú schopné osmózou prijímať látky ako napr. etanol, monosacharidy a disacharidy, ktoré využívajú ako zdroj uhlíka alebo látky, ktoré si nevedia syntetizovať (napr. vitamíny, aminokyseliny, vyššie mastné kyseliny, puríny a pyrimidíny).

10.2.2 Fagotrofia

Ďalšou formou heterotrofie, ktorá sa pomerne často vyskytuje **u eukaryotických** (nikdy však nie u prokaryotických) **mikroorganizmov** je **fagocytóza – požieranie celých buniek iných mikroorganizmov**.

Schopnosť fagocytózy majú mnohé prvoky, stretávame sa s ňou však aj u niektorých vysokošpecializovaných buniek mnohobunkových eukaryotov, napr. niektoré bunky bielych krviniek imunitného systému cicavcov zodpovedné za požieranie patogénnych baktérií a vlastných odumierajúcich buniek (resp. ich častí) (Rosales a Uribe-Querol, 2017).

Fagocytóza spočíva v rozpoznaní a uzatvorení mikroorganizmov, prípadne len ich častí do vezikuly derivovanej z plazmatickej membrány. Táto vezikula uzatvárajúca požitú

mikrobiálnu korisť sa nazýva fagozóm. Fagozómy potom splývajú s lyzozómami obsahujúcimi tráviace enzýmy, ktoré korisť rozložia.

Fagocytóza je vlastne vylepšenou formou **endocytózy**, procesu, pri ktorom **sú pomocou endocytických vezikúl prijímané z prostredia rôzne látky**. Pokiaľ sú látky endocyticky prijímané vo forme roztoku, ide o tzv. pinocytózu. **Myzocytóza**, s ktorou sa stretávame napr. u skupiny Dinoflagellata, je zase modifikáciou fagocytózy, pri ktorej korisť nepreniká do bunky predátora celá, ale **z koristi je len vysávaná cytoplazma**.

10.3 Mixotrofia

Mixotrofia je spôsobom, pri ktorom sú organizmy schopné **kombinovať autotrofný a heterotrofný spôsob výživy**, čím využívajú rôzne zdroje uhlíka a energie (Johnson, 2014). Je rozšírená v mnohých skupinách prokaryotov a protistov, napr. u skupín Haptophyta, Cryptophyta, Dinoflagellata alebo Euglenida.

V prípade protistov mixotrofia obyčajne zahŕňa kombináciu fotosyntézy a niektorého z heterotrofných spôsobov výživy (osmózy, endocytózy, fagocytózy alebo myzocytózy). V prípade prokaryotov zahŕňa napr. kombináciu chemoautotrofie a heterotrofie. Mixotrofné eukaryotické organizmy sa medzi sebou líšia pomerným využívaním fotosyntézy a heterotrofie. Niektoré majú permanentne svoje vlastné plastidy, ale sú schopné sa vyživovať aj fagotrofne (napr. *Rapaza viridis* zo skupiny Euglenida) alebo osmotrofne (napr. *Euglena gracilis*). Iné eukaryoty sú primárne heterotrofné, ale príležitostne prejdú aj na autotrofný spôsob života, zvyčajne v dôsledku autotrofných symbiontov alebo tzv. kleptochloroplastov (ukradnutých chloroplastov – kleptoplastov), ktoré získali po požití iných fototrofných organizmov (Matantseva a Skarlato, 2013).

Literatúra

AMNIDAZ, N. – ZAFARZADEH, A. – MAHHVI, A. H. 2015. The interaction between heterotrophic bacteria and coliform, fecal coliform, fecal streptococci bacteria in the water supply networks. Iran J Public Health 44, 1685-1692.

JOHNSON, M. D. 2014. Inducible mixotrophy in the dinoflagellate *Prorocentrum minimum*. J Eucaryot Microbiol 62, 431-443.

MATANTSEVA, O. V. – SKARLATO, S. O. 2013. Mixotrophy in microorganisms: ecological and cytophysiological aspects. Zhurnal Evolyutsionnoi Biokhimii i Fiziologii 49, 377-388.

ROSALES, C. – URIBE-QUEROL, E. 2017. Phagocytosis: A fundamental process in immunity. Biomed Res Int 2017, 9042851.

ROSYPAL, S. a kol. 1998. Přehled biologie. 2. vyd. Praha: Scientia.

11 NAJZNÁMEJŠIE METABOLICKÉ DRÁHY MIKROORGANIZMOV

Simona Kobušová, Matej Vesteg

Biochemické reakcie prebiehajúce v organizmoch označujeme ako metabolizmus. Metabolické dráhy možno rozdeliť na katabolické a anabolické. **Katabolické** dráhy sú **degradačné** (rozkladné), exergonické, uvoľňuje sa pri nich energia. **Anabolické** dráhy sú **syntetické** (skladné), endergonické, energia sa pri nich spotrebúva (resp. vyžadujú energiu).

Väčšina biochemických reakcií spojených so spotrebou energie využíva ako **zdroj energie** molekulu **ATP** (adenozíntrifosfát). ATP je teda hlavnou chemickou energeticky bohatou molekulou v bunkách. U prokaryotických aj eukaryotických mikroorganizmov je spôsob, akým syntetizujú ATP, mimoriadne variabilný v závislosti od ich spôsobu života a výživy, ktoré sú dané ich genetickou výbavou. U prokaryotov aj eukaryotov vzniká malé množstvo ATP pri tzv. anaeróbne glykolýze v cytosole, no najväčšia časť ATP je v prípade aeróbnych organizmov vytváraná v procese aeróbnej respirácie (oxidatívnej fosforylácie), ktorá prebieha u eukaryotov v mitochondriách. Kritickú úlohu v tomto procese zohráva vnútorná membrána mitochondrií, kde sú lokalizované enzýmy potrebné pre tento proces. Podobné deje však prebiehajú aj na cytoplazmatickej membráne aeróbnych baktérií. Mnoho organizmov je však anaeróbnych a väčšinu ATP syntetizujú celkom iným spôsobom (viď kapitoly 10 a 12).

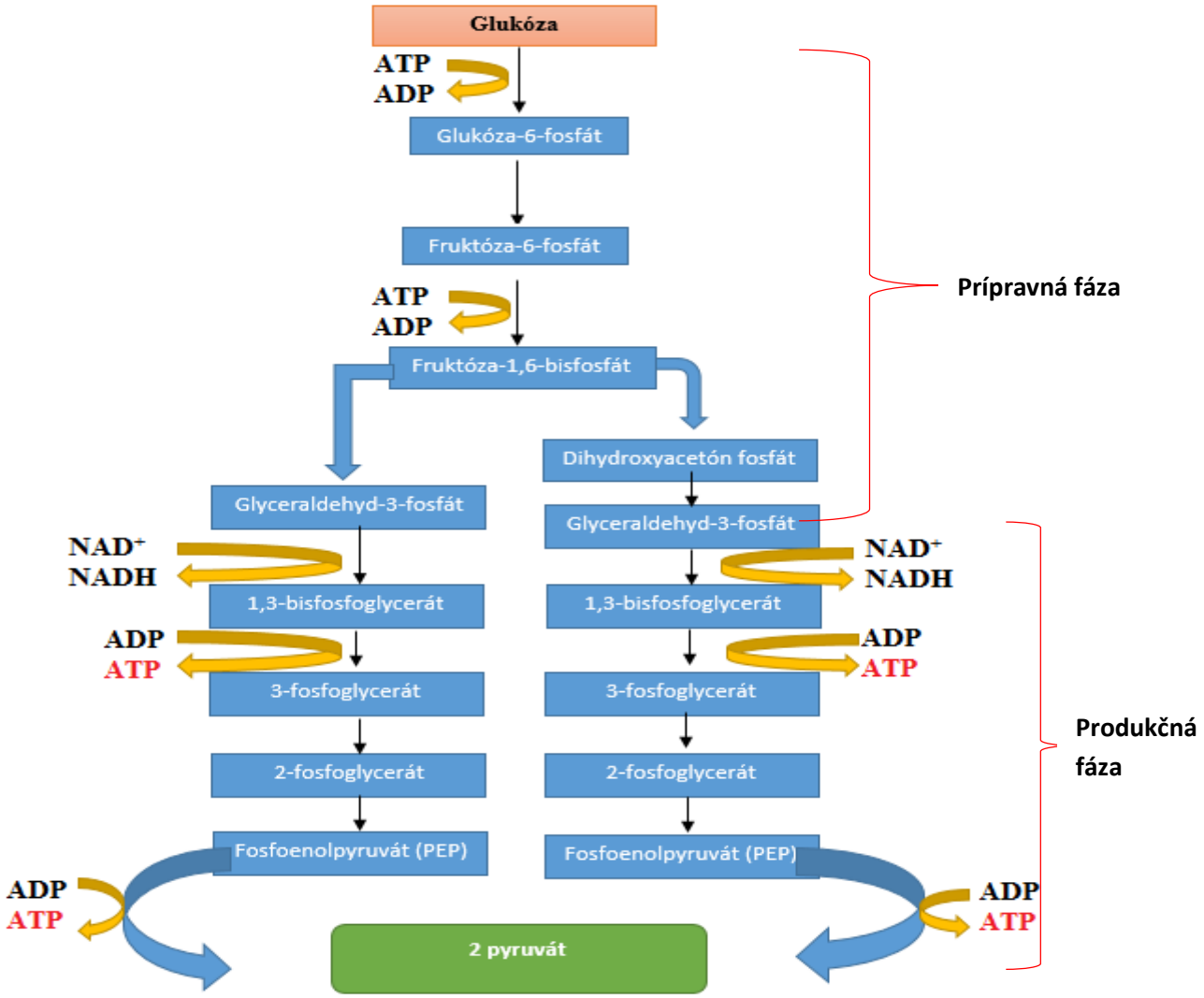
11.1 Anaeróbna glykolýza

Glukóza je šesťuhlíkatý monosacharid, ktorý slúži ako základný zdroj energie v bunkách rastlín, húb, zvierat ako aj mnohých mikroorganizmov. Jej rozklad obyčajne začína anaeróbnou glykolýzou a v prípade aeróbnych organizmov pokračuje citrátovým cyklom, pričom sa uvoľňuje do ovzdušia CO_2. Degradácia glukózy však môže prebiehať aj prostredníctvom pentózovej dráhy. Pri pentózovej dráhe sa degradáciou glukózy získava ribóza-5-fosfát potrebný pri syntéze nukleových kyselín a NADPH pre biosyntetické procesy.

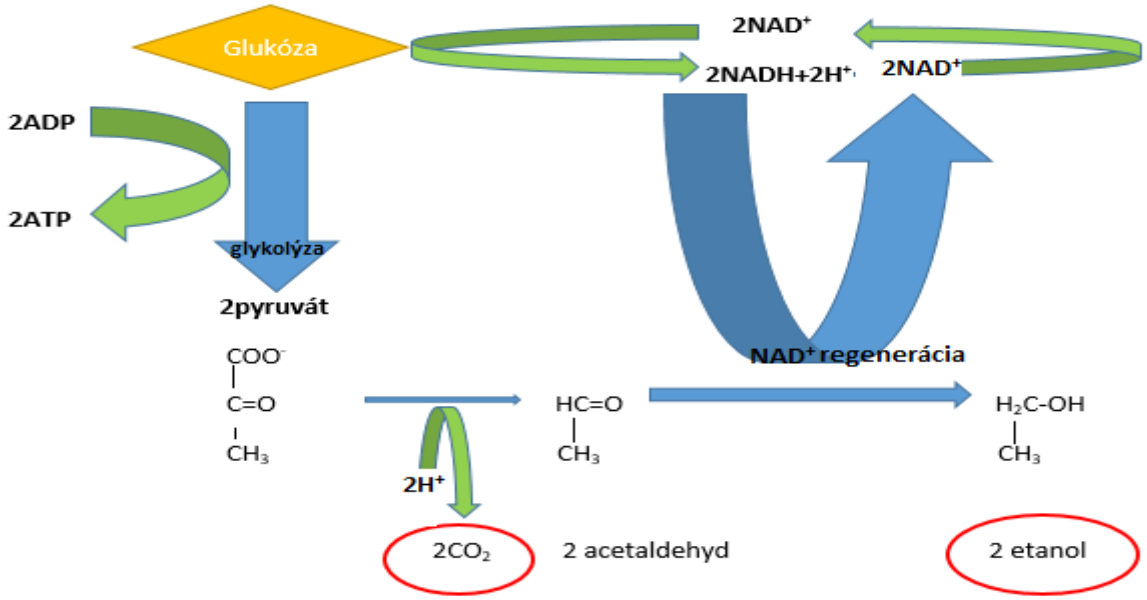
Anaeróbna glykolýza je základná metabolická dráha **rozkladu šesťuhlíkatej glukózy** na jednoduchšie zlúčeniny, obyčajne na **dve molekuly trojuhlíkatého pyruvátu** (kyselina pyrohroznová). Tento proces nevyžaduje kyslík (preto anaeróbna), ale prebieha aj v prítomnosti kyslíka. Najznámejšou formou glykolýzy je **Embden-Mayerhof-Parnasova dráha**, počas ktorej dochádza k vzniku **dvoch molekúl ATP** a **dvoch molekúl NADH** potrebných pre ďalšie anabolické procesy. **Enzýmy glykolýzy** sú lokalizované **u prokaryotov aj eukaryotov v cytoplazme** (Nelson a Cox, 2005). Mnohé anaeróbne mikroorganizmy sú úplne závislé na glykolýze, inak si energiu získavať nevedia.

Samotný proces Embden-Mayerhofovej-Parnasovej glykolýzy je zložený z desiatich reakcií. Prvých päť reakcií predstavuje tzv. **prípravnú fázu**, v ktorej sa **jedna molekula glukózy** premení **na dve molekuly glyceraldehyd-3-fosfátu za spotreby dvoch molekúl ATP**. Nasleduje päť ďalších reakcií, ktoré nazývame aj **produkčná fáza**, v ktorej sa obidve molekuly **glyceraldehyd-3-fosfátu premenia na pyruvát**. V produkčnej fáze vznikajú **štyri molekuly ATP** a **dve molekuly NADH** (obr. 11.1). Vzniknutý pyruvát sa môže ďalej metabolizovať. **V prípade anaeróbnych podmienok** môže nastať **etanolové kvasenie** (**vznik etanolu kvasinkami** *Saccharomyces cerevisiae*) (Obr. 11.2) alebo mliečne kvasenie sprostredkované mliečnymi baktériami (analogický vzniku laktátu v kostrovom svalstve pri

nedostatku kyslíka) (viď kapitola 18). V prípade aeróbnych podmienok nastane obyčajne **dekarboxylácia pyruvátu** za vzniku **acetyl-CoA** (acetyl koenzým A), ktorý vstupuje do **citrátového** (Krebsovho) **cyklu**. Krebsov cyklus prebieha v cytoplazme aeróbnych baktérií a mitochondriovej matrix aeróbnych eukaryotov. Počas glykolýzy a citrátového cyklu vzniká množstvo medziproduktov, ktoré sú prekurzormi pre syntézu aminokyselín, nukleotidov, lipidov a iných látok.



Obr. 11.1. Schéma anaeróbnej glykolýzy (Embden-Mayerhofova-Parnasova dráha). *V prvej (prípravnej) fáze dochádza za účasti enzýmov k premene jednej molekuly glukózy na dve molekuly glyceraldehyd-3-fosfátu. Táto fáza vyžaduje energiu vo forme dvoch molekúl ATP. V druhej produkčnej fáze sa dve molekuly glyceraldehyd-3-fosátu premenia na dve molekuly pyruvátu za vzniku dvoch molekúl NADH a štyroch molekúl ATP. Celkový energetický zisk glykolýzy teda predsavujú dve molekuly NADH a dve molekuly ATP. Ďalšie spracovanie pyruvátu môže prebiehať bez prístupu kyslíka (napr. mliečne alebo alkoholové kvasenie). V prípade aeróbnych organizmov vzniká z pyruvátu zvyčajne oxidačnou dekarboxyláciou acetyl-CoA, ktorý vstupuje ďalej do citrátového cyklu. Acetyl-CoA je medziproduktom rozkladu nielen sacharidov, ale aj lipidov.*



***Obr. 11.2. Alkoholové kvasenie (fermentácia) u kvasinky* Saccharomyces cerevisie**. *Počas tohto procesu sa za anaeróbnych podmienok dve molekuly pyruvátu, ktoré vznikli v procese glykolýzou, premenia na etanol, pričom sa uvoľňuje CO_2. Tento proces si vyžaduje dve NADH molekuly, ktoré vznikli glykolýzou. Dve NADH molekuly sa premenia na NAD+, ktorý je potrebný pre priebeh glykolýzy. Konečnými produktami glykolýzy spriahnutej s alkoholovým kvasením sú dve molekuly etanolu, dve molekuly CO_2 a dve molekuly ATP.*

Modelová baktéria *Escherichia coli* dokáže rásť na jednoduchom živnom médiu, ktoré obsahuje len glukózu a minerálne soli a dokáže vďaka nim syntetizovať všetky potrebné bunkové zložky. Glukóza sa metabolizuje Embden-Meyerhof-Parnasovou cestou (EMP) na pyruvát, ktorý sa oxidačne dekarboxyluje na acetyl-CoA a ten vstupuje do citrátového cyklu. Medziprodukty EMP a Krebsovho cyklu sa využívajú na biosyntézu rôznych organických látok. Veľmi podobným spôsobom dokážu využívať na syntézu rôznych látok medziprodukty EMP a citrátového cyklu aj eukaryoty. Glykolýza a citrátový cyklus sa preto označujú aj ako centrálne metabolické.

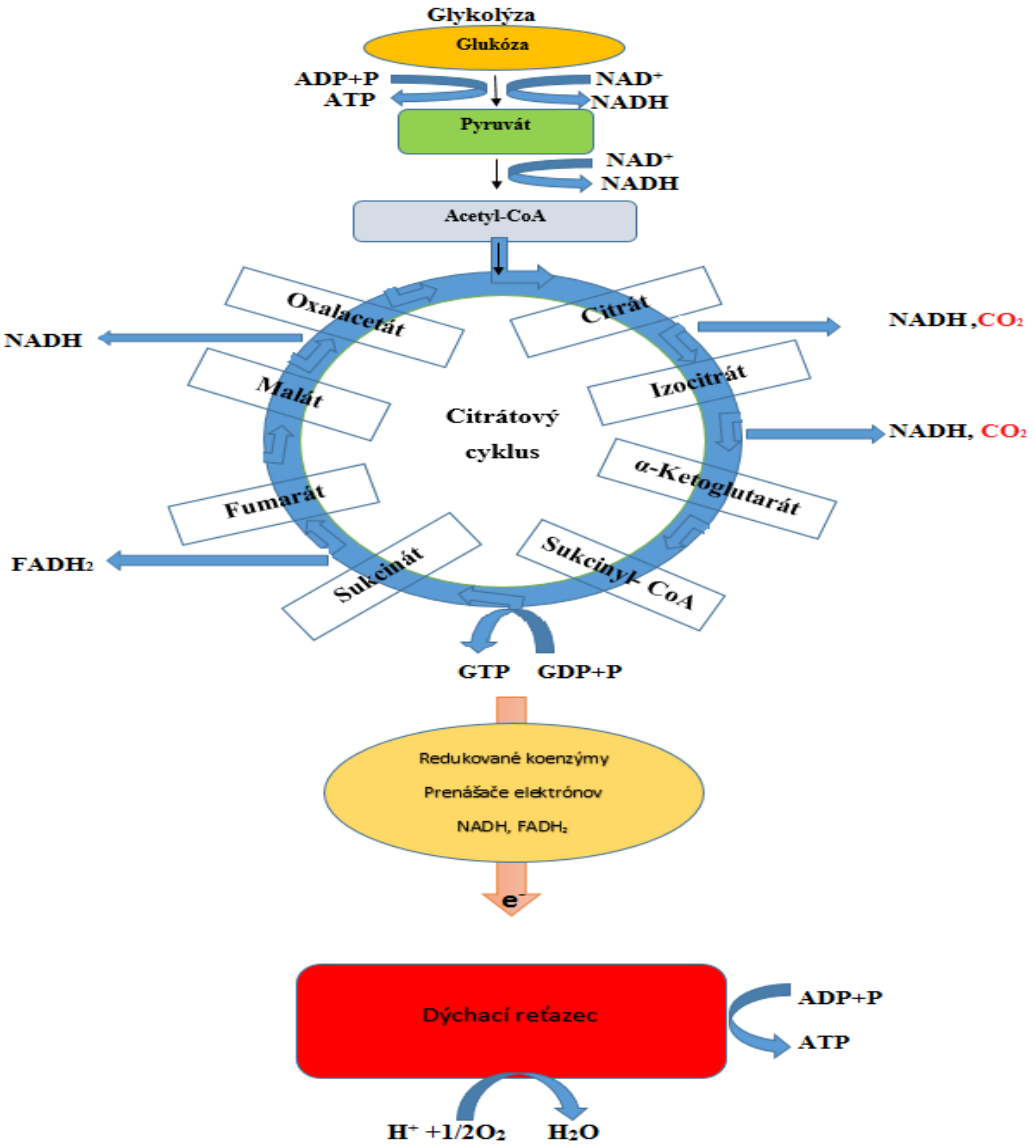
Hoci množstvo druhov prokaryotov využíva práve EMP glykolytickú dráhu, niektoré prokaryoty metabolizujú glukózu prostredníctvom iných dráh ako napr. dráha Entner-Doudoroffa (ED) a fosfoketolázová dráha (PK). Niektoré baktérie obsahujú gény pre EMP aj ED dráhu (napr. baktéria *E. coli* alebo termofilná baktéria *Thermotoga maritima*) (Selig a kol.,1997), iné zase napr. obsahujú gény pre EMP aj pre fosfoketolázovú dráhu (napr. baktéria *Bacillus subtilis*). Mnohé prokaryoty však obsahujú gény len pre jednu z týchto dráh. Modifikované cesty EMP a ED sa bežne vyskytujú aj u zástupcov domény Archaea. Termofilný archeón *Thermoproteus tenax* a halofilný archeón *Halococcus saccharolyticus* obsahujú modifikovanú EMP aj ED dráhu (Bräsen a kol., 2014 ; Kim a Gadd, 2008). Niektoré eukaryoty majú tiež schopnosť spracovávať glukózu aj ED dráhou.

11.2 Mitochondrie, aeróbne baktérie, Krebsov cyklus a oxidatívna fosforylácia

Mitochondrie sú bunkové organely obalené dvomi membránami, ktoré sa vyskytujú v bunkách všetkých eukaryotických organizmov (s výnimkou rodu *Monocercomonides* zo skupiny Excavata, ktorý tieto organely pravdepodobne sekundárne stratil). Sú to organely,

v ktorých sa u aeróbnych eukaryotov tvorí väčšia ATP. Anaeróbne prvoky však často obsahujú značne pozmenené anaeróbne mitochondrie (hydrogenozómy a mitozómy).

Mitochondrie vznikli z endosymbiotických aeróbnych α-proteobaktérií a procesy, ktoré v nich prebiehajú, prebiehajú zvyčajne aj u ostatných aeróbnych baktérií. **Citrátový** (Krebsov) **cyklus** prebieha **v matrix mitochondrií** aj **v cytoplazme aeróbnych baktérií**. Do Krebsovho cyklu vstupujú **dvojuhlíkaté acetylové skupiny z acetylCoA**, ktoré pochádzajú z dekarboxylovaného pyruvátu po rozklade glukózy glykolýzou alebo z rozkladu lipidov. Acetylová skupina sa v prvom kroku naviaže **na štvoruhlíkatý oxalacetát za vzniku šesťuhlíkatej kyseliny citrónovej** (citrát). V sérii ďalších siedmych biochemických reakcií je citrát premenený zase na oxalacetát pričom sa **vyprodukujú tri molekuly nosičov vysokoenergetických elektrónov NADH+H$^+$,** ale aj molekuly **FADH$_2$** a **GTP** a ako vedľajší produkt sa uvoľňujú **dve molekuly CO$_2$** (obr. 11.3).



Obr. 11.3. Citrátový (Krebsov) cyklus. *Acetyl-CoA vstupuje do citrátového cyklu, počas ktorého vznikajú dve molekuly CO$_2$, tri molekuly NADH, jedna molekula FADH$_2$ a jedna molekula GTP. Následne prebieha transport elektrónov z molekúl NADH a FADH$_2$ cez enzymatické komplexy dýchacieho reťazca a oxidatívna fosforylácia na vnútornej membráne mitochondrií (resp. cytoplazmatickej membráne aeróbnych baktérií).*

NADH je donorom vysokoenergetických elektrónov pre prenášače elektrónov dýchacieho reťazca (enzymatické komplexy I až IV), ktoré sa nachádzajú **vo vnútornej membráne mitochondrií** a **cytoplazmatickej membráne aeróbnych baktérií**. Molekuly NADH prechádzajú po uvoľnení elektrónov pre komplex I do NAD^+ formy. **Elektróny prechádzajú cez komplexy I-IV až k molekulovému O_2** (konečný akceptor elektrónov), pričom **sa O_2 mení na vodu** (spotrebúva sa O_2). Pri prechode elektrónov enzymatickými komplexami I až IV sa uvoľňuje energia, ktorá sa využíva na **pumpovanie protónov vodíka na vonkajšiu stranu vnútornej membrány mitochondrií** (resp. do periplazmatického priestoru medzi cytoplazmatickou membránou a bunkovou stenou aeróbnych baktérií). Tento **protónový gradient poháňa syntézu ATP** pomocou komplexu V (ATP-syntáza). ATP syntáza pripája fosfátovú skupina na molekulu ADP za vzniku ATP. Na syntézu ATP sa využije energiu prechodu protónov vodíka v smere koncentračného gradientu vytvoreného komplexami I-IV. Tento proces sa označuje ako **oxidatívna fosforylácia** (Alberts a kol., 1998).

Hlavný rozdiel medzi aeróbnymi baktériami a mitochondriami eukaryotov je v tom, že baktérie nepotrebujú membránové prenášače ATP a ADP (ATP/ADP translokázu), ktoré vymieňajú ATP z mitochondriovej matrix za ADP z eukaryotickej cytoplazmy.

11.3 Fotosyntéza

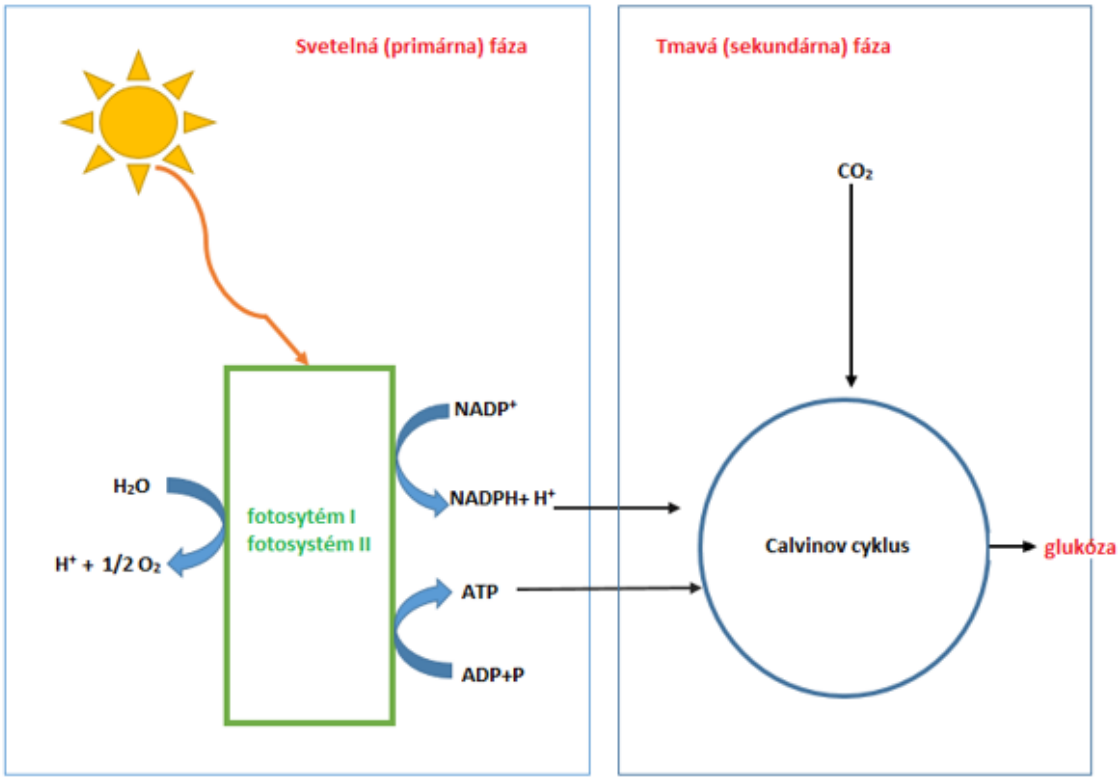
Fotosyntéza je jediný mechanizmus, pomocou ktorého je externý mimozemský abiotický zdroj energie (hviezda nazývaná slnko) využívaný živými organizmami. Fotosyntéza je zároveň aj **zdrojom O_2**, ktorý udržiava všetky aeróbne organizmy pri živote. Fotosyntéza je biochemický mechanizmus, pri ktorom sa **CO_2 začleňuje do** organických molekúl **glukózy**. Zachytená energia zo svetla sa ukladá do molekúl **ATP, NADPH** (nikotín amid dinukleotid fosfát) a glukózy, ktoré sú zdrojom energie pre ďalšie biochemické procesy. Fotosyntéza je primárnym zdrojom energie pre všetky ekosystémy na našej planéte okrem ekosystémov hlboko v moriach a v pôde, kam sa svetlo nedostane. Veľké spoločenstvo morských mikroorganizmov všeobecne označované ako fytoplanktón predstavuje najväčšiu fotosyntetickú populáciu organizmov na planéte (Moat a kol., 2003).

Fotosyntéza prebieha **u rastlín a rias v chloroplastoch** a **u fotosyntetických baktérií** (prevažne siníc) prebieha na ich **derivátoch cytoplazmatickej (vnútornej) membrány (tylakoidoch)** a **v cytoplazme**. Sinice obyčajne obsahujú iba chlorofyl *a* (len rod *Prochlorococcus* má aj chlorofyl *b*) a farbivá fykocyanín a fykoerytrín, pričom chloroplasty obsahujú chlorofyly *a* a *b* alebo *c*, kartenoidy, prípadne aj iné farbivá. Thylakoidy (deriváty vnútornej membrány siníc a chloroplastov) obsahujú vo svojej membráne obyčajne dva typy veľkých enzymatických komplexov – **fotosystém I (PSI)** a **fotosystém II (PSII)**, ktoré vedia zachytávať svetelnú energiu.

Sled reakcií prebiehajúci počas fotosyntézy rozdeľujeme na svetelnú a tmavú fázu. Svetelná fáza prebieha len za svetla, tmavá fáza nie je závislá od svetla, ale prebieha aj za svetla, aj v tme.

Svetelná fáza fotosyntézy zahŕňa **fotochemickú oxidáciu** molekúl **chlorofylu v dvoch fotosystémoch** prítomných v membránach tylakoidov. PSI má maximálnu aktivitu (resp. absorpciu) pri svetle s vlnovou dĺžkou 700 nm a PSII pri 680 nm (Kincl a Krpeš, 2006). Absorpcia svetla molekulami chlorofylu prítomnými vo fotosystémoch spôsobí, že je elektrón vypudený z reakčného centra fotosystémov. **Elektróny** putujú smerom **od PSII** cez ďalšie prenášače elektrónov feofytín, plastochinón, cytochróm b_6f a plastocyanín (prípadne

cytochróm c_6) až **k PSI**. Fotosystému PSI sú takto dopĺňané elektróny, ktorí z neho boli vypudené svetlom. Tento proces je sprevádzaný pumpovaním protónov do lumenu tylakoidov. Z fotosystému I prechádzajú vypudené elektróny cez ferredoxín až k $NADP^+$ reduktáze, ktorá premieňa $NADP^+$ na NADPH + H^+ (obr. 11.4). Elektróny sa do PSII dopĺňajú z tzv. **fotolýzy vody**, pri ktorej sa **uvoľňuje** aj **O_2** a protóny vodíka do lumenu tylakoidu. Fotolýzu vodu realizuje tzv. OEC komplex (oxygen evolving complex) obsahujúci mangán. **Protónový gradient**, vytvorený pumpovaním protónov do lumenu tylakoidu aj fotolýzou vody využije ATP syntáza (protónová pumpa v membráne tylakoidu) **na syntézu ATP na strane strómy chloroplastu** alebo **na cytoplazmatickej strane tylakoidovej membrány** v prípade **siníc**.



Obr. 11.4. Fázy fotosyntézy. *V svetelnej fáze fotosyntézy svetelná energia stimuluje transport elektrónov z fotosystémov PSI a PSII na ďalšie prenášače elektrónov. Tento proces je sprevádzaný vznikom protónového gradientu na membráne tylakoidov a sytézou molekúl NADPH a ATP, ktoré sú nevyhnutné pre tmavú fázu. Počas svetelnej fázy dochádza aj k rozkladu molekúl vody na protóny, elektróny a O_2 a uvoľňovaniu O_2 do atmosféry. V tmavej fáze, ktorá nevyžaduje svetelnú energiu, dochádza k syntéze sacharidov za spotreby CO_2 za účasti produktov svetelnej fázy ATP a NADPH. Cyklus tmavej fázy sa nazýva Calvinov cyklus.*

Tmavá fáza fotosyntézy priamo nevyžaduje svetelnú energiu a **v prítomnosti** dostatočného množstva **NADPH** a **ATP** môže prebiehať **aj v tme**. Tmavá fáza prebieha **v stróme chloroplastov** alebo **v cytoplazme siníc** (v tzv. karboxyzómoch). Významom tmavej fázy je hlavne **syntéza** sacharidov (najmä **glukózy**) **za spotreby CO_2** za účasti produktov vzniknutých v svetelnej fáze (ATP a NADPH) (obr. 11.4). Uskutočňuje sa prostredníctvom **Calvinovho cyklu**, ktorý sa skladá z troch fáz:

1. **Fixácia CO_2** – vzdušný CO_2 sa fixuje pomocou enzýmu ribulóza-1,5-bisfofát-karboxyláza (RuBisCo). Pri fixácii CO_2 sa päťuhlíkatá ribulóza-1-5-bisfosfát mení na dve molekuly trojuhlíkatého 3-fosfoglycerátu.
2. **Redukcia 3-fosfoglycerátu na glyceraldehyd-3-fosfát** – tohto procesu sa zúčastňujú molekuly ATP a NAPDH vyprodukované v svetelnej fáze, z glyceraldehyd-3-fosfátu sa následne spätými reakciami glykolýzy (glukoneogenéza) syntetizuje glukóza.
3. **Regenerácia akceptora CO_2 (ribulózy-1,5-bisfosfát)** – súborom reakcií ekvivalentným pentózovému cyklu (ktorý sa účastní metabolizmu sacharidov aj v cytoplazme heterotrofov) sa tvorí ribulóza-5-fosfát a z nej sa za účasti ATP tvorí ribulóza-1,5-bisfosfát, čím sa cyklus uzatvára.

Sumárna rovnica fotosyntézy: $\mathbf{6CO_2 + 12H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2}$

Literatúra

ALBERTS, B. a kol. 1998. Základy buněčné biologie. 1.vyd. Ústí nad Lábem: Espero Publishing.

BRÄSEN, C. a kol. 2014. Carbohydrate metabolism in Archaea: Current insights into unusual enzymes and pathways and their regulation. Microbiol Mol Biol Rev 78, 89-175.

KIM, B. H. – GADD, G. M. 2008. Bacterial physiology and metabolism. 1st edition. Cambridge: Cambridge University Press.

KINCL, M. – KRPEŠ, V. 2006. Základy fyziologie rostlin. 3. vyd. Ostrava: Prírodovedecká fakulta, Ostravská univerzita.

MOAT, A. G. – FOSTER, J. W. – SPECTOR, M. P. 2003. Microbial physiology. 4th edition. New York: John Willey & Sons.

NELSON, D. – COX, M. M. 2005. Lehninger priciples of biochemistry. 4th edition. New York: Freeman and Company.

SELIG, M. a kol. 1997. Comparative analysis of Embden-Meyerhof and Entner-Doudoroff glycolytic pathways in hyperthermophilic archaea and the bacterium *Thermotoga*. Arch Microbiol 167, 217-232.

12 ÚLOHA MIKROORGANIZMOV V KOLOBEHU LÁTOK V PRÍRODE

Simona Kobušová, Matej Vesteg

Pod pojmom biosféra sa v užšom slova zmysle chápe súbor všetkých živých organizmov na našej planéte. V širšom slova zmysle sa pojmom biosféra často rozumie celá ekosféra, teda súbor všetkých ekosystémov na Zemi. V tomto prípade sa pod biosféru zahŕňa aj geosféra, atmosféra a hydrosféra. Biosféra teda zahŕňa všetky živé organizmy na našej planéte, ich vzájomné vzťahy ako aj ich vzťahy k neživým zložkách ekosystémov. Vo všetkých ekosystémoch na Zemi ako aj z hľadiska globálneho fungovania celej biosféry majú svoju nenahraditeľnú úlohu mikroorganizmy.

Mikroorganizmy boli nájdené aj na najhlbšom mieste oceánov v Mariánskej priekope (cca 11000 m) (Takami a kol., 1997; Glud a kol., 2013), aj desiatky kilometrov vysoko v atmosfére a na súši ich výskyt zasahuje možno až do hĺbky 20 km. Mikroorganizmy sú prítomné od trópov až po tie najchladnejšie polárne oblasti, v rastlinách, v živočíchoch aj v iných mikroorganizmoch a dokážu prežiť aj v extrémnych podmienkach (viac ako 100 °C, extrémne sucho, nízke pH, vysoké koncentrácie solí a pod.). Človek sa s nimi stretne už pri narodení a po smrti sa postarajú o rozklad tiel živočíchov, rastlín, húb, rias ale aj iných mikroorganizmov až na jednoduché organické (napr. pôdny humus) a minerálne látky. Bez ich činnosti by sa postupne v prírode množili odumreté telá živočíchov, húb, rastlín, rias a iných mikróbov. Rozkladnou činnosťou mikróby zvyšujú úrodnosť pôdy a vo vode mnohé z nich zohrávajú významnú úlohu v procese samočistenia vôd. Regulujú redoxný potenciál v pôdach a vodách, sú schopné viazať vzdušný dusík a uvoľňovať minerály z nerastov.

Rôzne živé organizmy uskutočňujú v biosfére množstvo chemických premien, ktoré sú súčasťou neprestajného kolobehu biogénnych prvkov v prostredí. Väčšina ekosystémov na našej planéte je primárne závislá od stáleho prísunu energie v podobe slnečného žiarenia. Fototrofné organizmy zabezpečujú premenu svetelnej energie na chemickú v procese fotosyntézy, kedy odčerpávajú CO_2 z prostredia, zabudovávajú uhlík do organických zlúčenín a uvoľňujú O_2 do prostredia. Riasy a sinice žijúce v moriach a oceánoch a suchozemské rastliny sú hlavnými primárnymi producentmi organickej hmoty na našej planéte. Fotosyntetizujúce organizmy sú zase zdrojom živín a O_2 pre heterotrofné organizmy. O_2 sa do buniek heterotrofov dostáva prevažne dýchaním a ostatné biogénne prvky prevažne v podobe organických látok.

V procese rozkladu organizmov za účasti mikroorganizmov sa do atmosféry uvoľňuje až 90% celkového CO_2 prítomného v atmosfére a zvyšných 10% pochádza z dýchania a horenia. Premena organických látok prírodného pôvodu na látky anorganické je súčasťou kolobehu prvkov v prírode. Cyklická premena (kolobeh prvkov) v prírode je úplne nevyhnutná pre existenciu života na Zemi.

12.1 Kolobeh kyslíka

Kolobeh kyslíka je úzko spojený s cyklickým obehom uhlíka a vodíka. V atmosfére sa nachádza ako molekulový kyslík O_2 a zaberá približne 21%. Istá časť kyslíka je však viazaná aj v oxide uhličitom, vo vodných parách a ozóne. **Hlavným zdrojom O_2 v atmosfére** je **fotosyntéza** morských, ale aj sladkovodných a suchozemských **fototrofných organizmov**.

V malej miere sa okrem fotosyntézy do atmosféry dostáva kyslík aj fotodisociáciou vody (rozkladom vody pôsobením svetla).

Hoci niektoré (anaeróbne) mikroorganizmy O_2 k svojmu životu vôbec nepotrebujú, **kyslík** je **nevyhnutný pre život** všetkých **aeróbnych baktérií a eukaryotov**, vrátane makroskopických eukaryotov (napr. rastliny a živočíchy). **O_2 spotrebúvajú** aeróbne baktérie a mitochondrie aeróbnych eukaryotov počas procesu bunkového dýchania **v procese oxidatívnej fosforylácie**, ktorá je hlavným zdrojom produkcie energie vo forme ATP pre tieto organizmy. O_2 počas nej slúži ako konečný akceptor elektrónov a protónov vodíka, pričom sa premieňa na vodu. **Počas Krebsovho cyklu** prebiehajúceho v cytoplazme aeróbnych baktérií a v matrix mitochondrií aeróbnych eukaryotov navyše dochádza k **uvoľňovaniu CO_2 do atmosféry** a ten z nej môže byť odstránený takmer výhradne iba fotosyntetickými organizmami, ktoré navyše O_2 produkujú (Reinhard a kol., 2016).

Zaujímavosťou je, že suchozemské rastliny nepatria medzi úplne najvýznamnejších producentov kyslíka na Zemi. Dažďový prales vyprodukuje približne len toľko kyslíka, ktorý celý ekosystém aj spotrebuje na dýchanie. Ak však dažďový prales vypálime úplne, spotrebuje sa pri tom veľké množstvo kyslíka, ktorý už nebude naspäť pralesom vyprodukovaný a zároveň väčšina biomasy pralesa zhorí až na CO_2, ktorý je jednou z hlavných príčin postupného globálneho otepľovania na Zemi. Význam dažďových pralesov spočíva z hľadiska globálneho fungovania ekosystémov najmä v tom, že v sebe fixujú obrovské množstvo uhlíka, ktorý by sa inak nachádzal v atmosfére vo forme CO_2. Vypálením dažďových pralesov dôjde taktiež k rapídnemu poklesu biodiverzity na našej planéte. Mnohé medicínsky, farmaceuticky, environmentálne alebo biotechnologicky zaujímavé druhy zahubíme skôr, ako sme ich stihli objaviť.

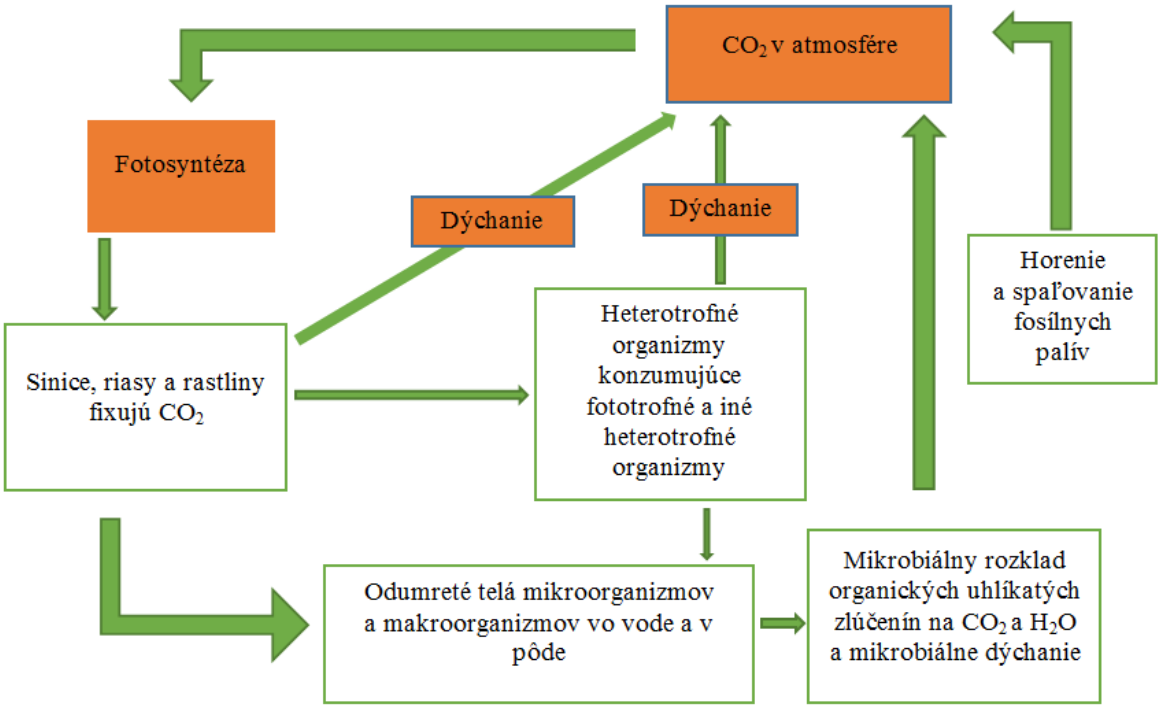
Najvýznamnejšími nadproducentami kyslíka, ktorí vyprodukujú viac kyslíka, ako sami spotrebujú, sú najmä **fotosyntetickí morskí mikroskopickí zástupcovia** (morský fytoplanktón). Medzi najhojnejšie zastúpené fotosyntetické skupiny v moriach patria prokaryotické cyanobaktérie (sinice), eukaryotické mikroskopické zelené a červené riasy, ale hlavne mikroskopické riasy s tzv. sekundárnymi chloroplastami, ktorých chloroplasty vznikli sekundárnou endosymbiózou z červených rias – rozsievky (Bacillariophyceae), panciernatky (Dinophyta, Dinozoa) a skupina Haptophyta. Haptophyta však okrem toho, že produkujú O_2 a CO_2 spotrebúvajú počas fotosyntézy, CO_2 aj uvoľňujú počas procesu kalcifikácie ich schránok. Vplyvom globálneho otepľovania a narastajúceho znečistenia morí a oceánov môže byť viacero ekologicky významných zástupcov fytoplanktónu kriticky ohrozených.

12.2 Kolobeh uhlíka

Kolobeh uhlíka v biosfére úzko súvisí s kolobehom kyslíka a vodíka a zúčastňujú sa na ňom **všetky živé organizmy**. Objemová hmotnosť atmosférického CO_2 by mala byť v atmosfére približne konštantná vďaka rovnováhe medzi fotosyntézou, pri ktorej sa CO_2 z atmosféry fixuje do organickej hmoty a **rozkladom organickej hmoty a dýchaním**, pri ktorých **sa CO_2 do atmosféry uvoľňuje** (obr. 12.1). **Fotosyntetické sinice (cyanobaktérie), riasy a rastliny využívajú CO_2 na syntézu** organických látok (najmä **cukrov**), ktoré ďalej slúžia v potravinovom reťazci ako zdroj výživy pre heterotrofné mikroorganizmy, huby a živočíchy. CO_2 vzniká počas rozkladu odumretých organizmov a dýchania za spotreby O_2 a je potrebný pre tzv. tmavú fázu fotosyntézy (Calvinov cyklus).V súčasnosti sa však nadmerné množstvo **CO_2** uvoľňuje **do atmosféry spaľovaním fosílnych palív a vypaľovaní tropických dažďových pralesov**. Zdrojom uhlíka môže byť aj produkcia metánu činnosťou

niektorých anaeróbnych archeónov, ale aj ťažba a spracovávanie ropy a zemného plynu, pri ktorom uniká metán. Metán zase dokážu niektoré prokaryoty oxidovať na CO_2 a H_2O.

Všetky spomenuté neprirodzené antropogénne procesy spôsobujú narušenie prirodzenej rovnováhy medzi produkciou a fixáciou CO_2, v dôsledku čoho **koncentrácia CO_2 v atmosfére** pomaly plynulo **narastá**. Keďže CO_2 je **skleníkovým plynom**, nárast jeho koncentrácie v atmosfére výraznou mierou prispieva **ku globálnemu otepľovaniu**, ktoré môže viesť až k nenávratnej strate mnohých ekosystémov a ku globálnej ekologickej katastrofe. Oteplenie morí a oceánov môže mimo iného viesť aj k úhynu rias a siníc a k strate najvýznamnejších producentov O_2 na našej planéte.



Obr. 12.1. Kolobeh uhlíka v prírode

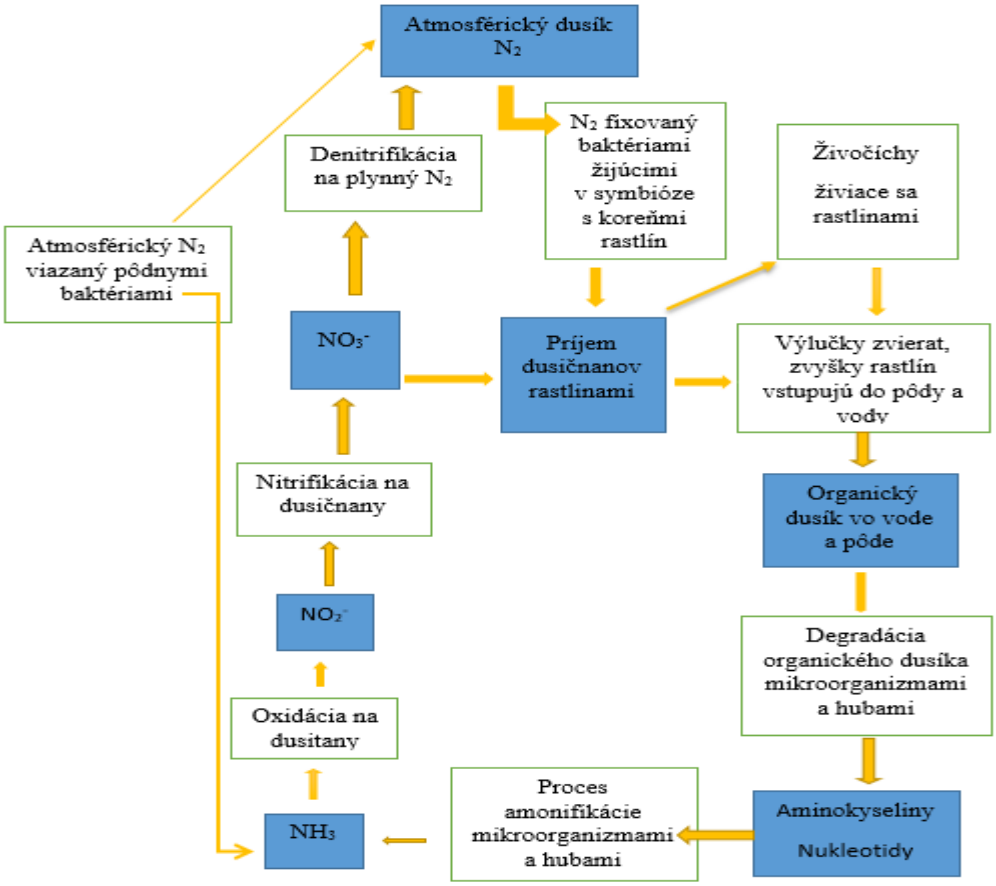
12.3 Kolobeh dusíka

Molekulový dusík (N_2) tvorí približne 78% zemskej atmosféry. Atómy dusíka v molekule $\mathbf{N_2}$ sú navzájom viazané trojitými kovalentnými väzbami, ktoré sú veľmi pevné a zodpovedajú tak za **inertnosť** (nezlúčivosť) tejto molekuly. Dusík je v takejto podobe **pre väčšinu organizmov nedostupnou formou**. Väčšina suchozemských rastlín, húb, živočíchov a mikroorganizmov vyžaduje dusík v iných formách ako napr. **amónne soli, dusičnany, aminokyseliny** alebo **bielkoviny**. Je však známych viacero druhov mikroorganizmov patriacich do domén Archaea a Bacteria (vrátane siníc), ktoré sú schopné fixovať vzdušný N_2 (Javoreková a Maková, 2012)

Na **fixácii vzdušného dusíka** majú významný podiel voľne žijúce baktérie a archeóny ako aj symbiotické baktérie. Medzi voľne žijúce heterotrofné baktériové rody viažuce vzdušný N_2 patria napr. *Azotobacter*, *Beijerinckia* a *Clostridium*. Fotosyntetické vláknité cyanobaktériové rody *Anabena* a *Nostoc* majú na fixáciu vzdušného N_2 v rámci svojich vláken vyvinuté aj špecializované bunky (heterocyty). Na symbiotickom viazaní dusíka sa zúčastňujú

baktérie rodu *Rhizobium*, ktoré žijú v symbióze s koreňmi bôbovitých rastlín (Fabaceaea) (Hudecová a Šimkovič, 2014).

Mikroorganizmy fixujúce vzdušný dusík ho **v procese amonifikácie premieňajú na amoniak** resp. amónne katióny. **Amónne katióny** produkujú aj mikroorganizmy a huby podieľajúce sa na **rozklade organických dusíkatých látok z odumretých organizmov** (obr. 12.2). V procese **nitritácie** sa **amoniak** (resp. amónne katióny) mení (menia) **na dusitany pomocou nitritačných baktérií** (napr. rod *Nitrosomonas*). **Dusitany** sú potom premieňané v procese **nitratácie na dusičnany** pomocou **nitratačných baktérií** (napr. rod *Nitrococcus*). Oba tieto procesy sú formami **chemoautotrofie**. Procesy **nitritácie a nitratácie** a premenu amoniaku na dusičnany súborne nazývame **nitrifikácia** a baktérie, ktoré ju realizujú, **nitrifikačné baktérie**. Dusík vo forme **dusičnanov** je potom znova dostupný **pre výživu rastlín**. Nitrifikačné baktérie majú vysokú metabolickú aktivitu, ich výskyt vo vode a v pôde je značný. Ďalšie chemoautotrofné (**denitrifikačné**) **baktérie** využívajú dusičnany ako akceptor vodíka a elektrónov (jedna z foriem anaeróbneho dýchania). Tým môže dôjsť k postupnej viackrokovej **redukcii dusičnanov** počas **denitrifikácie** až na molekulový **N_2**. Takto sa pôda ochudobňuje o dusík, ktorý ako inertný plyn uniká do atmosféry.



Obr. 12.2. Kolobeh dusíka v prírode. *Atmosférický N_2 fixujú baktérie žijúce v symbióze s koreňmi rastlín (najmä bôbovitých) ako napr. baktéria rodu* Rhizobium*, ale aj voľne žijúce pôdne baktérie ako napr. rody* Azotobacter *a* Clostridium*. Amoniak oxidujú na NO_2^- napr. baktérie rodu* Nitrosomonas *a tvorbu dusičnanov NO_3^- zabezpečujú napr. baktérie rodu* Nitrobacter*. Denitrifikáciu na plynný N_2 uskutočňujú napr. baktérie rodu* Pseudomonas*.*

12.4 Kolobeh síry

Síra sa vyskytuje na Zemi vo viacerých podobách, napr. ako **čistá síra** v zemskej kôre alebo vo forme **sulfátov** (napr. hornina ako pyrit FeS_2), ale aj vo forme **síranov** a **siričitanov**. Dôsledkom vulkanickej činnosti je síra v redukovanej podobe ako sírovodík **H_2S** prítomná v sírnych prameňoch, odkiaľ sa H_2S odparuje do atmosféry. Okrem vulkanickej činnosti je najväčšou zásobárňou síry oceán a pôda, v ktorých sa síra vyskytuje vo forme síranových aniónov. Do ekosystémov sa dostáva aj spaľovaním fosílnych palív. V atmosfére sa síra najčastejšie vyskytuje vo forme **SO_2**, ktorý je jedným z najväčších zdrojov kyslých dažďov.

Niektoré prokaryoty vedia získavať energiu za anaeróbnych podmienok tak, že **redukujú sírany** (prípadne aj iné oxidované zlúčeniny síry) až **na sírovodík** (Muyzer a Stams, 2008). Tento proces je **jednou z foriem anaeróbnej respirácie**, pretože terminálnym akceptorom elektrónov nie je kyslík, ale síranový anión (SO_4^{2-}), prípadne iné oxidované anióny síry (napr. $S_2O_4^{2-}$, $S_2O_3^{2-}$, $S_3O_6^{2-}$) alebo priamo síra (S_8). Jedným z najznámejších rodov spomedzi baktérií redukujúcich sírany je *Desulfovibrio*, ktorý patrí medzi δ-proteobaktérie. Príkladom archeóna redukujúceho sírany je termofilný rod *Archaeoglobus*. Niektoré prokaryoty redukujúce sírany vedia zároveň aj oxidovať metán.

Opačným biochemickým procesom je **oxidácia sírovodíka na síru**, prípadne až **na sírany**. Medzi najznámejšie rody chemoautotrofných (chemolitotrofné) baktérií, ktoré sú schopné oxidácie sírovodíka na síru a za určitých podmienok až na sírany patria *Beggiatoa* a *Thiobacillus* (Pokorna a Zabranska, 2015). Okrem týchto baktérií sú schopné oxidácie sírovodíka na síru a až na sírnany aj **anaeróbne fototrofné sírne baktérie** (purpurové Chromatiaceae a Ectothiorhodospiraceae a zelené Chlorobiaceae) (Ambrožová, 2003). Na rozdiel od väčšiny fotosyntetických organizmov neprodukujú O_2 a ako donor elektrónov počas fotosyntézy slúži sírovodík (prípadne H_2, Fe^{2+}). Schopnosť fixácie CO_2 však majú.

Okrem mikroorganizmov je síra súčasťou všetkých živých organizmov. Obsahujú ju esenciálne aminokyseliny cysteín a metionín. Počas rozkladu organizmov sa tak síra dostáva opäť do prostredia, väčšinou vo forme síranov. Síranové anióny zase môžu byť mikroorganizmami, hubami a rastlinami aktívne prijímané priamo z prostredia. Fagotrofné eukaryoty a živočíchy prijímajú organické látky obsahujúce síru priamo z potravy.

12.5 Kolobeh železa

Železo je v pôde zastúpené vo forme minerálov, amfoterných oxidov a hydroxidov a vo forme solí. V živých organizmoch je Fe dôležitou súčasťou niektorých enzýmov. Rastlinné zvyšky prispievajú do pôdy pri ich rozklade železom, ktoré je viazané v chlorofyle. U mikroorganizmov je mikroelementom, ktorý ľahko podlieha zmenám vyvolaným ich činnosťou. Niektoré baktérie (napr. *Acidithiobacillus ferooxidans*) oxidujú Fe^{2+} na Fe^{3+}, pričom využijú uvoľnený elektrón na produkciu energie. Iné baktérie využívajú Fe^{3+} ako terminálny akceptor elektrónov a redukujú ho na Fe^{2+} (napr. rod *Geobacter*) (Reguera a kol., 2005).

12.6 Kolobeh fosforu

Množstvo fosforu v pôde sa pohybuje od 0,02 do 0,2% a jeho podiel závisí od pôvodu materskej horniny. Najdôležitejšie formy anorganicky viazaného fosforu sú fosforečné minerály a adsorbované fosforečnany. Z minerálov tu radíme apatit, hydroxylapatit a fluoroapatit, ktoré sú veľmi ťažko rozpustné. Premenou fosforečných hnojív v hnojených

pôdach vzniká rozpustný dihydrogénfosforečnan vápenatý. Organická forma je viazaná v humuse a v odumretých častiach organizmov (fytín, nukleové kyseliny, fosfolipidy, fosfosacharidy).

Kolobeh fosforu sa od kolobehu dusíka, uhlíka a síry odlišuje tým, že je svojím výskytom viazaný na pôdu, vodu, minerály a živé organizmy, nevyskytuje sa v atmosfére a počas premien nemení svoj oxidačný stupeň v takej značnej miere ako uhlík, síra, dusík. Jeho premeny v pôde sú veľmi zložité, preto im často napomáhajú pôdne mikroorganizmy. V týchto procesoch ide predovšetkým o mobilizáciu prijateľného fosforu z anorganických i organických látok (sprístupňovanie fosforu pre rastliny), ale aj o imobilizáciu, pri ktorej mikróby asimilujú prístupný fosfor z prostredia a tak sa stávajú konkurentmi rastlín (Javoreková a Maková, 2012).

Literatúra

AMBROŽOVÁ, J. 2003. Aplikované technická hydrobiologie. 2. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.

GLUD, R. a kol. 2013. High rates of microbial carbon turnover in sediments in the deepest oceanic trench on Earth. Nature Geoscience 6, 284-288.

HUDECOVÁ, D. – ŠIMKOVIČ, M. 2014. Mikrobiológia. 2. vyd. Bratislava: STU.

JAVOREKOVÁ, S. – MAKOVÁ, J. 2012. Mikrobiológia. 1. vyd. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre.

MUYZER, G. – STAMS, A. J. 2008. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. Nat Rev Microbiol 6, 441-454.

POKORNA, D. – ZABRANSKA, J. 2015. Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. Biotechnol Adv 33, 1246-1259.

REGUERA, G. a kol. 2005. Extracellular electron transfer via microbial nanowires. Nature 435, 1098–1101.

REINHARD, C. T. a kol. 2016. Earth´s oxygen cycle and the evolution of animal life. Proc Natl Acad Sci USA 113, 8933-8938.

TAKAMI, H. a kol. 1997. Microbial flora in the deepest sea mud of the Mariana Trench. FEMS Microbiol Lett 152, 279-285.

13 ROZMNOŽOVANIE PROKARYOTICKÝCH A EUKARYOTICKÝCH MIKROORGANIZMOV

Michal Kapitáň, Matej Vesteg

Prokaryotické aj eukaryotické mikroorganizmy majú veľmi rôznorodé formy rozmnožovania. Základný rozdiel medzi prokaryotmi a eukaryotmi však spočíva v tom, že prokaryoty na rozdiel od eukaryotov nie sú schopné pohlavného rozmnožovania.

Prokaryoty sa rozmnožujú len nepohlavne pomerne **jednoduchým delením buniek**, ktorému predchádza replikácia DNA. Stretávame sa však u nich aj s tzv. **parasexuálnymi procesmi** ako **konjugácia, transformácia a transdukcia**, ktoré **zvyšujú genetickú variabilitu populácie prokaryotov**. Tieto procesy však okrem zvyšovania variability nemajú nič spoločné s pohlavným rozmnožovaním eukaryotov.

Eukaryotické mikroorganizmy sa môžu rozmnožovať **nepohlavne mitózou** a pohlavne. **Pri pohlavnom rozmnožovaní** obyčajne **meiózou vznikajú z jednej diploidnej bunky štyri haploidné (pohlavné) bunky**. **Dve haploidné bunky môžu následne splynúť za vzniku diploidnej bunky (zygoty)**. Aj haploidné, aj diploidné bunky sa môžu rozmnožovať nepohlavne mitózou, kedy vzniká geneticky identické potomstvo. V skutočnosti však môžu byť životné cykly eukaryotických mikroorganizmov z rôznych skupín podstatne komplikovanejšie. Mnohé môžu prechádzať rôznymi morfologicky odlišnými štádiami, ktoré sa môžu líšiť napr. ploidou alebo počtom jadier.

V mikrobiologickom výskume je veľmi často nutné mikroorganizmy kultivovať v laboratórnych podmienkach. Počas kultivácie je nutné simulovať vhodné podmienky, v ktorých sa mikroorganizmus vyskytuje v prírode.

13.1 Kultivácia mikroorganizmov

Mnohé metódy, ktoré sa používajú pri pestovaní prokaryotických baktérií, sa dajú využiť aj pre kultiváciu eukaryotických mikroorganizmov, ako sú plesne, kvasinky, prvoky a niektoré riasy. Proces rozmnožovania mikroorganizmov v laboratóriu môže prebiehať na Petriho miskách s pevným médiom alebo v skúmavkách, či iných nádobách v tekutom médiu (Javoreková a Maková, 2012).

V laboratóriách je snaha pestovať tzv. čisté kultúry mikroorganizmov. **Čistá kultúra obsahuje len jeden druh (resp. kmeň) mikroorganizmu** a nie je kontaminovaná inými mikroorganizmami. Niektoré mikroorganizmy však nie sú schopné samostatnej existencie bez iných symbiotických organizmov. Fagotrofné eukaryotické mikroorganizmy zase obyčajne vyžadujú prítomnosť iných mikroorganizmov ako potravy. Parazitické mikroorganizmy ako napr. vírusy zase vyžadujú na svoje množenie prítomnosť hostiteľských buniek. V takých prípadoch je pochopiteľne nemožné kultivovať tieto mikroorganizmy bez prítomnosti iných mikroorganizmov, prípadne tkanív alebo pletív makroorganizmov.

Veľká časť mikroorganizmov, ktoré sú kultivované v laboratóriách, nie sú **štandardné (divé, prototrofné) kmene**, aké **boli pôvodne získané z prírodných populácií**. Tieto kultúry sú charakteristické nejakou konkrétnou vlastnosťou, obyčajne mutáciou alebo viacerými mutáciami, ktoré sa u nich snažíme udržať. **Auxotrofné kmene** môžu mať napr. **mutáciu v biochemickej dráhe pre syntézu nejakej aminokyseliny alebo vitamínu**. Často sa v laboratóriách využívajú na genetické manipulácie. Ak sa podarí mikroorganizmus cielene

geneticky modifikovať, opäť je snahou pestovať tento mikroorganizmus v podmienkach, v ktorých je pravdepodobnosť zachovania genetickej modifikácie najvyššia.

Mikroorganizmy možno očkovať **do tekutého média** alebo **na pevné médium**. Je to jedna zo základných metód pri práci s mikroorganizmami. Hlavným cieľom kultivácie mikroorganizmov je ich udržiavanie, pasážovanie a regenerácia pred experimentmi. **Do tekutých aj na pevné média na Petriho miskách vysievame bunky** obyčajne **nariedené**.

Po riedkom výseve buniek na pevné médium na Petriho miskách vyrastú kolónie buniek, z ktorých **každá je potomstvom jedinej bunky**. Ak by bol výsev príliš hustý, nedostali by sme na Petriho miske jednotlivé kolónie, ale jednotlivé kolónie by prerastali cez seba. V prípade prokaryotov a **v prípade nepohlavného rozmnožovania** eukaryotov **je každá bunka kolónie geneticky identická s materskou.** Môžeme teda hovoriť o **klonoch**, čo je v prípade niektorých experimentov výhodné.

Každý mikroorganizmus má svoje špecifické nároky na živiny, pH a teplotu, preto je pre jeho kultiváciu nutné využiť **optimálne médium a podmienky rastu**. Niektoré média je možné použiť pre kultiváciu mnohých skupín mikroorganizmov, iné sú určené len pre jeden druh alebo len zopár druhov mikroorganizmov.

Fyzikálno-chemické podmienky kultivácie sú veľmi rôznorodé v závislosti od mikroorganizmu, ktorý chceme kultivovať. **Pre najbežnejšie študované baktérie** sú však mnohé **kultivačné parametre v podobnej škále** (Javoreková a Maková, 2012):

- **Optimálne pH –** u väčšiny pôd pre bežne kultivované baktérie sa pH upravuje na 2 až 7.4 kyselinou alebo hydroxidom.
- **Prítomnosť vody –** je nutnou podmienkou pre vstrebávanie živín. Je tiež hlavnou zložkou tekutých pôd, ale musia ju obsahovať aj pevné (obyčajne agarové) pôdy.
- **Optimálna plynná atmosféra –** pre aeróbne baktérie a fakultatívne anaeróby je bežná kultivácia s prístupom atmosférického kyslíka, ale pre anaeróby je nutné bezkyslíkaté prostredie, tzv. anaeróbna kultivácia.
- **Izotónia kultivačného prostredia –** zaisťuje sa pridaním NaCl do väčšiny pôdy.
- **Nároky baktérií na živiny** – väčšina baktérií patrí medzi mikroorganizmy, ktoré sú chemoheterotrofné. Tieto baktérie sú závislé na zdrojoch chemickej energie a využívajú organické zlúčeniny ako hlavný zdroj uhlíka. Požiadavky na živiny spĺňajú tuhé a tekuté kultivačné pôdy obsahujúce rôzne kovové ióny, aminokyseliny, cukry, soli a iné rastové faktory.
- **Teplota –** pri hodnotení závislosti rastu mikroorganizmu na teplote sa udávajú tri dôležité teploty – minimálna, maximálna a optimálna.

  Minimálna teplota je **najnižšia teplota, pri ktorej mikroorganizmus ešte pomaly rastie**. Pri nižšej teplote sa zastavuje rast príslušného mikróba. **Maximálna teplota je najvyššia teplota, pri ktorej je možné ešte mikroorganizmus kultivovať.** Pri jej miernom prekročení sa rast zastaví, ale po ochladení na nižšiu teplotu rast pokračuje ďalej. **Optimálna teplota je taká, pri ktorej je rýchlosť rastu maximálna.** Medicínsky významné baktérie a väčšina možných kontaminantov ľudských potravín patrí do skupiny mezofilov, ktorých optimálna teplota je od 30-40° C, preto je pre tieto mikroorganizmy bežnou inkubačnou teplotou 37 alebo 35°C. Pri tejto teplote sa ponechávajú naočkované pôdy v biologickom termostate (inkubátore) s automatickou reguláciou teploty 24-28 hodín až niekoľko týždňov, čo záleží od rastovej intenzity druhu baktérie. Mnohé baktérie majú samozrejme optimálnu teplotu rastu nižšiu. V prípade termofilných baktérií a archeónov však môže optimálna teplota rastu dosahovať aj okolo 100 °C.

V prípade kultivácie fototrofných prokaryotov (napr. sinice) a mikroskopických rias je pochopiteľne nutné zaistiť dostatočný prísun svetla s optimálnou intenzitou. Niekedy je nutné

simulovať aj tzv. cirkadiálny rytmus – simulácia dňa a noci prostredníctvom spínača v kultivačnej komore pre fototrofné mikroorganizmy.

Médiá možno rozdeliť aj na **minimálne, kompletné a selektívne**:

Minimálne médium obsahuje iba také **komponenty**, ktoré **stačia pre rast štandardného (divého, prototrofného) kmeňa mikroorganizmu**, **ktorý nemá mutácie v syntéze aminokyselín alebo vitamínov**. Takéto médium môže obsahovať napr. len anorganické soli, biogénne a stopové prvky a nejaký sacharid ako zdroj uhlíka.

Kompletné médium už obsahuje okrem toho, čo obsahuje médium minimálne, aj **všetky vitamíny a aminokyseliny**. Slúži **pre rast všetkých auxotrofných mutantov**, **ktoré majú mutáciu v metabolickej dráhe pre syntézu** niektorých alebo viacerých **aminokyselín** a/alebo **vitamínov**. Tieto mutanty dokážu rásť iba na (v) kompletnom médiu alebo minimálnom médiu, kde musí byť pridaná zložka (zložky), ktorú (ktoré) si nedokážu syntetizovať.

Selektívne médium slúži **na selekciu kmeňov s určitými vlastnosťami**. Dobrým príkladom je **médium pre baktérie s pridaním určitého antibiotika**. Na takomto médiu **vyrastú len kmene rezistentné na toto antibiotikum**. Iný typ selektívneho média môže napr. obsahovať to, čo médium minimálne a zároveň len jednu alebo niekoľko látok (napr. aminokyseliny alebo vitamíny), ktoré vie štandardný kmeň syntetizovať. Takéto médiá slúžia na selekciu mutantov, ktoré majú len jednu alebo niekoľko mutácií (napr. v syntéze jedného vitamínu alebo aminokyseliny). Ak má napr. mikroorganizmus mutáciu v dráhe pre syntézu určitej aminokyseliny, na minimálnom médiu nevyrastie, vyrastie však na selektívnom obsahujúcom túto aminokyselinu a pochopiteľne aj na kompletnom médiu.

13.2 Rozmnožovanie prokaryotov

Prokaryotické organizmy sú spravidla haploidné. **Prokaryotický „chromozóm“**, nazývaný **nukleoid** je **väčšinou kruhová molekula DNA uložená v cytoplazme** prichytená na plazmatickú membránu. U prokaryotov preto nemožno hovoriť o žiadnom jadre, keďže **DNA nie je obalená jadrovou membránou**. DNA baktérií sa viaže na proteíny histónového typu HU, IHF, FIS a H-NS, ktoré majú podobné funkcie pri zbaľovaní DNA ako históny v prípade eukaryotov, nie sú však s nimi homologické (nemajú spoločný evolučný pôvod). Niektoré archeóny majú aspoň niektoré históny (napr. H3 a H4), ktoré sú homologické s tými eukaryotickými. **Prokaryoty sa rozmnožujú relatívne jednoduchým nepohlavným delením buniek, pred ktorým musí prebehnúť replikácia chromozómu.**

Hoci sa prokaryoty zvyknú označovať spravidla ako haploidné, v realite mnohé môžu obsahovať viacero kópií svojho kruhového genómu a sú v zásade polyploidné. Niekedy totiž prebehne viacnásobná replikácia DNA kruhového chromozómu ešte pred delením buniek. Za vhodných podmienok sa replikácia chromozómu môže začať ešte predtým, ako sa skončila tá predchádzajúca a vtedy môžu byť prokaryoty parciálne polyploidné. Niektoré prokaryoty majú aj lineárne genómy, ktoré však nikdy neobsahujú typické eukaryotické teloméry, ale ich konce chromozómov sa replikujú iným mechanizmom. Niektoré prokaryoty majú aj viac ako jeden esenciálny chromozóm.

Baktérie okrem nukleoidu (resp. nukleoidov) často obsahujú aj **plazmidy**, ktoré zvyčajne predstavujú **menšie kruhové** (prípadne lineárne) **molekuly DNA** a tie obyčajne nemajú esenciálnu funkciu, ale môžu v určitom prostredí poskytovať svojim nositeľom istú selekčnú výhodu ako napr. rezistencia voči antibiotikám, či ťažkým kovom. Plazmidy sa tiež replikujú a **môžu byť prenesené do iného prokaryota v procese konjugácie**. Konjungovať môžu prokaryoty rovnakého druhu, ale aj iných druhov.

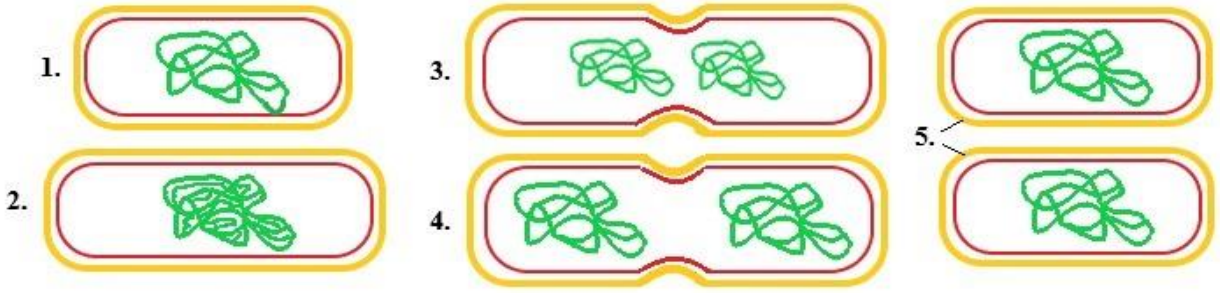
Okrem toho sa **do prokaryotov** môže dostať **cudzorodá DNA aj pomocou ich vírusov v procese transdukcie**. Ďalším procesom zvyšujúcim genetickú variabilitu prokaryotov je **transformácia**, kedy **prokaryot** doslova **absorbuje cudzorodú DNA z prostredia**.

Konjungácia, transformácia a transdukcia sa označujú aj ako **parasexuálne procesy**. V prípade baktérií sú to dobre preštudované procesy, ktoré možno umelo navodiť aj za laboratórnych podmienok a využiť na tzv. **genetické manipulácie**. V prírode ide aj o mechanizmy, akými sa môže dostať do prokaryotov DNA aj z celkom nepríbuzných organizmov. **Prenos génov (resp. DNA) medzi nepríbuznými organizmami** označujeme ako **horizontálny** alebo **laterálny génový tranfer**. S týmto javom sa pomerne často stretávame aj u eukaryotov, pričom relatívne bežný je aj horizontálny transfer medzi prokaryotmi a eukaryotmi.

13.2.1 Delenie prokaryotických buniek

Prokaryotické organizmy sa nevedia rozmnožovať pohlavne, ale len **nepohlavne – delením buniek, ktoré je podstatne jednoduchšie ako mitóza** (nepohlavné delenie eukaryotických buniek. Pred samotným delením buniek sa musí najprv zreplikovať ich kruhový chromozóm. Zjednodušená schéma typického bunkového cyklus baktérií je na obr. 13.1 a prebieha v nasledujúcich krokoch:

1. Pripojenie chromozómu na špeciálne miesto naznačuje, že sa táto baktéria chystá rozdeliť.
2. Bunka sa pripravuje na binárne delenie, DNA je zreplikovaná, bunková stena, plazmatická membrána a celkový objem bunky sa zväčšujú.
3. Zreplikovaná DNA sa už od seba oddelila a je možné pozorovať dva chromozómy. Bunková stena a plazmatická membrána začína rásť smerom dovnútra.
4. Ako sa bunka predlžuje, chromozómy sa od seba vzďaľujú. Cytoplazma sa distribuuje rovnomerne.
5. Následne nová bunková stena a plazmatická membrána rozdelia dcérske bunky. Pri tvorbe septa zodpovedného za rozdelenie buniek hrá centrálnu úlohu FtsZ proteín a ďalšie Fts proteíny.



Obr. 13.1. Zjednodušený model bunkového cyklu baktérií

Delenia buniek baktérií sa na rozdiel od eukaryotov nezúčastňuje mitotické vretienko zložené z tubulínov (Alberts a kol., 1998). FtsZ proteín baktérií vytvárajúci septum počas delenia ich buniek je však vzdialeným homológom tubulínov (FtsZ proteín a tubulíny pravdepodobne zdieľajú spoločného predka). Jediným doposiaľ známym rodom baktérií

obsahujúcich dva homológy tubulínu je rod *Prosthecobacter* (Jenkins a kol., 2002). V tomto prípade sa však predpokladá, že ide o laterálny (horizontálny) génový transfer z eukaryotov do týchto baktérií (Yee a kol., 2007). Archeóny spravidla obsahujú tiež gén kódujúci FtsZ proteín, ale archeón rodu *Nitrosarchaeum* obsahuje gény kódujúce FtsZ proteín aj tzv. artubulín (archeónový homológ tubulínu) (Yutin a Koonin, 2012). Bunkové delenie týchto archeónov však nie je doposiaľ dobre preštudované.

13.2.2 Tvorba endospór u baktérií

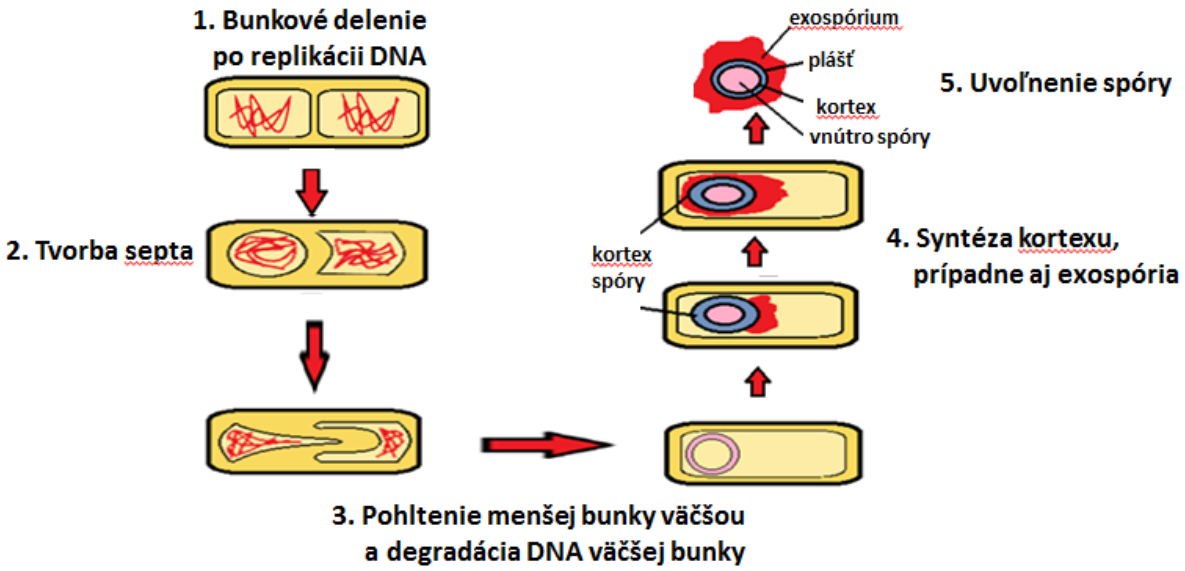
Mnohé baktérie produkujú v prípade nepriaznivých podmienok **spóry**, ktoré im **umožňujú** tieto **nepriaznivé podmienky prečkať** (Moir a Cooper, 2015). V niektorých prípadoch sa môže spóra vytvoriť zhrubnutím bunkovej steny a zmenšením objemu cytoplazmy.

Najčastejším typom spór baktérií sú však endospóry, ktoré sa vytvárajú vo vnútri bunky po tom, čo sa zreplikovala DNA a cytoplazma sa rozdelila, nedošlo však k cytokinéze (oddeleniu dvoch buniek). Endospóry vytvárajú napr. Gram-pozitívne baktérie rodov *Clostridium* a *Bacillus*.

Endospóra má pevný obal nazývaný **kortex, plášť** a môže mať aj **vonkajší obal exospórium**. Tvorba endospór prebieha v nasledujúcich krokoch (obr. 13.2):

1. DNA sa zreplikuje a bunka sa začne deliť.
2. Vytvorí sa membránové septum medzi bunkami, ale nedosyntetizuje sa medzi nimi bunková stena. Delenie sa teda nedokončí.
3. Prespóra (menšia z dvoch buniek) je pohltená väčšou bunkou, ktorej DNA sa zdegraduje.
4. Tvoria sa obaly spóry – plášť, kortex, prípadne aj exospórium.
5. Spóra sa uvoľní do prostredia.

V prípade priaznivých podmienok spóra zase ožije a premení sa na vegetatívnu bunku (vyklíči) (Moir a Cooper, 2015).



Obr. 13.2. Tvorba endospór u baktérií

13.2.3 Parasexuálne procesy u baktérií

Prokaryoty sa rozmnožujú len asexuálne, ale môže u nich dôjsť **k prirodzenému prenosu cudzorodej DNA do bunky tromi spôsobmi (tzv. parasexuálnymi procesmi) – konjugáciou, transformáciu a transdukciou**. Tieto procesy nie sú obojsmerné. Zdroj DNA sa nazýva **donor** a bunka, ktorá získa novú DNA, sa nazýva **recipient**. Nejedná sa o sexuálne procesy analogické meióze (tvorba haploidných gamét) a splývaniu gamét, ktorými sa vyznačujú len eukaryoty.

Po prenose cudzorodej DNA sa táto môže, ale nemusí integrovať do genómu hostiteľa. Ak sa integruje, potom sa replikuje spoločne s genómom hostiteľa. **Na integráciu do genómu** hostiteľa a vytvorenie stabilného tzv. rekombinantného genómu je nutná tzv. **rekombinácia medzi donorovou a recipientnou DNA**. **Rekombinácia je proces prekríženia dvoch sekvenčne podobných molekúl DNA**. K takémuto procesu dochádza aj v meióze eukaryotov, kedy pri vzniku gamét dochádza k prekríženiu (crossing-over) chromozómov a výmene úsekov medzi chromozómami jednotlivých chromozómových párov. **V prípade prokaryotov sa kruhové molekuly DNA** (napr. plazmidy) môžu včleniť **pomocou jednoduchého crossing-overu** do ich kruhového genómu. **Lineárne molekuly DNA sa môžu vložiť do kruhového genómu dvojitým crossing-overom**, pričom nahradia úsek prokaryotického genómu medzi dvoma crossing-overmi. **Rekombinácia vyžaduje homologické (sekvenčne podobné) úseky**, ktoré umožňujú crossing-overu za účasti enzýmov. Čím je sekvenčná podobnosť donorovej a recipientnej DNA vyššia, tým je aj vyššia šanca úspešnej rekombinácie a integrácie do prokaryotického genómu (Alberts a kol., 1998).

13.2.3.1 Konjugácia baktérií

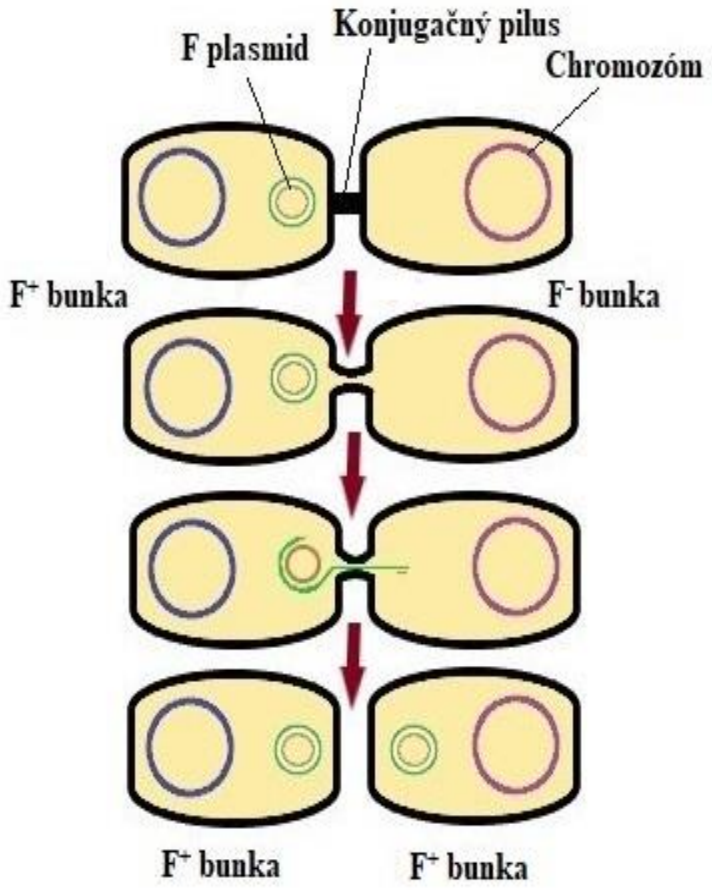
Konjugácia je proces prenosu génov, v **ktorom recipientná baktéria prijíma DNA z donorovej baktérie** bunkovým kontaktom **prostredníctvom konjugačného kanála**. **Konjugácia je obyčajne jednosmerný prenos plazmidu z donorovej bunky do recipientnej** (Sana a kol., 2014).

Horizontálny prenos génov (akýkoľvek prenos génov netýkajúci sa prenosu génov z rodiča na potomka) je jedným z hlavných zdrojov evolúcie prokaryotov aj eukaryotov. V prípade baktérií vedie k zmenám ekologických požiadaviek kmeňov a niekedy aj druhov baktérií. Touto cestou si príbuzné aj nepríbuzné baktérie môžu odovzdávať napr. gény pre rezistenciu voči antibiotikám, rezistenciu na ťažké kovy, prípadne aj gény pre rôzne metabolické dráhy (Ghigo, 2001).

Princíp prenosu akejkoľvek plazmidovej DNA konjugáciou je v princípe rovnaký. Na obr. 13.3 je znázornený **proces konjugácie a prenosu plasmidu na príklade F (fertility) plazmidu** vyskytujúceho sa **u** modelovej Gram-negatívnej **baktérie *Escherichia coli***. Tento proces prebieha v nasledujúcich krokoch:

1. Donorová bunka, ktorá má F plazmid (F^+), sa kontaktuje s recipientnou bunkou, ktorá F plazmid nemá (F^-) pomocou tzv. sex pilu. Za tvorbu pilu zodpovedá donorová bunka (F^+). Informácie pre tvorbu sex pilov obsahuje F plazmid.
2. Vytvorí sa konjugačný kanál (nie je identický so sex pilom).
3. Jedno vlákno kruhovej plazmidovej DNA sa prenesie do donorovej bunky cez konjugačný kanál.
4. Recipient syntetizuje komplementárny reťazec a stáva sa taktiež F^+ bunkou. Donor si taktiež dosyntetizuje komplementárny reťazec F plazmidu a výsledkom je, že donor aj recipient majú kompletný F plazmid (Ghigo, 2001).

Na prenos DNA konjugáciou je potrebná energia z donorovej bunky väčšinou vo forme ATP. Sex pilus môže byť veľmi krátky (napr. plazmid RP4) alebo veľmi dlhý (F plazmid). Sex pilus je nevyhnutný pre rozoznanie recipientných buniek, no DNA nie je prenášaná cez tento pilus. Ku konjugácii plazmidov, ktoré kódujú krátke pili, dochádza dobre v pevnom médiu, naopak ku konjugácii plazmidov ako F, ktoré kódujú dlhé pili, dochádza dobre v tekutom médiu. Niekedy sa plazmidy môžu integrovať do genómu prostredníctvom rekombinácie a počas konjugácie potom môžu preniesť do recipienta aj časť svojho chromozómu (Alberts a kol., 1998).



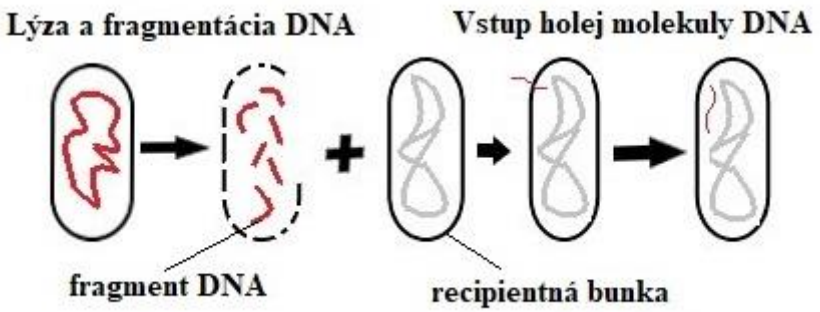
Obr. 13.3. Konjugácia baktérii a prenos plazmidu na príklade F (fertility) plazmidu

13.2.3.2 Transformácia baktérií

Niektoré **baktérie môžu prijímať malé fragmenty DNA z prostredia.** Tieto fragmenty môžu pochádzať napr. z mŕtvych baktérií (obr. 13.4), prípadne aj archeónov alebo eukaryotov. Keď sa donorová DNA dostane do vnútra bunky, môže sa stať súčasťou genómu recipienta vďaka procesu homologickej rekombinácie. Čím je sekvencia cudzorodej DNA podobnejšia (príbuznejšia) DNA hostiteľskej baktérie, tým je šanca integrácie do jej genómu väčšia (Alberts a kol., 1998).

Poznáme dva **typy transformačných procesov – prirodzený a indukovaný**. **Prirodzený bežne prebieha v prírode** u mnohých druhov baktérií, ale nebol pozorovaný

u všetkých. Indukovaný transformačný proces je možné umelo navodiť v laboratóriu. Využíva sa napr. pri metódach klonovania DNA, keď chceme v baktérii pomnožiť napr. nejaký plazmid alebo keď v nej chceme navodiť expresiu cudzorodých génov. Umelo transformovať môžeme nielen prokaryotické, ale aj eukaryotické bunky.



Obr.13.4. Transformácia baktérie cudzorodou DNA z inej baktérie

Aby bola **transformácia baktérií v laboratóriu** úspešná a aby sa cudzorodá DNA v transformantoch dlhodobo udržala, musia byť splnené nasledovné podmienky:

1. **Kompetentnosť buniek** – je **špeciálny fyziologický stav bunky**, ktorý je **nutný pre prijatie cudzorodej DNA**. Dá sa indukovať niektorými rastovými podmienkami. Zvyšuje sa permeabilita bunkových povrchov a aktivujú sa receptory na povrchu bunky, ktoré sú zodpovedné za rozpoznanie cudzorodej DNA.
2. **dsDNA sa musí upraviť na ssDNA.** Len ssDNA môže byť prijatá baktériami.
3. **Homológia transformovanej DNA s DNA recipienta** je nutná pre integráciu cudzorodej DNA do genómu pomocou rekombinácie a stabilné množenie cudzorodej DNA v transformantoch. Táto podmienka nemusí byť splnená v prípade transformácie plazmidmi, ktoré obsahujú počiatok replikácie rozpoznávaný baktériu (Alberts a kol., 1998).

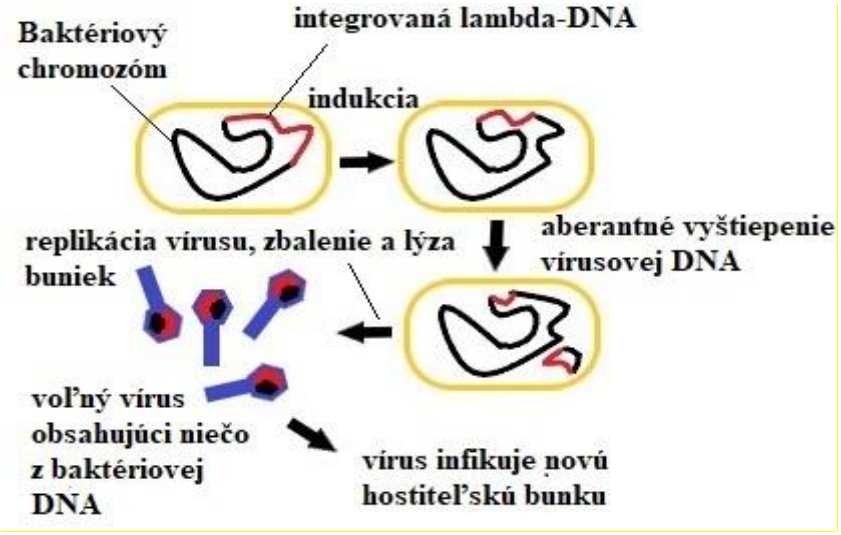
***E. coli* patrí medzi najbežnejšie využívané Gram-negatívne baktérie, do ktorých sa vnáša cudzorodá DNA**, či už za účelom expresie cudzorodých génov kódujúcich napr. nejaké medicínsky (napr. ľudský inzulín) alebo biotechnologicky zaujímavé produkty alebo za účelom štúdia mutácií, klonovania (množenia) plazmidov, prípadne iných molekulových štúdií (Green a Rogers, 2014). Je teda zrejmé, že **baktérie je možné transformovať aj pomocou plazmidov**, ktoré sa inak prirodzene prenášajú konjugáciou. V súčasnosti však existuje obrovská škála expresných a klonovacích vektorov (umelo pripravené plazmidy) využívaných na rôzne účely. V prípade *E. coli* sa využívajú jej geneticky modifikované kmene, aby bola úspešnosť transformácie, čo najvyššia. Štandardné kmene obsahujú účinný restrikčno-modifikačný systém, ktorý dokáže rozpoznať a degradovať cudzorodú DNA, preto sa na transformáciu využívajú kmene s mutáciami v tomto „imunitnom“ systéme baktérií). Poznáme dve najčastejšie základné metódy na transformáciu *E. coli*. Prvou je chemická a druhou elektrická metóda. Jednoduchou **chemickou metódou, ktorá navodí komptentnosť buniek *E.coli* je pridanie $CaCl_2$ k bunkám na ľade**. Transformácia *E. coli* plazmidovou DNA pomocou metódy tepelného šoku je základnou technikou molekulovej biológie. Takýmto spôsobom sa bežne vkladajú plazmidy (vektory) alebo ligačné produkty (pozmenené vektory, napr. s vloženým cudzorodým génom) do baktérií (Froger a Hall, 2007).

Použitie elektroporácie na transformáciu *E. coli* vedie k transformačnej účinnosti vyššej, než je možné dosiahnuť pomocou najlepších chemických metód. **Elektroporácia je založená na krátkych pulzoch elektrického výboja, ktoré zvýšia priepustnosť bunkových povrchov** baktérií (Morrison, 2001).

Kompetentný stav u Gram-pozitívnej baktérie *Bacillus subtilis* indikuje zníženie kultivačnej teploty zo 42°C do 37°C a celková kompetencia buniek v tejto populácii je zhruba 15%. Pre porovnanie u baktérie *Streptococcus pneumoniae* môže byť kompetentných aj 100% buniek. Ak sú totiž aspoň niektoré tieto baktérie v kultúre kompetentné, začnú vylučovať faktor kompetencie, ktorý navodí kompetentnosť ďalších baktérií. V prípade baktérie *Legionella pneumophila* je zase možné navodiť kompetenciu UV žiarením. Mnoho baktérií sa stáva kompetentnými po pridaní antibiotík. Predpokladá sa, že navodenie kompetentného stavu úzko súvisí so zhoršenými fyziologickými podmienkami buniek a tým aj poškodením ich DNA. Prijatím cudzorodej DNA, či už ako zdroja energie alebo templátu na opravu DNA sa snažia baktérie vyrovnať so zlými podmienkami (Alberts a kol., 1998).

13.2.3.3 Transdukcia u baktérií

Baktérie tiež **majú svoje vírusy**, ktoré nazývame **bakteriofágy**. **Bakteriofág λ** (lambda) je jedným z najznámejších fágov **napádajúcich baktériu *E. coli***. Počas **lytického cyklu sa množí v *E. coli*** až ju napokon **zlyzuje a množstvo kópií fágov sa vyrojí z bunky von**. Počas **lyzogénneho cyklu je naopak integrovaný do genómu *E. coli* a jeho DNA sa replikuje spoločne s baktériovou DNA** (obr. 13.5). **V prípade nepriaznivých podmienok (napr. UV) sa však z genómu *E. coli* vyštiepi (excízia) a prechádza do lytického cyklu**. **K excízii DNA λ-fága** z baktériového chromozómu však **občas dochádza** pri prechode z lyzogénneho do lytického cyklu **nepresne** a namiesto kompletného vírusového genómu je **do vírusových častíc zbalená aj časť hostiteľskej DNA**, ktorá sa nachádza v blízkosti miesta integrácie. Keď takéto vírusy infikujú novú bunku, môžu ju buď lyzovať, alebo lýzy nemusia byť schopné. V druhom prípade **môžu tak vniesť do baktérie DNA z inej baktérie**. Novoprijatá DNA sa tak môže integrovať spolu s vírusovým genómom pomocou homologickej rekombinácie do hostiteľského chromozómu a stať sa jeho súčasťou (Alberts a kol., 1998).



Obr. 13.5. Možnosť prenosu baktériovej DNA pomocou bakteriofágov (vírusov baktérií)

13.3 Rozmnožovanie eukaryotov

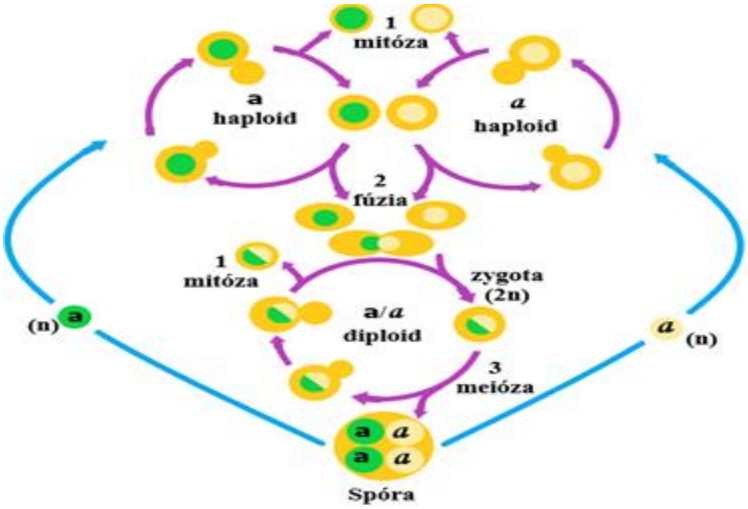
Eukaryotické organizmy sa môžu rozmnožovať **nepohlavne aj pohlavne**. V prípade mikroorganizmov, rias, húb a rastlín je pomerne častým javom **striedanie pohlavného a nepohlavného rozmnožovania – rodozmena** (resp. **životný cyklus**). **Eukaryotické jednobunkové mikrorganizmy sa nepohlavne rozmnožujú delením buniek – mitózou**. Pred tým, ako sa bunka rozdelí, musí nastať zmnoženie DNA a organel. Dve dcérske bunka sú po mitóze obyčajne geneticky identické s materskou. Medzi základné typy nepohlavného rozmnožovania patrí priečne a pozdĺžne delenie buniek a pučanie. Niekedy však môže nastať aj mnohonásobné delenie jadra a následne vzniká množstvo dcérskych buniek.

Eukaryotický bunkový cyklus je súbor procesov, ktoré v konečnom dôsledku **vedú k rozdeleniu materskej bunky na dve dcérske bunky**. Eukaryotická bunka sa najprv **pripravuje na replikáciu DNA (G_1-fáza)**, následne **zreplikuje svoju DNA (S-fáza)**, potom **sa pripravuje na samotnú mitózu (G_2-fáza)** až sa napokon **mitózou rozdelí (M-fáza)** (Alberts a kol., 1998).

Meiotické delenie alebo **meióza** je typ redukčného bunkového delenia, počas ktorého **dochádza k vzniku buniek, ktoré majú redukovaný počet chromozómov na polovicu. Z jednej diploidnej** vznikajú **štyri haploidné bunky. Haploidné bunky môžu v procese pohlavného rozmnožovania** zase **splynúť za vzniku diploidnej zygoty** (Alberts a kol., 1998).

13.3.1 Životný cyklus eukaryotických mikroorganizmov

Prototyp životného cyklu eukaryotických mikroorganizmov sa dá ľahko pochopiť **na príklade** pekárenskej **kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*** (obr. 13.6). V molekulovej biológii sa táto kvasinka pomerne často využíva ako modelový organizmus.



Obr. 13.6. Životný cyklus pekárenskej kvasinky **Saccharomyces cerevisiae**

Bunky kvasinky môžu byť podobne ako bunky väčšiny eukaryotických jednobunkovcov haploidné alebo diploidné. **Haploidná bunka obsahuje len jednu kópiu každého chromozómu**, zatiaľ čo **diploidná dve**. **Haploidná aj diploidná bunka sa môže rozmnožovať asexuálne – mitózou**. Dcérska bunka v prípade kvasiniek vzniká tzv. pučaním (jedna z foriem delenia eukaryotických buniek). **Haploidné bunky** odlišných párovacích typov (v prípade kvasinky typy *a* a *α*) **môžu** za určitých podmienok **fúzovať za vzniku diploidnej bunky – zygoty**. Diploidné **zygoty sa môžu deliť mitózou alebo meiózou**. **Mitózou** vznikajú **dve diploidné bunky**, pričom **meiózou** vznikajú **štyri haploidné bunky** (v prípade kvasinky 2*a* a 2*α*). **Haploidné bunky** sa tiež môžu rozmnožovať **nepohlavne mitózou** (obr. 13.6).

13.3.2 Eukaryotický bunkový cyklus

Pod pojmom eukaryotický bunkový cyklus sa zvyčajne rozumie striedanie procesov prípravy na mitózu (tzv. interfáza) a procesu samotnej mitózy. **Eukaryotický bunkový cyklus** má dokopy **štyri fázy (G_1, S, G_2 a M)**. Celková dĺžka bunkového cyklu sa líši v závislosti od druhu, fyziologického stavu bunky, vonkajších podmienok a v prípade mnohobunkovcov aj v závislosti od tkaniva, pletiva alebo ontogenetického štádia (Tabuľka 13.1). **M-fáza** je **fáza** samotnej **mitózy**, kedy dôjde najprv **k deleniu jadra** a následne k **rozdeleniu** samotnej **bunky na dve** – proces nazývaný **cytokinéza**. Poznáme taktiež **interfázu**, čo je **doba medzi dvoma M-fázami**. Pod mikroskopom sa môže na prvý pohľad môže zdať, že sa v interfáze nič významné nedeje a že sa bunka len zväčšuje. Napriek tomu je pre bunku interfáza nesmierne dôležitá. **Interfáza** sa skladá z troch fáz bunkového cyklu – **G_1, S a G_2**. **G_1-fáza** je obdobie medzi koncom M-fázy (resp. mitózy) a začiatkom S-fázy (resp. replikácie DNA). V tejto fáze **bunka zväčšuje svoj objem a pripravuje sa na replikáciu DNA**. **S-fáza** je tzv. syntetická fáza, v ktorej **bunka** replikuje svoju jadrovú **DNA**. **G_2-fáza** predstavuje štádium bunkového cyklu medzi koncom S-fázy a začiatkom M-fázy. Bunka opäť zväčšuje svoj objem a pripravuje sa na mitózu (Alberts a kol., 1998).

Tabuľka 13.1. Rozdiely v dĺžke bunkového cyklu eukaryotických buniek

TYP BUNKY	DĹŽKA BUKOVÉHO CYKLU
BUNKA RANNÉHO ŽABIEHO EMBRYA	30 MIN
BUNKA KVASINKY	1,5 - 3 H
BUNKA ČREVNÉHO EPITELU	12 H
CICAVČIE FIBROBLASTY V KULTÚRE	20 H
ĽUDSKÉ PEČEŇOVÉ BUNKY	1 ROK

Počas celej interfázy bunka neustále prepisuje gény, syntetizuje proteíny a zväčšuje svoju veľkosť. G_1 a G_2 fázy predstavujú pre bunku priestor na to, aby mohla vyrásť a zmnožiť svoje cytoplazmatické organely. Sú to nesmierne dôležité fázy, pretože ak by interfáza trvala len tak dlho ako replikácia DNA (S-fáza), tak by bunka pred rozdelením nemala kedy zdvojnásobiť svoju váhu a objem. Tým pádom by sa pri každom delení zmenšovala. Prvým znakom toho, že bunka sa dostáva do M-fázy, je postupná kondenzácia (zbaľovanie) chromatínu do chromozómov, ktoré boli zreplikované počas S-fázy. V M-fáze bunkového cyklu sa chromozómy stávajú viditeľnými aj vo svetelnom mikroskope. Sú viditeľné ako dlhé vlákna, ktoré sa postupne skracujú a hrubnú.

V bunke počas mitózy vznikajú aj cytoskeletové štruktúry, ktoré sú nutné pre delenie jadra a cytoplazmy. Na to, aby vznikli dve samostatné dcérske bunky, sa od seba musia presne oddeliť chromatídy zduplikovaných chromozómov a do každého dcérskeho jadra sa musí dostať len jedna chromatída z dvoch kópií každého chromozómu.

Mitotické (deliace) vretienko je **cytoskeletová štruktúra tvorená mikrotubulami**, ktorá je zodpovedná za správne presné rozdelenie chromatíd jednotlivých chromozómov do jadier dcérskych buniek. **Mikrotubuly sú tvorené** proteínmi nazývanými **tubulíny** a okrem mitotického vretienka sú **aj súčasťou eukaryotických bičíkov**. Tvarovo pripomínajú dlhé a pomerne málo ohybné trubičky, ktoré sa dokážu veľmi rýchlo rozpadnúť na jednom mieste a veľmi rýchlo poskladať na inom mieste.

Druhá cytoskeletová štruktúra, ktorá vzniká na konci M-fázy, je zodpovedná za samotné **rozdelenie bunky (cytokinézu)**. Je tvorená **kontraktilným prstencom myozínových a aktínových filamentov** (Alberts a kol., 1998). Cytoskeletové proteíny aktín a myozín spravidla chýbajú u prokaryotických buniek, hoci niektoré archeóny v zriedkavých prípadoch majú aktín.

13.3.2.1 Kontrolné body eukaryotického bunkového cyklu

Jednotlivé časti eukaryotického bunkového cyklu sa odohrávajú v presne danom poradí. V správnom čase musí systém regulácie bunkového cyklu aktivovať enzýmy a proteíny, ktoré sú nevyhnutné pre chod každého procesu. Po každej aktivácii enzýmov v istej fáze bunkového cyklu musí po jej ukončení dôjsť k deaktivácii týchto enzýmov. Každý jeden krok cyklu musí byť dokončený skôr, ako začne nasledujúci krok.

Eukaryotická bunka disponuje **kontrolnými mechanizmami**, ktoré **zabraňujú, aby bunka pokračovala v bunkovom cykle, ak niečo nie je v poriadku**. Ak došlo napr. **k poškodeniu DNA**, tak je potrebná v prvom rade jej oprava. Bunkový **cyklus sa** v takomto prípade **zastaví v ktorejkoľvek fáze a pokračuje sa v ňom až po oprave DNA**. Iným typom kontrolných mechanizmov sú tzv. **kontrolné body – konkrétne časové periódy bunkového cyklu, v ktorých sa bunkový cyklus dokáže zastaviť** vďaka rôznym mechanizmom. Bunka má napr. mechanizmy pre monitorovanie bunkovej veľkosti a nezačne deliť, kým nedorastie do správnej veľkosti. Rast bunky je závislý na dostatočnom prísune živín a mnohých iných faktoroch, ktoré sa odohrávajú v extracelulárnom prostredí. **G_1-fázový kontrolný bod** overuje, **či sú okolité podmienky vhodné pre proliferáciu** (množenie) a či je bunka dostatočne veľká ešte pred vstupom do S-fázy. **Povoľuje vstup do S-fázy** (syntézu DNA) len, ak sú splnené všetky nutné podmienky. Ak nie, zastaví bunkový cyklus v G_1 fáze. **G_2-fázový kontrolný bod** monitoruje, **či má bunka zreplikovanú všetku DNA a či má dostatočnú veľkosť potrebnú pre vstup do mitózy**. Ak nie, umožňuje zastaviť cyklus v G_2 fáze pred vstupom do mitózy. **V mitóze** je zase dôležitý tzv. **anafázový kontrolný bod**, **kedy bunka kontroluje, či sú všetky chromozómy pripojené k mitotickému vretienku**. Ak nie, cyklus sa zastaví a anafáza (rozchod chromozómov k pólom) sa nezačne (Alberts a kol., 1998).

Je potrebné zdôrazniť, že keďže **prokaryoty** nemajú bunkový cyklus rozdelený na také fázy ako eukaryoty, **nemajú** ani **takéto kontrolné body**. V prípade poškodenia DNA začnú napr. len nadexprimovať gény, ktorých produkty sú zodpovedné za opravu DNA. Aj replikácia DNA často začne ešte predtým ako sa bunky rozdelia, dokonca ešte predtým ako sa dokončí predchádzajúca replikácia. Prokaryoty preto nemusia vždy obsahovať len jednu kópiu kruhovej DNA, ale môžu obsahovať aj viacero kópií genómu, prípadne môžu byť aj parciálne polyploidné (obsahujú viacero kópií len niektorých častí genómu v blízkosti replikačného počiatku).

13.3.2.2 Cyklíny a cyklín-dependentné kinázy

Jedným z najbežnejších spôsobov, akým eukaryotická bunka mení aktivitu proteínov, je ich fosforylácia a defosforylácia. **Enzýmy realizujúce fosforylácie proteínov** sa nazývajú **proteínkinázy**. Proteínkinázy katalyzujú prenos jednej fosfátovej skupiny z ATP na reťazec aminokyselín v konkrétnom cieľovom proteíne. Opačným procesom je **defosforylácia** proteínov enzýmami, ktoré sa nazývajú **fosfatázy**. Napriek tomu, že proteíny riadiace eukaryotický bunkový cyklus sú v bunke prítomné počas celého bunkového cyklu, ich aktivita sa sa počas jednotlivých fáz bunkového cyklu cyklicky mení práve v závislosti od fosforylácií a defosforylácií.

Ďalšími dôležitým proteínmi, ktoré sa zúčastňujú na regulácii eukaryotického bunkového cyklu, sú **cyklíny**. Naviazanie cyklínu špecifického pre určitú fázu bunkového cyklu na kinázu je nevyhnutné pre jej enzýmovú aktivitu. **Proteínkinázam riadiacim bunkový cyklus** sa preto hovorí aj **cyklín-dependentné kinázy (Cdk)**. Aby bola cyklín-dependentná kináza enzymatický aktívna, musí na ňu byť jednak naviazaný cyklín, ale musí byť aj fosforylovaná na jednom alebo viacerých miestach, prípadne následne defosforylovaná na nejakom mieste. Fosforyláciu cyklín-dependentných kináz zabezpečujú taktiež proteínkinázy a defosforyláciu fosfatázy. Aktivovaný komplex cyklín-Cdk je schopný aktivovať ďalšie proteíny, ktoré sú potrebné pre správny priebeh danej fázy bunkového cyklu opäť prostredníctvom fosforylácií príslušných proteínov.

Cyklínov je viacero a sú špecifické pre určitú konkrétnu fázu bunkového cyklu. U väčšiny eukaryotov existuje aj viacero variantov Cdk, ktorých aktivita je opäť špecifická pre danú fázu bunkového cyklu. Napr. u kvasinky *S. cerevisiae* je však prítomná len jedna Cdk a v každej fáze bunkového cyklu je na ňu naviazaný iný špecifický cyklín. U všetkých eukaryotov teda poznáme S-fázové, G2-fázové a M-fázové cyklíny (Alberts a kol., 1998).

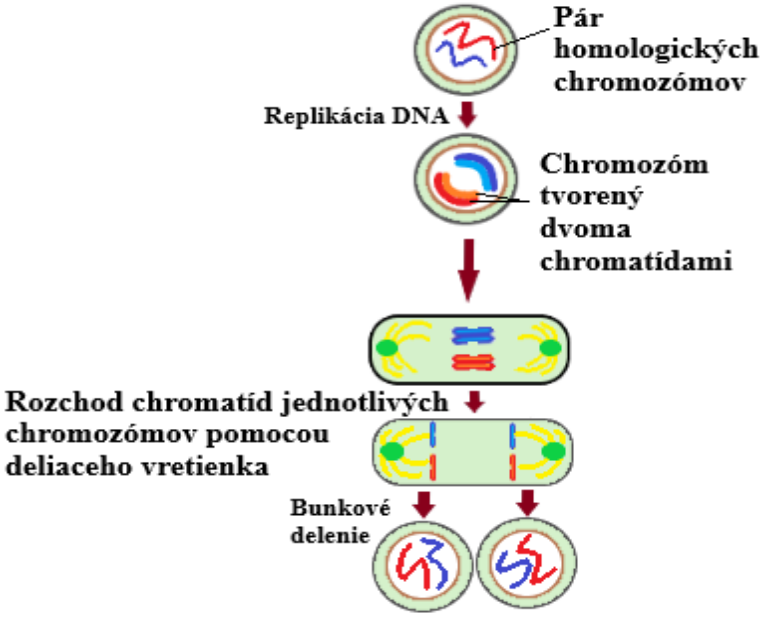
13.3.3 Mitóza

Mitóza je typ bunkového delenia, ktorý zabezpečuje **nepohlavné rozmnožovanie eukaryotických buniek**. V užšom slova zmysle sa pod pojmom mitóza často rozumie len delenie jadra eukaryotickej bunky a jej následné rozdelenie sa označuje ako cytokinéza. V porovnaní s ostatnými fázami bunkového cyklu je mitóza obyčajne časovo najkratšia fáza (cca 8% času z celkového bunkového cyklu), hoci dĺžka jednotlivých fáz bunkového cyklu sa u rôznych eukaryotov odlišuje. Jednotlivé **chromatídy zreplikovaných chromozómov sú v priebehu mitózy rovnomerne rozdelené do dcérskych buniek** (resp. jadier) (obr. 13.7). Dve novovzniknuté **dcérske bunky** sú zvyčajne **geneticky identické s materskou**.

13.3.3.1 Otvorená a uzavretá mitóza

Existujú dve základné formy mitózy. **Na začiatku otvorenej mitózy zaniká jadrová membrána**. Otvorená mitóza teda prebieha vlastne v cytoplazme eukaryotickej bunky, kde sa formuje aj deliace vretienko. **Na konci otvorenej mitózy sa jadrová membrána zase obnovuje** z membrán ER a tak sa pred cytokinézou sformujú opäť jadrá dcérskych buniek (obr. 13.7). Druhou formou mitózy je **uzavretá mitóza**, pri ktorej **jadrová membrána**

zostáva zachovaná počas celej mitózy. Mitotické vretienko sa formuje v jadre, prípadne mimo neho. Uzavretá mitóza teda prebieha v jadre. V posledných fázach uzatvorenej mitózy sa formujú dve dcérske jadrá takým spôsobom, že sa jadrový obal obyčajne zúži v stredovej oblasti. **Počas otvorenej mitózy zaniká aj jadierko** (alebo jadierka), pričom **jadierko** (prípadne jadierka) **ostáva** obyčajne zachované **počas** celého priebehu **uzatvorenej mitózy**.



Obr 13.7. Schéma priebehu nepohlavného rozmnožovania eukaryotických buniek na príklade otvorenej mitózy. *Na obrázku je znázornený len jeden pár chromozómov diploidnej bunky. V skutočnosti je ich však obyčajne viac. Počet chromozómov je druhovo špecifický.*

Treba však spomenúť, že medzi oboma formami mitózy existuje viacero rôznych prechodných štádií. U niektorých organizmov napr. jadrová membrána zostáva takmer celá zachovaná a rozpúšťa sa len na dvoch miestach, kadiaľ vstupujú mikrotubuly deliaceho vretienka, ktorého centrozómy sa nachádzajú v cytoplazme. Napriek tomu, že v učebniciach sa väčšinou stretávame len s popisom otvorenej formy mitózy, uzavretá forma sa vyskytuje u eukaryotov (najmä jednobunkových) častejšie. **Otvorený typ mitózy** majú napr. **suchozemské rastliny a živočíchy** a **uzatvorený typ majú** napr. **kvasinky, euglény, panciernatky (Dinoflagellata) alebo trypanozómy** (Tirjaková, 2010).

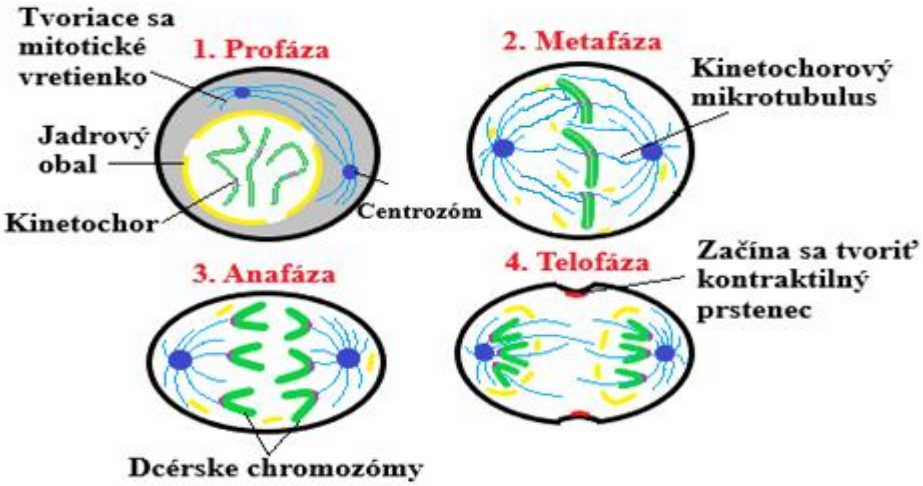
13.3.3.2 Fázy mitózy

Pred začiatkom mitózy musí byť každý chromozóm zreplikovaný a tvorený dvoma identickými chromatídami. Dve chromatídy jedného chromozómu sa nazývajú sesterské. Na začiatku mitózy sú po celej dĺžke spojené proteínmi (kohezínmi). Sesterské chromatídy sa v priebehu mitózy od seba oddeľujú a stávajú sa na sebe nezávislými dcérskymi chromozómami (Alberts a kol., 1998).

Dôležitú úlohu v procese mitózy zohráva tzv. **mitotické vretienko**, ktoré **„ťahá“ sesterské chromatídy od seba k opačným pólom** bunky (v prípade uzavretej mitózy k opačným pólom jadra). Mitotické vretienko bolo vďaka svojej nápadnej štruktúre známe už

pred viac ako sto rokmi. Hoci pozostáva prevažne z mikrotubulov (zložených z tubulínov), na ktoré sú naviazané chromozómy, obsahuje aj množstvo bielkovín, ktorých úloha zahŕňa biochemickú a biofyzikálnu reguláciu mitózy (Maddox a kol., 2012). Mitotické vretienko je teda zodpovedné za rovnomerné rozdelenie genetického materiálu medzi novovznikajúce dcérske bunky (resp. ich jadrá) (Simunić a Tolić, 2016).

Mitózu tvorí sled plynulých udalostí, ktoré možno z didaktických dôvodov rozdeliť na **štyri štádiá – profáza, metafáza, anafáza a telofáza** (obr. 13.8). **Počas profázy dochádza ku kondenzácii chromatínu, chromozómy sa stávajú viditeľnými a začína vznikať mitotické vretienko**. V prometafáze (rozhranie profázy a metafázy) sa v prípade otvorenej mitózy (napr. u rastlín a živočíchov) začína rozpadať jadrový obal, čo vlastne umožňuje naviazanie chromozómov na mikrotubuly vretienka (Nagasaka a kol., 2016). V prípade uzatvorenej mitózy sa vretienko formuje v jadre, prípadne aj okolo neho. Keď sa všetky **chromozómy zhromaždia v ekvatoriálnej rovine** bunky (resp. jadra), nastáva proces nazývaný **metafáza.** V **anafáze** sa obe sesterské **chromatídy** od seba synchronizovane oddeľujú a sú **ťahané mitotickým vretienkom k opačným pólom bunky** (resp. jadra v prípade uzavretej mitózy). V poslednom štádiu **telofázy** sa v prípade otvorenej mitózy znova vytvára jadrový obal okolo každej sady chromozómov a **vznikajú** tak **dve jadrá** (obr. 13.8). V prípade uzavretej mitózy sa dokončuje rozdelenie jadra na dve nové. Mitóza je obyčajne ukončená procesom **cytokinézy – rozdelením bunky na dve dcérske** (Alberts a kol., 1998). V niektorých prípadoch (napr. v prípade niektorých prvokov pri vzniku tzv. plazmódií – mnohojadrových buniek) však môže prebehnúť viacnásobné delenie jadra bez následnej cytokinézy.



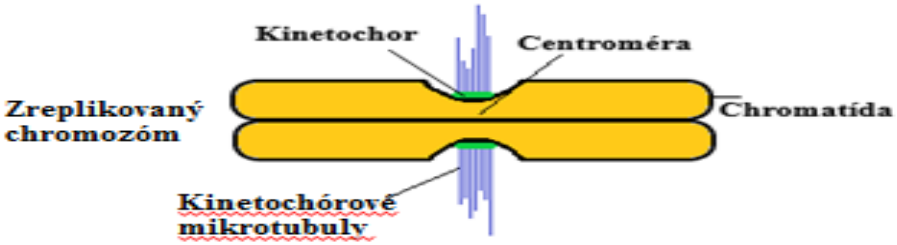
Obr. 13.8. Fázy mitózy na príklade otvorenej mitózy

13.3.3.2.1 Profáza

Ku koncu S-fázy bunka zduplikovala nielen svoju DNA (resp. chromozómy), ale aj svoj **centrozóm** – **mikrotubulové organizačné centrum**, z ktorého vychádzajú mikrotubuly deliaceho vretienka počas mitózy. Ako mikrotubulové organizačné centrá pre bičíky zase slúžia centrioly (resp. bazálne telieska bičíkov), ktoré môžu u mnohých bičíkovcov slúžiť aj ako centrozómy počas mitózy. Oba centrozómy (resp. zduplikované bazálne telieska bičíkov)

je pred začiatkom profázy možné obyčajne pozorovať v blízkosti jadra. Centrozómy (resp. bazálne telieska bičíkov) na začiatku profázy zmenia svoju polohu tak, aby boli situované v blízkosti opačných (protiľahlých) póloch jadra. Počas profázy sa **chromozómy skracujú a zviditeľňujú sa**.

Chromozómy sa pripájajú na mitotické vretienko až v prometafáze, kedy v prípade otvorenej mitózy zaniká aj jadrová membrána. Tzv. kinetochorové mikrotubuly vretienka sa viažu na chromozómy prostredníctvom špeciálnych proteínových komplexov nazývaných **kinetochory** (obr. 13.9). Tieto kinetochory vznikajú na chromozómoch v oblasti **centromér** (miesta zúženia a najpevnejšieho spojenia dvoch chromatíd) počas neskoršej profázy (Winey a Bloom, 2012).



Obr. 13.9. Centroméra, kinetochory a kinetochorové mikrotubuly

13.3.3.2.2 Metafáza

Na začiatku metafázy sú už **všetky chromozómy usporiadané v ekvatoriálnej rovine bunky (alebo jadra) a vytvárajú** tzv. **metafázovú doštičku**. Každý chromozóm má jednu chromatídu pripojenú k mikrotubulom deliaceho vretienka, ktoré vychádza z jedného centrozómu a druhú k mikrotubulom deliaceho vretienka vychádzajúceho z druhého centrozómu. Aj keď nie sú sily, ktoré umožňujú usporiadanie chromozómov do ekvatoriálnej roviny celkom dobre preskúmané, predpokladá sa účasť mikrotubulových motorových proteínov (napr. dyneín), ale aj kontinuálne narastanie a odbúravanie mikrotubulov (tzv. dynamická nestabilita). Neustále pridávanie a strata tubulínových podjednotiek sú potrebné pre udržanie štruktúry vretienka. Chromozómy zoskupené v ekvatoriálnej rovine metafázového vretienka sa neustále pohybujú a upravujú svoju polohu, čo nasvedčuje existencii pnutia medzi mikrotubulmi pripojenými k opačným pólom vretienka aj po vzniku metafáznej doštičky. Ak experimentálne prerušíme spojenie medzi sesterskými chromatídami, obe chromatídy sa od seba oddelia a putujú k opačným pólom bunky. Takéto pokusy dokazujú, že chromozómy v metafázovej doštičke sú držané pod veľkým napätím (Alberts a kol., 1998).

13.3.3.2.3 Anafáza

Presnosť segregácie sesterských chromatíd chromozómov do novovznikajúcich dcérskych buniek (resp. jadier) je nevyhnutná pre udržanie ploidie. Chromatídy sú až do anafázy držané pokope proteínmi. **Jedným z** najznámejších **proteínov, držiacich chromatídy jednotlivých chromozómov spojené až do anafázy, je kohezín**. **Na začiatku anafázy** je spojenie medzi sesterskými chromatídami prerušené proteolytickými enzýmami.

Kohezín **je rozložený proteínom nazývaným separáza**. Na separázu je až do anafázy naviazaný proteín securín, čím jej bráni rozložiť kohezín predčasne. Aktívny APC (anaphase promoting complex) je však na začiatku anafázy zodpovedný za degradáciu securínu, čím sa stane separáza aktívna, rozloží kohezín a **chromatídy jednotlivých chromozómov sa začnú rozchádzať** (Alberts a kol., 1998).

V anafáze sa teda od seba obe chromatídy jednotlivých chromozómov oddeľujú a pohybujú sa smerom k opačným pólom bunky (alebo jadra). Za tento pohyb je z veľkej časti zodpovedné **skracovanie kinetochorových mikrotubulov deliaceho vretienka** – depolymerizácia (odoberanie) tubulínových podjednotiek. Okrem kinetochorových mikrotubulov však z oboch centrozómov vybiehajú aj tzv. **interpolárne mikrotubuly**, ktoré smerujú v metafáze do ekvatoriálnej roviny, ale na chromatídy sa nenapájajú. Ďalší typ mikrotubulov predstavujú tzv. **astrálne mikrotubuly**, ktoré sú v priemere kratšie a hviezdicovito usporiadané okolo centrozómov. Pre správny rozchod chromatíd k opačným pólom sú potrebné všetky tieto typy mikrotubulov (Alberts a kol., 1998).

13.3.3.2.4 Telofáza

Na konci anafázy sú dcérske chromatídy jednotlivých chromozómov rovnomerne rozdelené na opačných póloch bunky (v prípade uzavretej mitózy na opačných póloch jadra). **V prípade uzatvorenej mitózy sa jadro** (a obyčajne aj jadierko) **rozdelí na dve** dcérske jadrá. **Počas telofázy otvorenej mitózy sa okolo každej sady chromozómov vytvára nový jadrový obal a vznikajú dve dcérske jadrá.** Jadrová membrána sa obnovuje pomocou vezikúl derivovaných z ER, ktoré obklopia chromozómy na opačných póloch a neskôr fúzujú za vzniku dvojvrstvového jadrového obalu. V profáze otvorenej mitózy sa na zániku jadrovej membrány účastní fosforylácia proteínov jadrových pórov a jadrových lamín (proteínov podporujúcich jadrovú membránu z vnútra). V telofáze sú proteíny jadrových pórov a lamín zase defosforylované. Lamíny reasociujú pod povrchom obnovujúcej sa jadrovej membrány a obnovuje sa aj štruktúra jadrových pórov. **Kondenzované mitotické chromozómy dekondenzujú do svojho interfázneho stavu a obnovuje sa štruktúra jadierka** (alebo jadierok). Následne sa bunka rozdeľuje na dve dcérske bunky v procese cytokinézy (Alberts a kol., 1998).

13.3.4 Cytokinéza

Cytokinéza je posledný krok v delení eukaryotickej bunky, kedy **vznikajú dve dcérske bunky**. Je to aj fáza, v ktorej sú okrem dvoch dcérskych jadier rozdelené medzi dve dcérske bunky aj ostatné zložky bunky ako cytoskelet, rozpustné cytoplazmatické proteíny, membrány a cytoplazmatické organely (napr. mitochondrie, ER, GA, lyzozómy, peroxizómy a pod.). Cytokinéza obyčajne začína už v anafáze, ale nedokončí sa až do tej chvíle, kým nevzniknú dve dcérske jadrá (Green a kol., 2012).

Zvraštenie plazmatickej membrány a utváranie deliacej ryhy v anafáze sú prvými viditeľnými známkami cytokinézy u živočíšnych buniek. V prípade priečneho delenia (napr. u živočíšnych buniek) je vytvárajúca sa deliaca ryha vždy umiestnená kolmo na pozdĺžnu os mitotického vretienka (Alberts a kol., 1998). Samotná cytokinéza je však pomerne odlišná u rôznych skupín eukaryotov. V prípade rôznych prvokov sa často stretávame aj so pozdĺžnym delením, kedy sa deliaca ryha vytvára pozdĺž pozdĺžnej osi bunky, obyčajne medzi novovzniknutými bičíkmi alebo dvojicami bičíkov (resp. bázami bičíkov). Pokiaľ sú

obidve časti mitotického vretienko medzi polovicami deliacej sa bunky rozložené symetricky, bunka sa rozdelí symetricky. Počas embryonálneho vývoja živočíchov alebo aj v prípade delenia buniek niektorých prvokov môže však dochádzať aj k asymetrickému deleniu. V týchto prípadoch je aj mitotické vretienko rozložené v deliacej sa bunke asymetricky. Následne vznikajú dve bunky, ktoré sa líšia veľkosťou a často tiež aj molekulami, ktoré obsahujú.

Samotné rozdelenie bunky na dve v mnohých prípadoch realizuje tzv. kontraktilný prstenec, ktorý sa tvorí pod povrchom plazmatickej membrány a je s ňou fyzicky spojený. Je tvorený z veľkej miery zo zväzkov aktínových a myozínových vlákien rovnako ako svalové vlákna živočíchov (Miller, 2011). Kontraktilný prstenec sa počas cytokinézy zužuje, čím vytvára spomínanú deliacu ryhu, ktorá začne rozdeľovať bunku na dve (Pollard, 2011).

V prípade rastlinných buniek, buniek húb a niektorých rias a prvokov je nemenej podstatná tvorba novej bunkovej steny medzi dvomi vznikajúcimi bunkami počas cytokinézy. Mechanizmy tvorby novej bunkovej steny sa líšia v závislosti od fylogenetickej skupiny eukaryotov. Napr. v prípade mnohých skupín rias a suchozemských rastlín sa tvorby celulózovej bunkovej steny medzi dvomi dcérskymi bunkami zúčastňujú vezikuly derivované z GA a tzv. fragmoplastové mikrotubuly.

13.3.5 Meióza

Gaméty sú **haploidné bunky** špecializované **na pohlavné rozmnožovanie**, ktoré **obsahujú len jednu sadu chromozómov**. **Somatické (telové) bunky** sú obyčajne **diploidné** a obsahujú **dve sady chromozómov**. V prípade živočíchov pochádza jedna sada chromozómov diploidných buniek od matky a druhá od otca. Spermie a vajíčka živočíchov vznikajú špeciálnym typom bunkového delenia, v ktorom sa **počet chromozómov zníži (zredukuje) na polovicu**. Takýto typ bunkového delenia sa nazýva **meióza (redukčné delenie).** Meiózou sa však môže rozmnožovať aj väčšina jednobunkových eukaryotov. V ich životnom cykle sa teda obyčajne vyskytuje **diploidné a haploidné štádium. Obe tieto štádia sa môžu deliť mitózou, ale iba z diploidnej bunky môžu vznikať meiózou štyri haploidné bunky. Haploidné bunky opačných párovacích typov môžu fúzovať, pričom vzniká diploidná zygota** (Alberts a kol., 1998).

Okrem chromozómov, ktoré v prípade živočíchov určujú pohlavie (pohlavné chromozómy), obsahuje diploidné jadro somatických buniek dve navzájom si veľmi podobné verzie každého chromozómu. Obe verzie chromozómu napriek tomu nie sú úplne geneticky identické. Nesú rôzne varianty tých istých génov. **Chromozómy jedného chromozómového páru diploidnej bunky nazývame homologické chromozómy**. Homologické chromozómy sa vo väčšine prípadov správajú ako chromozómy, ktoré sú na sebe úplne nezávislé. Pred mitózou sa každý chromozóm dokáže zreplikovať a takto zreplikované chromozómy, ktoré sú tvorené dvomi chromatídami sa v metafáze mitózy zoraďujú v ekvatoriálnej rovine. Sesterské chromatídy sa od seba v anafáze oddelia, a tak vzniknú dva chromozómy tvorené jednou chromatídou, z ktorých každá putuje do jednej z dcérskych buniek. Dcérske bunky, ktoré vznikajú mitózou sú genetické identické. V prípade mnohobunkových eukaryotov sa mitózou obyčajne delia iba diploidné somatické bunky a to najmä počas zárodočného vývinu (po vzniku diploidnej zygoty po splynutí haploidných gamét). **V prípade jednobunkovcov sa však mitózou môžu deliť haploidné aj diploidné bunky.**

Keď sa diploidné bunky delia meioticky, vznikajú štyri haplodiné gaméty s polovičným počtom chromozómov, ako mali diploidné bunky. Každá gaméta tak získa kópiu každého chromozómu len od jedného z pôvodných rodičov (resp. starých rodičov) a nikdy nie obidve kópie. **Nakoľko je rozchod chromozómov do gamét počas meiózy**

náhodný, pôvodné chromozómy od dvoch rodičov sa môžu v gamétach ocitnúť náhodne v rôznych kombináciách (Alberts a kol., 1998).

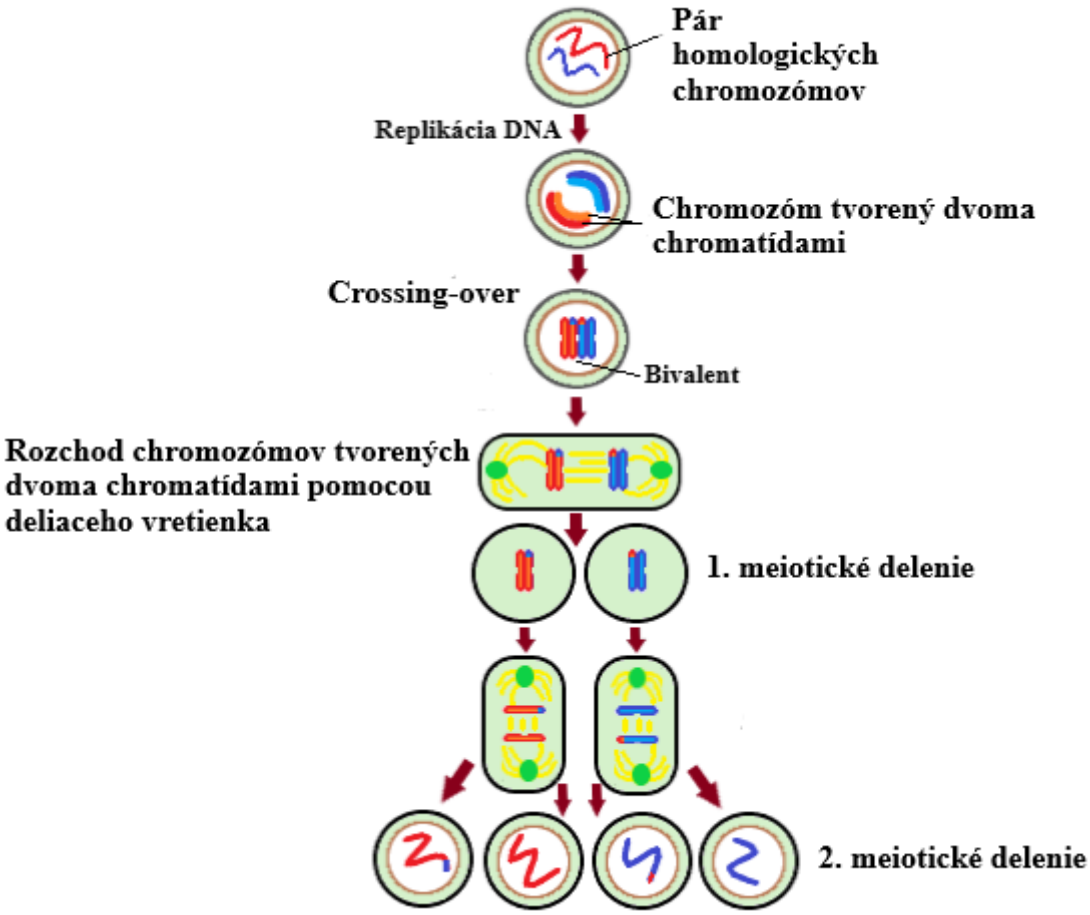
Meióza by sa teoreticky mohla odohrávať jednoduchým variantom mitózy, kedy by pred delením buniek na dve bola vynechaná replikácia DNA v S-fáze. Vtedy by sa nezreplikované homologické chromozómy mohli párovať, potom sa usporiadať v metafáze do ekvatoriálnej roviny a rozísť sa do dvoch dcérskych buniek. Výsledkom rozídenia homologických chromozómov s následnou cytokinézou by bol priamy vznik dvoch haploidných buniek z jednej diploidnej bunky. Skutočná meióza je však oveľa komplikovanejšia. **Skladá sa z dvoch bunkových delení (1. a 2. meiotické delenie)** namiesto jedného (obr. 13.10). Meióza môže trvať oveľa dlhšie ako mitóza. V prípade ľudských oocytov sa druhé meiotické delenie dokončuje až po oplodnení spermiou, takže ukončenie meiózy môže nastať v podstate aj po 50 rokoch od jej začiatku (v zárodočnom vývine osôb ženského pohlavia) (Alberts a kol., 1998).

Meióza môže byť otvorená, kedy jadrová membrána zaniká, a uzavretá, kedy jadrová membrána nezaniká. U jednobunkových eukaryotov prevláda uzavretá meióza. Treba však dodať, že **organizmy, ktoré majú uzavretú mitózu, majú aj uzavretú meiózu a naopak tie, čo majú otvorenú mitózu, majú aj otvorenú meiózu.**

Pred samotným začiatkom meiózy sú rovnako ako pri mitotickom delení všetky chromozómy zreplikované a každý chromozóm je tak tvorený dvomi dcérskymi chromatídami. Pred usporiadaním chromozómov do ekvatoriálnej roviny v metafáze I sa **v profáze prvého meiotického delenia (profáza I) každý zreplikovaný chromozóm páruje so svojím homologickým chromozóm a vzniká štruktúra**, ktorá sa nazýva **bivalent** a **obsahuje štyri chromatídy**. V tomto štádiu **dochádza k výmene úsekov medzi chromozómami jednotlivých párov procesom nazývaným homologická rekombinácia**. Rekombináciou, ako aj následným náhodným rozchodom (segregáciou) otcovských a materských chromozómov v prvom meiotickom delení počas tvorby gamét je zabezpečené, že **žiadna gaméta od toho istého rodiča nie je rovnaká**. Z toho je zrejmé, prečo žiadni z potomkov dvoch rodičov (s výnimkou jednovaječných dvojčiat) nie sú geneticky identickí. Homologické chromozómy sú počas dlhej profázy prvého meiotického delenia držané pokope pomocou tzv. **synaptonemálneho komplexu**.

V prvom meiotickom delení teda dochádza k tvorbe **crossing-overov (prekrížení)** medzi homologickými chromozómami jednotlivých párov. Komplex proteínov, v ktorom hrá kľúčovú úlohu proteín **Spo 11 zahajuje meiotickú homologickú rekombináciu tým, že vytvára dvojvláknové DNA zlomy** (DNA double strand breaks – DSBs). Stabilitu genómu v somatických bunkách má taktiež na starosti homologická rekombinácia tým, že zabezpečuje presnú opravu DSBs vyvolaných pôsobením ionizujúceho žiarenia alebo iných faktorov (Dudás a Chovanec, 2004).

V prvom meiotickom delení sa po homologickej rekombinácii následne od seba **oddeľujú celé homologické chromozómy tvorené dvoma chromatídami a nie chromatídy ako v prípade mitózy**. **Sesterské chromatídy zostávajú spojené počas celého prvého meiotického delenia** a správajú sa ako jedna jednotka. **K redukcii počtu chromozómov (tvorených dvoma chromatídami) na polovicu**, a teda **k rozchodu chromozómov jednotlivých párov do dcérskych buniek dochádza už počas prvého meiotického delenia** (obr. 13.10). **K rozchodu sesterských chromatíd dochádza až v druhom meiotickom delení, ktoré je analogické mitóze**. **Na rozdiel od mitózy pred druhým meiotickým delením už nedochádza k replikácii DNA**. Výsledkom meiózy je tak vznik štyroch geneticky odlišných haploidných gamét z jednej diploidnej bunky. **Po fúzii gamét vzniká zygota s úplne novým usporiadaným génov**.



Obr. 13.10. Meióza

V niektorých prípadoch môže meióza prebiehať abnormálne. Vtedy sa napr. homologické chromozómy od seba nemusia oddeliť. Tento jav sa nazýva nondisjunkcia. Ide o jav, pri ktorom niektoré novovzniknuté haploidné bunky nemajú určitý chromozóm, zatiaľ čo iné majú tento chromozóm nadbytočný. V prípade živočíchov väčšinou embryá, ktoré vznikli zo zygoty po splynutí gamét, z ktorých aspoň jedna má nadbytočný chromozóm, umierajú. Niektoré však dokážu prežiť. U človeka sa napr. vyskytuje Downov syndróm, ktorý je zapríčinený prítomnosťou nadbytočnej kópie chromozómu 21 (trizómia 21. páru chromozómov). Tento jav je zapríčinený tým, že sa počas meiózy nerozíde 21. pár chromozómov, a tak vzniká gaméta ktorá obsahuje dve kópie chromozómu 21 namiesto jednej. Ak pri oplodnení splynie s normálnou gamétou, tak vznikne embryo obsahujúce tri kópie chromozómu 21 namiesto dvoch (Abruzzo a Hassold, 1995).

Literatúra

ABRUZZO, M. – HASSOLD, T. 1995. Etiology of nondisjunction in humans. Environ Mol Mutagen 26, 38-47.

ALBERTS, B. a kol. 1998. Základy buněčné biologie. 1.vyd. Ústí nad Lábem: Espero Publishing.

DUDÁS, A. – CHOVANEC, M. 2004. DNA double-strand break repair by homologous recombination. Mutat Res 566, 131-167.

FROGER, A. – HALL, J. 2007. Transformation of plasmid DNA into *E.coli* using the heat shock method. J Vis Exp (6), 253.
GHIGO, J. M. 2001. Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. Nature 412, 442-445.
GREEN, R. – PALUCH, E. – OEGEMA, K. 2012. Cytokinesis in animal cells. Ann Rev Cell Dev Biol 28, 29-58.
GREEN, R. – ROGERS, E. J. 2013. Transformation of chemically competent *E. coli*. Methods Enzymol 529, 329-336.
JAVOREKOVÁ, S. – MAKOVÁ, J. 2012. Mikrobiológia. Nitra: SPU v Nitre.
JENKINS, C. a kol. 2002. Genes for the cytoskeletal protein tubulin in the bacterial genus *Prosthecobacter*. Proc Natl Acad Sci USA 99, 17049-17054.
MADDOX, P. S. a kol. 2012. Imaging the mitotic spindle. Methods Enzymol 505, 81-103.
MILLER, A. L. 2011. The contractile ring. Curr Biol 21, R976-978.
MOIR, A. – COOPER, G. 2015. Spore germination. Microbiol Spectr 3(6).
MORRISON, S. L. 2001. Transformation of *E. coli* by electroporation. Curr Protoc Immunol 21, Appendix 3.
NAGASAKA, K. a kol. 2016. Sister chromatid resolution is an intrinsic part of chromosome organization in prophase. Nat Cell Biol 18, 692-699.
POLLARD, T. D. 2010. Mechanics of cytokinesis in eukaryotes. Curr Opin Cell Biol 22, 50-56.
SANA, T. G. – LAUBIER, A. – BLEVES, S. 2014. Gene transfer: conjugation. Methods Mol Biol 1149, 17-22.
SIMUNIĆ, J. – TOLIĆ, I. M. 2016. Mitotic spindle assembly: Building the bridge between sister k-Fibers. Trends Biochem Sci 41, 824-833.
TIRJAKOVÁ, E. 2010. Protistológia. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave.
WINEY, M. – BLOOM, K. 2012. Mitotic spindle form and function. Genetics 190, 1197-1224.
YEE, B. a kol. 2007. A canonical FtsZ protein in *Verrucomicrobium spinosum*, a member of the bacterial phylum Verrucomicrobia that also includes tubulin-producing *Prosthecobacter* species. BMC Evol Biol 7, 37.
YUTIN, N. – KOONIN, E. V. 2012. Archaeal origin of tubulins. Biol Direct 7, 10.

14 VÍRUSY A INÉ NEBUNKOVÉ „ORGANIZMY“

Diana Lihanová, Matej Vesteg

Medzi **nebunkové organizmy** patria mikroorganizmy, prípadne len makromolekuly, ktoré **nemajú štruktúru** prokaryotických ani eukaryotických **buniek**, ale sú schopné sa vo vhodných hostiteľkách bunkách rozmnožovať. **Ich rozmnožovanie je bezprostredne viazané na bunky** a nikdy nie sú schopné sa reprodukovať mimo nich. Chýba im teda schopnosť autoreprodukcie bez vhodného hostiteľa. Hostiteľskou bunkou môže byť bunka živočíšna, rastlinná i mikrobiálna. Všetkým nebunkovým mikroorganizmom chýbajú aj ďalšie znaky typické pre bunky, ako je napr. energetický metabolizmus alebo schopnosť translácie. Jedná sa spravidla o najmenšie organizmy, ktorých veľkosť sa pohybuje v desiatkach až stovkách nanometrov. Patria sem **vírusy, viroidy, virusoidy a prióny** (Javoreková a Maková, 2012). Táto kapitola je prevažne venovaná najrozšírenejšej a najrozmanitejšej skupine nebunkových mikrorganizmov, ktorými sú vírusy. Viroidy, virusoidy a prióny sú stručne charakterizované v závere tejto kapitoly.

Vírusová častica sa nazýva **virión**. **Virióny sú tvorené nukleovými kyselinami (DNA alebo RNA), ktoré sú obalené molekulami bielkovín**. Bielkoviny sa zoskupujú do štruktúrnych podjednotiek, tzv. kapsomér. Všetky **kapsoméry** spolu **tvoria** štruktúrnu jednotku, tzv. **kapsid** – **obal vírusu**, **na ktorom môžu byť naviazané i lipidy, sacharidy a/alebo glykoproteíny**. Funkcia obalu je ochranná, ale kapsid má tiež funkciu v procese adsorpcie (priľnutia) na hostiteľskú bunku. **Nukleová kyselina** (vírusový genóm) **nesie** len **genetickú informáciu pre syntézu proteínov nutných pre vlastnú reprodukciu vo vnútri bunky a pre syntézu proteínov kapsidu**. DNA je najčastejšie dvojvláknová, ale môže byť aj jednovláknová a RNA je častejšie jednovláknová, ale môže byť aj dvojvláknová. Genómová DNA môže byť lineárna alebo uzavretá do kruhu. Vírusové genómy môžu byť nesegmentované (celistvé) alebo segmentované (rozdelené na viacero častí).

Na nukleovú kyselinu pripadá 5-50% hmotnosti vírusu, zvyšok tvoria proteíny kapsidu. Niektoré, najmä väčšie vírusy môžu mať okrem proteínov kapsidu aj tzv. plášť, ktorý je obyčajne lipoproteínovej povahy. Tieto vírusy sa nazývajú obalené vírusy a ich obal nesie niekoľko kópií molekulovej štruktúry, ktorou sa virióny viažu na hostiteľskú bunku. **Vírusy neobsahujú cytoplazmu, ribozómy, membránové organely** ani ďalšie bunkové štruktúry, ktoré sú bežné pre bunky. Líšia sa od iných mikroorganizmov nielen malými rozmermi, ktoré sa pohybujú od cca 20 nm do cca 1 μm, ale aj svojou biologickou povahou. Nie sú schopné samostatného rastu a delenia, nemajú enzymatické vybavenie pre zaistenie základných životných funkcií a hlavne nemajú vlastný proteosyntetický aparát, ktorý by ich genetickú informáciu prekladal do proteínov, ani aparát metabolický, ktorý by produkoval energiu vo forme ATP nutnú pre autoreprodukciu. Toto všetko môže vírusom poskytnúť iba hostiteľská bunka, či už prokaryotická alebo eukaryotická (Bednář a kol., 1996).

14.1 Pôvod vírusov

Pôvod vírusov je nejasný aj z toho dôvodu, že nevytvárajú fosílie. Vírusy a ich evolúciu však možno študovať metódami molekulovej biológie a fylogenetiky (Sanjuán a kol., 2010). Vírusový genetický materiál sa môže včleniť do zárodočnej línie hostiteľských organizmov, čo znamená, že sa dokáže prenášať po mnoho generácií na potomstvo hostiteľa.

Vírusy sú schopné sprostredkovať aj prenos génov medzi príbuznými i nepríbuznými organizmami (tzv. horizontálny génový transfer). Najznámejšie sú tri hypotézy, ktoré vysvetľujú pôvod vírusov (Shors, 2008; Collier a kol., 1998).

Regresívna hypotéza predpokladá, že vírusy boli kedysi malé bunky, ktoré parazitovali na väčších bunkách. V evolúcii sa ale stratili gény, ktoré neboli pre prežitie týchto parazitov nevyhnutné. Baktérie ako *Rickettsia* sp. a *Chlamydia* sp. sú parazity, ktoré sa podobne ako vírusy môžu rozmnožovať len vo vnútri hostiteľských buniek. Ich existencia by mohla podporovať túto hypotézu, pretože ako obligátne parazity stratili množstvo génov, ktoré ich príbuzným voľne žijúcim baktériám umožňujú prežiť bez hostiteľskej bunky. Hypotéza je tiež známa ako hypotéza degenerácie (Dimmock a kol., 2007) alebo redukčná hypotéza (Mahy a kol., 2009).

Úniková hypotéza predpokladá, že niektoré vírusy sa mohli vyvinúť z kúskov DNA alebo RNA, ktoré „unikli“ z genómov bunkových organizmov (Mahy a kol., 2009). Vírusová DNA a RNA by mohla pochádzať aj z plazmidov (kúskov nahých nukleových kyselín, ktoré si môžu bunky odovzdávať) alebo transpozónov (molekuly DNA, ktoré sa replikujú a pohybujú po rôznych miestach genómov bunkových organizmov) (Shors, 2008). Transpozóny (označované aj ako skákajúce gény) sú príkladom mobilných genetických elementov, z ktorých mohli vzniknúť niektoré vírusy. Boli objavené v kukurici Barbarou McClintockovou v roku 1950 (McClintock, 1950).

Koevolučná hypotéza sa po anglicky nazýva aj „virus-first“ (Mahy a kol., 2009), čo naznačuje, že vírusy tu boli od pradávna. Vírusy sa mohli vyvinúť z komplexných molekúl proteínov a nukleových kyselín súčasne s bunkami, ktoré sa prvýkrát objavili na Zemi a po čase sa na nich stali úplne závislé. Existuje aj hypotéza tzv. RNA sveta, podľa ktorej prvé formy života boli samoreplikujúce sa a zároveň katalytické molekuly RNA, ktoré mohli v mnohých atribútoch pripomínať vírusy. Neskôr DNA prebrala funkciu replikátorov a bielkoviny funkciu katalyzátorov v prvých bunkách. Existuje aj hypotéza, že prvé bunky boli založené na RNA a v tranzícii do DNA-bielkovinového sveta zohrali kritickú rolu práve DNA vírusy napádajúce prvé bunky s RNA genómami (Forterre, 2006).

Všetky tieto tri hypotézy majú svoje úskalia. Regresívna hypotéza nevysvetľuje, prečo sa ani tie najmenšie bunkové parazity nijako nepodobajú vírusom. Úniková hypotéza nedokáže vysvetliť zložitosť kapsidov ani iných štruktúr vírusových častíc, ktoré sa v bunkách nevyskytujú. Koevolučná hypotéza je v rozpore s definíciou vírusov o tom, že striktne vyžadujú hostiteľské bunky pre svoju reprodukciu. Vírusy sa v súčasnosti najčastejšie považujú za starobylé a ich pôvod s najväčšou pravdepodobnosťou predchádzal diverzifikácii buniek na tri domény (Bacteria, Archaea a Eukarya) (Mahy a kol., 2009).

14.2 Štruktúra vírusov

Vírusy môžu mať rozmanité genómy, povrchové štruktúry a tvary. Vo všeobecnosti sú vírusy menších rozmerov ako jednobunkovce. Priemerné rozmery väčšiny študovaných vírusov sa pohybujú od 20 do 300 nm. Prevažná časť vírusov sa nedá vidieť pod optickým mikroskopom, takže sa na ich vizualizáciu používajú elektrónové mikroskopy (Collier a kol., 1998).

14.2.1 Typy vírusových genómov

Vírusy rozdeľujeme podľa typu nukleovej kyseliny, ktorú obsahujú na **RNA a DNA vírusy**. Veľkosť genómu sa značne odlišuje medzi jednotlivými vírusmi. RNA vírusy majú

zvyčajne menšie genómy ako DNA vírusy. Dôvodom môže byť väčšia chybovosť počas replikácie RNA vírusov ako v prípade DNA vírusov (Sanjuán a kol., 2010). Replikačné enzýmy DNA vírusov (najmä dvojvláknových) pracujú s vyššou presnosťou ako RNA vírusov (Pressing a Reanney, 1984). Len v niektorých prípadoch sa miera frekvencie mutácií (chýb pri replikácii) jednovláknových DNA vírusov môže priblížiť tej, aká sa vyskytuje u jednovláknových RNA vírusov (Duffy a Holmes, 2009). **RNA vírusy majú** teda spravidla **vyššiu mutačnú rýchlosť** a menia sa preto rýchlejšie ako DNA vírusy.

Vírusový genóm môže byť **cirkulárny** alebo **lineárny**. V prípade DNA vírusov je tvorený buď **dvojvláknovou DNA (dsDNA)**, alebo menej často **jednovláknovou DNA (ssDNA)** (napr. Parvoviridae). Väčšina vírusov sú **RNA vírusy**, ktoré môžu byť zriedkavejšie **dvojvláknové (dsRNA)** (napr. Reoviridae), ale väčšinou sú **jednovláknové (+)ssRNA** alebo **(-)ssRNA** (Collier a kol., 1998).

(+)ssRNA je RNA vo funkcii mRNA (messenger RNA) a môže byť **po prieniku do bunky priamo prekladaná na ribozómoch** do príslušných polypeptidov. **(-)ssRNA nemôže byť po vstupe do bunky hneď prekladaná do proteínov**, ale **musí byť najprv prepísaná do podoby (+)ssRNA** vírusovou RNA závislou RNA-polymerázou, ktorá je integrálnou súčasťou viriónu (Stančeková a Stanček, 2006).

Niektoré vírusy nemajú súvislý genóm, ale je tvorený viacerými segmentami. Pre tieto vírusy je typické to, že vynikajú značnou premenlivosťou a v prírode sa vyskytujú často v mnohých biologicky a antigénne odlišných formách. Segmentovaný genóm majú napr. RNA vírusy z čeľadí Orthomyxoviridae, Bunyaviridae a Reoviridae.

Existujú ešte aj RNA vírusy nazývané **retrovírusy (napr. HIV)**, ktoré **kódujú enzým reverznú transkriptázu, pomocou ktorej vedia prepísať RNA do DNA a DNA následne vložiť do genómu hostiteľa**. Aj mnohé DNA vírusy vedia v mnohých prípadoch vložiť svoju DNA do genómu hostiteľskej bunky.

Obsah nukleovej kyseliny vo virióne je úmerný zložitosti a veľkosti častice. Počet báz tvoriacich genóm sa udáva v tisíckach bázových párov (kb) (Bednář a kol., 1996). V priemere sa **veľkosť vírusových genómov** pohybuje v rozmedzí **3-250 kb**.

14.2.2 Proteínový obal vírusov – kapsid

Nukleová kyselina vírusového genómu na seba viaže rôzne proteíny, ktoré sú kódované vírusovým genómom. V dôsledku obmedzeného množstva informácii uložených v genóme sa jedná spravidla o niekoľko polypeptidov, ktoré sa k sebe navzájom viažu na základe chemických a fyzikálnych afinít a autoagregáciou vytvárajú okolo genómu **proteínový plášť vírusu – kapsid**. Vírusové **kapsidy sa vyznačujú symetrickým usporiadaním**. U živočíšnych vírusov spravidla rozlišujeme **helikálnu** alebo **kubickú symetriu**.

Virióny s helikálnou symetriou sú **tvorené proteínovými molekulami** (štrukturálnymi jednotkami), **ktoré sa začleňujú do špirály pozdĺž vlákna vírusovej nukleovej kyseliny**. Tento typ kapsidu sa často vyskytuje u mnohých RNA vírusov. Príkladom helikálnej symetrie sú častice vírusu tabakovej mozaiky (*Tobacco mosaic virus*). Virióny tohto vírusu sú tyčinkovitého tvaru s priemerom 10 nm a dĺžkou 300 nm. (Navrátil, 2011).

Kubická symetria je charakteristická pre väčšinu DNA vírusov a niektoré RNA vírusy. **Virión má tvar dvadsaťstenu (ikozaeder)** s tromi osami symetrie. Vzniká autoagregáciou kapsomér dvojakého typu: **pentóny**, ktoré **tvoria dvanásť vrcholov dvadsaťstenu** a **hexóny tvoriace jeho steny**. Pentóny sú tvorené piatimi a hexóny šiestimi do kruhu spojenými totožnými molekulami polypeptidov (viď obr. 14.1).

Obr. 14.1. Štruktúra stavebných prvkov kapsidov kubickej symetrie – hexónov (vľavo) a pentónov (vpravo).

Niektoré vírusy majú štruktúru, ktorá je odlišná od spomínaných schém. Ako príklad možno uviesť príslušníkov čeľade Reoviridae, ktorí majú kapsid dvojvrstvový skladajúci sa z vnútornej a vonkajšej vrstvy proteínov. Medzi vírusy s najkomplexnejšou štruktúrou kapsidov patria bakteriofágy (vírusy baktérií). Ich kapsid sa skladá z hlavičky obsahujúcej nukleovú kyselinu a chvosta, ktorý je morfologicky členený na ďalšie časti (viď kapitola 14.5.1).
Okrem proteínov kapsidu sa na vírusovú nukleovú kyselinu môžu viazať rôzne ďalšie vírusové polypeptidy s enzymatickou alebo regulačnou aktivitou alebo proteíny hostiteľského pôvodu, ktorými sú napr. históny v prípade vírusov eukaryotov. Tieto proteíny spolu s nukleovou kyselinou tvoria vnútro viriónu (dreň) (Bednář a kol., 1996).

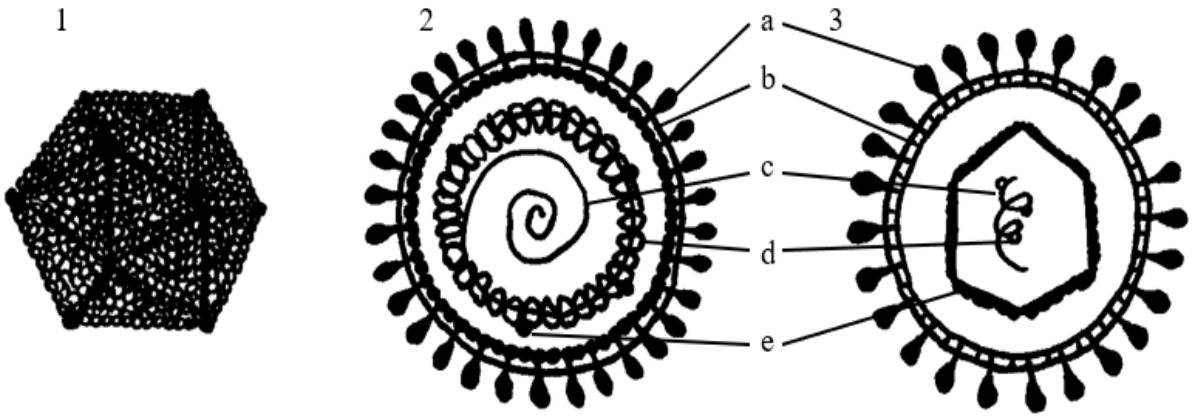
14.2.3 Ďalšie obalové štruktúry vírusov

Neobalené (nahé) vírusy neobsahujú okrem proteínového kapsidu žiadne ďalšie obalové štruktúry. Sú rezistentné voči tukovým rozpúšťadlám (napr. éteru) a sú tiež relatívne odolné voči vonkajším podmienkam. Prenos infekcie sa uskutočňuje buď priamym kontaktom so zdrojom nákazy alebo prostredníctvom styku s kontaminovanými predmetmi, potravinami alebo vodou (Navrátil, 2011).

Niektoré typy vírusov (tzv. **obalené vírusy**), majú proteínový **kapsid** ešte **pokrytý ďalšími povrchovými štruktúrami – lipidovou membránou**, **do ktorej sú vnorené proteíny, prípadne glykoproteíny**. Lipidová dvojvrstva (membrána) je hostiteľského pôvodu. Niektoré vírusy majú na vnútornej strane lipidovej dvojvrstvy proteín, ktorý viaže obal k nukleokapsidu. Tento proteín sa nazýva membránový alebo matrix (M) proteín a je špecifický pre rôzne druhy vírusov. Na povrchu obalu možno v mnohých prípadoch pozorovať výbežky, ktoré sú tvorené biologicky aktívnymi glykoproteínmi (obr. 14.2). Bázy výbežkov prestupujú membránou a viažu sa s M-proteínom alebo sú ukotvené svojimi hydrofóbnymi koncami v lipidovej membráne. Ich hlavná funkcia spočíva v adsorpcii viriónov na povrch buniek, ale môžu plniť aj rôzne iné funkcie. Niektoré obalené vírusy (napr. *Orthomyxovirus*) môžu mať vláknitý nukleokapsid (kapsid obsahujúci genóm) pod povchom lipidového obalu rôzne stočený (Navrátil, 2011).

Obalené vírusy sú vo všeobecnosti labilnejšie a citlivejšie voči fyzikálnym a chemickým vplyvom ako neobalené vírusy. Dajú sa ľahko rozložiť éterom alebo inými tukovými rozpúšťadlami. V žalúdku sú inaktivované kyslým pH, preto sa bežne nedostanú do

ostatných častí tráviaceho traktu. Infekcia sa väčšinou prenáša priamym stykom so zdrojom nákazy, najčastejšie kvapôčkovou infekciou (Bednář a kol., 1996).



Obr. 14.2. Niektoré typy štruktúry viriónov. *1 – neobalený vírus s kubickou symetriou; 2 – obalený vírus s helikálnou symetriou, a – povrchové glykoproteíny, b – lipidový obal s membránovým proteínom, c – nukleová kyselina, d, e – proteínové podjednotky kapsidu; 3 – obalený vírus s kubickou symetriou, a – povrchové glykoproteíny, b – lipidová membrána, c – nukleová kyselina, d – proteíny viažúce sa na nukleovú kyselinu, e – kapsid*

14.3 Klasifikácia vírusov

Vírusy možno klasifikovať do rôznych skupín na základe ich podobností a evolučnej príbuznosti. V roku 1962 André Lwoff, Robert Horne a Paul Tournier navrhli systém klasifikácie vírusov založený na systematických koncovkách Carla von Linného (Lwoff a kol., 1962). Podľa tohto systému sa jednotlivé rody a druhy vírusov taxonomicky zaraďujú do kmeňov, podkmeňov, radov, podradov, čeľadí a podčeľadí.

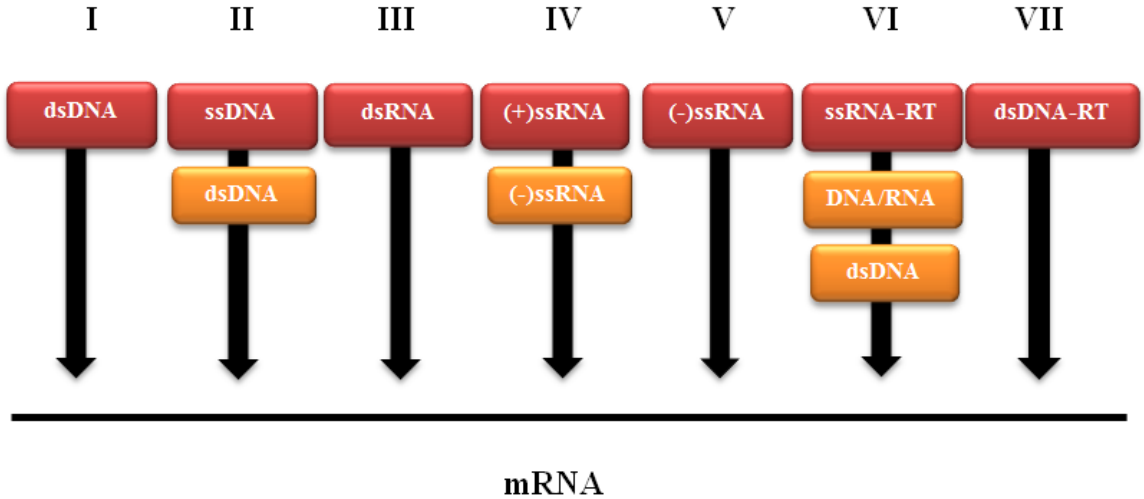
Medzi fenotypové vlastnosti využívané v klasifikácii vírusov patria najmä typ nukleovej kyseliny, morfológia vírusových obalov, spôsob replikácie, hostiteľské organizmy a typ ochorenia, ktoré spôsobujú. Najaktuálnejší systém klasifikácie vírusov je systém medzinárodnej komisie pre taxonómiu vírusov („*The International Committee on Nomenclature of Viruses*“ – ICTV), ktorý využíva Linného taxonomické kategórie, pričom v súčasnosti je z veľkej časti založený najmä na fylogenetických analýzach. Pre didaktické účely je však zrejme vhodnejší **systém klasifikácie podľa Davida Baltimora**, ktorý **rozdeľuje vírusy do siedmych skupín na základe typov ich genómov, spôsobov ich replikácie a expresie** (Baltimore, 1971). Podľa tejto klasifikácie rozďeľujeme vírusy na skupiny (obr. 14.3):

I. **dsDNA vírusy** (napr. adenovírusy, herpesvírusy, poxvírusy)
II. **ssDNA vírusy** (napr. parvovírusy)
III. **dsRNA vírusy** (napr. reovírusy)
IV. **(+)ssRNA vírusy** (napr. picornavírusy, togavírusy)
V. **(-)ssRNA vírusy** (napr. orthomyxovírusy, rhabdovírusy)
VI. **ssRNA-RT vírusy** (napr. retrovírusy)
VII. **dsDNA-RT vírusy** (napr. hepadnavírusy)

14.3.1 Skupina I – dsDNA vírusy

Do tejto skupiny patria **dvojvláknové (double stranded) dsDNA vírusy**. Organizácia genómu je u rôznych vírusov z tejto skupine do značnej miery odlišná. Niektoré majú genómy lineárne (napr. Adenoviridae, Herpesviridae a niektoré fágy), iné kruhové (napr. Baculoviridae, Papovaviridae a Polydnaviridae). Niektoré lineárne dsDNA vírusy majú genómy s kovalentne uzavretými koncami (napr. Phycodnaviridae a Poxviridae). Vyskytujú sa tu aj čeľade s cirkulárne permutovanými lineárnymi genómami (bakteriofág T4 a niektoré Iridoviridae). Ďalšie majú lineárne genómy s kovalentne uzavretými koncami (Poxviridae a Phycodnaviridae). Niektoré eukaryotické dsDNA vírusy majú pomerne veľké genómy (napr. nukleocytoplazmatické vírusy zo skupiny Megavirales), ktoré môžu mať veľkosť aj viac ako 1 Mb (viac ako niektoré baktérie) a kódovať aj viac ako 1000 rôznych proteínov (Colson a kol., 2012).

Do tejto skupiny patrí napr. aj rad Caudovirales, ktorý zahrňuje vírusy baktérií s komplexnou stavbou ako napr. **bakteriofág T4** alebo **bakteriofág λ**, ale aj viaceré vírusy archeónov. Skupiny **Herpesviridae, Adenoviridae a Poxviridae** zahŕňajú **významné patogény živočíchov a človeka**.



Obr. 14.3. Baltimorova klasifikácia vírusov podľa typov genómov a spôsobov ich replikácie a expresie. *ss – jednovláknová nukleová kyselina; ds – dvojvláknová nukleová kyselina; (+)ssRNA – jednovláknová RNA s pozitívnou polaritou („sense“) vo funkcii mRNA, ktorá môže byť po vstupe do bunky hneď prekladaná do proteínov; (-)ssRNA – jednovláknová RNA s negatívnou polaritou („antisense“), ktorá nemôže byť po vstupe do bunky hneď prekladaná do proteínov, ale musí sa najprv prepísať do (+)ssRNA; RT – tieto vírusy kódujú enzým nazývaný reverzná transkriptáza, ktorá realizuje prepis RNA do DNA (tzv. reverzná transkripcia).*

14.3.2 Skupina II – ssDNA vírusy

ssDNA vírusy obsahujú vo virióne **jednovláknovú DNA (single stranded) ssDNA**. Prvý bakteriofág, u ktorého bola dokázaná prítomnosť jednovláknovej DNA, bol **fág ϕX174** (Sinsheimer, 1959). Hoci väčšina známych DNA vírusov obsahuje dvojvláknovú DNA,

posledné výskumy environmentálnych sekvencií ukazujú, že ssDNA vírusy môžu byť veľmi bohato zastúpené v oceánoch (Labonté a Suttle, 2013), sladkých vodách a tiež v extrémnych prostrediach.

Patria sem napr. bakteriofágy z čeľade Microviridae, ktoré napádajú enterobaktérie a intracelulárne parazitické baktérie (Roux a kol., 2012). ssDNA vírusy z čeľade Parvoviridae napádajú živočíchov a človeka.

14.3.3 Skupina III – dsRNA vírusy

Dvojvláknové (double stranded) dsRNA vírusy sú rozmanitou skupinou vírusov, ktoré sa značne líšia v okruhu svojich hostiteľov (ľudia, zvieratá, rastliny, huby a baktérie), počte segmentov genómu (jeden až dvanásť) a organizácii viriónov. Charakteristickým znakom dsRNA vírusov je ich schopnosť transkripcie genómu za vhodných podmienok priamo v kapside. Enzýmy potrebné na transkripciu RNA genómu sa teda nachádzajú priamo vo vnútri viriónu (Patton, 2008).

Z čeľadí, ktoré sem patria, je najväčšia a najrozmanitejšia čeľaď z hľadiska rozsahu hostiteľa **Reoviridae**. Genómy týchto vírusov pozostávajú z 10 až 12 segmentov dsRNA, z ktorých každý najčastejšie kóduje len jeden proteín. Zrelé virióny sú neobalené. Ich kapsidy, ktoré sú tvorené viacerými proteínmi, majú ikozaedrálnu symetriu. Členmi tejto skupiny sú rotavírusy, ktoré spôsobujú gastroenteritídu u malých detí a vírus modrého jazyka (*bluetongue virus*), ktorý je ekonomicky dôležitým patogénom dobytka a oviec (Patton, 2008).

14.3.4 Skupina IV – (+)ssRNA vírusy

Jednovláknové (single stranded) ssRNA vírusy môžu mať pozitívnu alebo negatívnu polaritu. V prípade **(+)ssRNA vírusov môže vírusová RNA slúžiť ako mRNA a môže byť po vniknutí do hostiteľskej bunky priamo prekladaná do proteínov**.

Medzi (+)ssRNA vírusy človeka patria napr. **detská obrna, kliešťová encefalitída, vírus hepatitídy C**, koronavírusy SARS a MERS spôsobujúce respiračné ochorenia, ako aj menej klinicky závažné patogény, ako sú rhinovírusy, ktoré spôsobujú bežné prechladnutie (Modrow, 2013). V prípade **suchozemských rastlín** je to **najviac zastúpená skupina vírusov** (napr. **vírus tabakovej mozaiky**) (Saxena a Lomonossoff, 2014). Hostiteľmi (+)ssRNA vírusov môžu byť aj eukaryotické mikroorganizmy, bezstavovce, stavovce a zriedkavo aj baktérie (bakteriofágy z čeľade Leviviridae).

14.3.5 Skupina V – (-)ssRNA vírusy

Jednovláknová (single stranded) vírusová RNA s negatívnou polaritou (-) je komplementárna k mRNA a musí byť pred transláciou prepísaná na pozitívnu RNA pomocou vírusovej RNA polymerázy. Purifikovaná negatívna RNA teda nie je sama o sebe infekčná (Baltimore, 1971).

Tieto vírusy sú schopné infikovať článkonožce, stavovce aj rastliny. Príkladmi ľudských vírusov z tejto skupiny sú **vírus Eboly** z čeľade Filoviridae, **vírusy osýpok a príušníc** (mumps) z čeľade Paramyxoviridae, **vírus besnoty** z čeľade Rhabdoviridae a **vírus chrípky** z čeľade Orthomyxoviridae (Mihindukulasuriya a kol., 2009).

14.3.6 Skupina VI – ssRNA-RT vírusy

Jednovláknové ssRNA vírusy s pozitívnou polaritou a DNA replikačným medziproduktom sa nazývajú retrovírusy. Akonáhle retrovírus prenikne do hostiteľskej bunky, **využije svoj vlastný enzým reverznú transkriptázu na reverzný prepis svojho genómu z RNA do DNA**. Je to proces, ktorý **porušuje centrálnu dogmu molekulovej biológie**, ktorá hovorí o tom, že len DNA sa môže prepisovať do mRNA a mRNA sa môže prekladať do proteínov, pričom opačným smerom sa tento proces nemôže realizovať. Práve štúdium retrovírusov objasnilo, že je v živých systémoch možné prepísať aj RNA do DNA. **DNA vzniknutá reverznou transkripciou sa môže začleniť do genómu hostiteľskej bunky pomocou enzýmu** nazývaným **integráza**. **Vírusová DNA začlenená do génomu** hostiteľa sa označuje ako **provírus** (podobne ako aj v prípade DNA vírusov). Vírusová DNA sa takto môže replikovať spoločne s hostiteľským genómom. Hostiteľská bunka taktiež môže prepisovať a prekladať vírusové gény a produkovať proteíny aj (+)ssRNA potrebné pre zostavenie nových kópií vírusu. Vírus po vložení do genómu však nemusí byť hneď prepisovaný a môže dlho pretrvávať v neaktívnom stave. V tomto štádiu je pomerne ťažké ho identifikovať.

Do skupiny (+)ssRNA-RT vírusov patria čeľade Belpaoviridae, Metaviridae, Pseudoviridae a Retroviridae. Do čeľade Retroviridae patrí napr. **vírus HIV** (Kurth a Bannert, 2010).

14.3.7 Skupina VII – dsDNA-RT vírusy

Hoci sa **v ich infekčných viriónoch nachádza dsDNA** (prípadne z časti ds a z časti ssDNA), **nepovažujú sa za vírusy dsDNA, ale skôr reverzné transkripčné vírusy, pretože sa replikujú prostredníctvom RNA medziproduktu. RNA medziprodukt sa reverznou transkripciou opäť prepisuje do DNA.** Zahŕňa čeľade Hepadnaviridae a Caulimoviridae. Pre túto skupinu sa používa aj termín **„pararetrovírusy“** (Khan a Dijkstra, 2002).

14.4 Rozmnožovanie vírusov

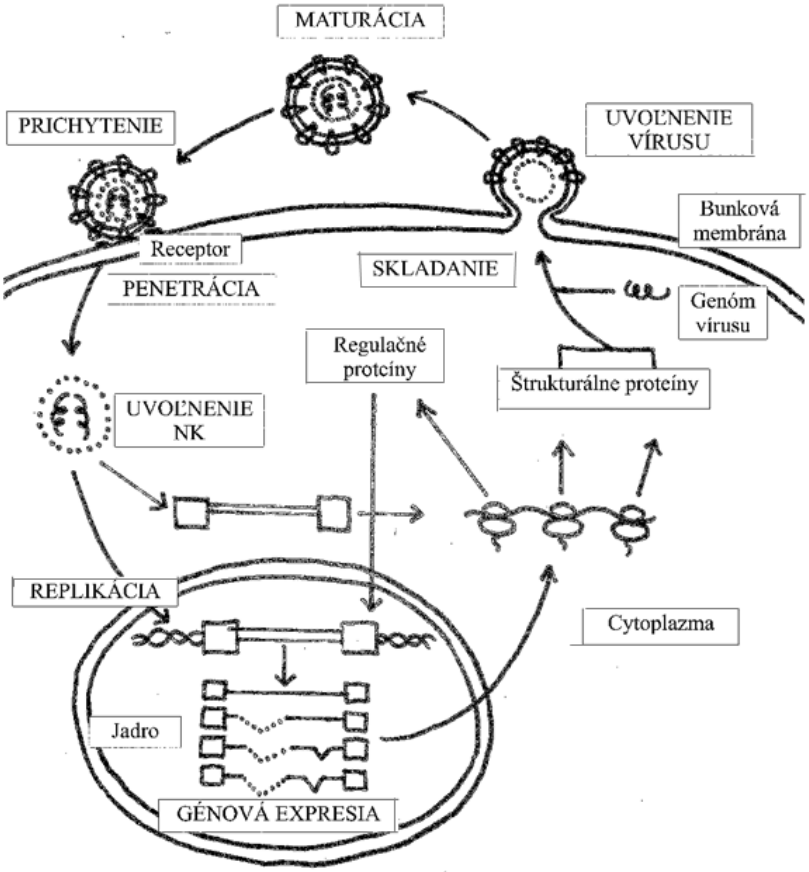
Ako už bolo spomínané, vírusy na svoju reprodukciu potrebujú živú hostiteľskú bunku prokaryotov, jednobunkových eukaryotov, húb, rastlín alebo živočíchov. Virión najjednoduchších vírusov je tvorený len malou nukleovou kyselinou a asociovaným proteínovým plášťom. Zložitejšie veľké vírusy kódujú väčší počet proteínov ako menšie štruktúrne jednoduchšie vírusy. Vonkajší obal zložitejších vírusov tvorí lipidová membrána s integrálnymi glykoproteínmi a tiež obsahujú reprodukčné enzýmy. Životný cyklus vírusov trvá v priemere od 30 minút až po niekoľko dní, či rokov. Za začiatok cyklu sa považuje vstup vírusu do bunky a cyklus sa končí uvoľnením nových vírusových častíc, ktorých vzniknú v jednej bunke tisíce až milióny.

Replikácia vírusov prebieha v niekoľkých po sebe nasledujúcich **krokoch**:

1. **Adsorpcia viriónu na povrch hostiteľskej bunky**
2. **Prienik (penetrácia) viriónu** (prípadne len nukleovej kyseliny) **do bunky**
3. **Rozrušenie viriónu a uvoľnenie vírusovej nukleovej kyseliny** (len ak vniká do bunky celý virión)

4. **Expresia (transkripcia a translácia) vírusových génov a replikácia vírusového genómu**
5. **Skladanie a maturácia** (zrenie) **viriónov**
6. **Uvoľnenie zrelých viriónov z bunky**

Začiatok infekcie prebieha **adsorpciou (priľnutie) viriónu na povrch hostiteľskej bunky pomocou kapsidových proteínov alebo špecifických glykoproteínov vonkajšieho obalu**. **Proteíny vírusov nachádzajúce sa na ich povrchu sa viažu na receptory, ktoré sa nachádzajú na bunkovom povrchu.** Bunka nemôže byť napadnutá bez zodpovedajúceho receptora. Receptory, ktoré využívajú vírusy, sú rôzne skupiny molekúl a ich komplexov, prevažne proteínov, lipidov, lipoproteínov, oligosacharidov a glykoproteínov. Receptory majú väčšinou pre bunky inú prirodzenú funkciu, napr. viažu ligandy, ktoré sprostredkúvajú endocytózu alebo rozpoznávajú iné bunky. Priebeh adsorpcie je špecifický pre rôzne vírusy a ich hostiteľské bunky, ale môže ho ovplyvňovať napr. pH, prostredie, vek a fyziologický stav buniek a koncentrácia Mg^{2+}, Ca^{2+}, Na^{+} a K^{+} iónov (Navrátil, 2011).



Obr. 14.4. Príklad životného cyklu niektorých eukaryotických vírusov *(upravené podľa Stančeková a Stanček, 2006)**.** Mnohé eukaryotické vírusy pre svoju replikáciu vyžadujú, aby ich nukleová kyselina vstúpila do jadra, kde sa môže v niektorých prípadoch aj včleniť do jadrového genómu eukaryotickej bunky. Replikácia iných eukaryotických vírusov prebieha v cytoplazme. V prípade vírusov prokaryotov prebieha replikácia vírusov výhradne v cytoplazme, keďže prokaryoty jadro nemajú. Syntéza vírusových proteínov prebieha v prípade všetkých vírusov výhradne v cytoplazme na ribozómoch hostiteľskej bunky.*

Po pripojení viriónu na hostiteľskú bunku nasleduje **penetrácia – proces prieniku víriónu alebo iba vírusového genómu do bunky**. Vírusy s lipidovým obal môžu vstúpiť do bunky napr. fúziou membrány vírusu s membránou bunky. **Mnohé eukaryotické vírusy vstupujú do buniek endocytózou**. Využívajú pritom receptory eukaryotických buniek, ktoré sprostredkúvajú endocytózu. Po prieniku viriónu do bunky nasleduje degradácia kapsidu vírusovými alebo hostiteľskými enzýmami, prípadne len jednoduchou disociáciou molekúl kapsidu, čím sa uvoľňuje z viriónu vírusový genetický materiál. Priebeh infekcie vírusov rôznych organizmov je však odlišný (Dimmock a kol., 2007). Napr. **bakteriofágy injektujú do buniek baktérií len svoju nukleovú kyselinu**.

Replikácia a expresia vírusových genómov sa uskutočňuje len v živých metabolicky aktívnych bunkách. **Replikácia vírusových genómov** zahŕňa predovšetkým **znásobenie počtu ich kópií**. **Expresia vírusových genómov** zahŕňa obyčajne **transkripciu vírusového genómu – syntézu vírusovej mRNA, ktorá môže byť následne translatovaná do vírusových proteínov**. V prípade komplexných vírusov s väčšími genómami môže nasledovať jedno alebo viac cyklov syntézy rôznych mRNA a proteínov. Niektoré **vírusové proteíny sa zúčastňujú replikácie a expresie vírusového genómu, iné sú súčasťou obalov vírusov**. Stratégia replikácie a expresie vírusového genómu závisí od typu vírusového genómu a od typu hostiteľských buniek. Je zároveň významným kritériom a pre klasifikáciu vírusov.

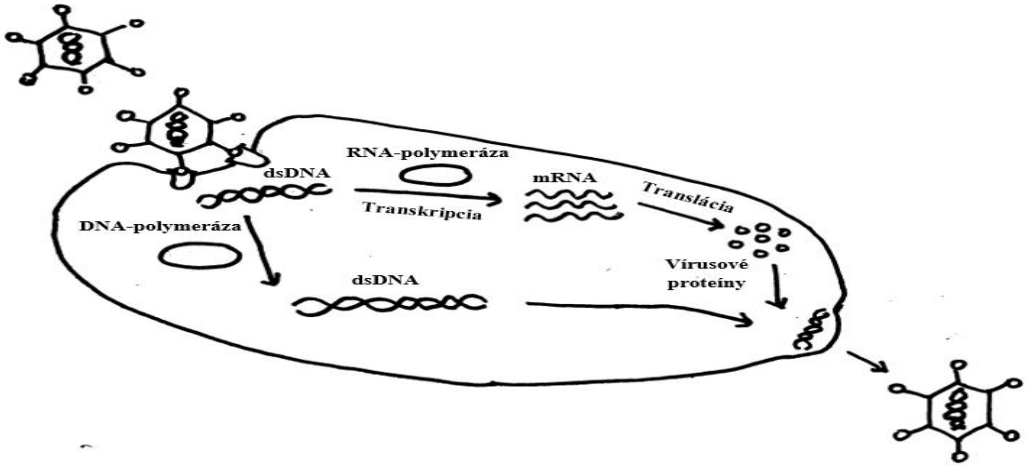
Po replikácii vírusového genómu a syntéze proteínov vírusového obalu následuje zostavovanie vírusových častíc. Pri tomto procese často dochádza k modifikáciám (napr. glykozylácii) proteínov obalu vírusu (Barman a kol., 2011).

Uvoľnenie vírusov z hostiteľskej bunky môže prebiehať rôznymi spôsobmi. **Lýza buniek** je proces, **pri ktorom sa naruší membrána bunky**, prípadne aj jej bunková stena (ak ju bunka má). Je typická pre bakteriofágy a niektoré živočíšne vírusy. **Niektoré vírusy však majú vo svojom životnom cykle aj tzv. štádium lyzogénii, kedy je vírusový genóm začlenený genetickou rekombináciou na špecifické miesto v hostiteľskom genóme. Vírusový genóm začlenený do hostiteľského genómu** sa označuje ako **„provírus“** alebo **v prípade bakteriofágov ako „profág“** (Shors, 2008). Keď hostiteľská bunka zreplikuje svoju DNA a rozdelí sa na dve, zreplikuje sa spoločne s hostiteľským genómom aj vírusový genóm. Vírusový genóm väčšinou v pokoji pretrváva v hostiteľovi, ak sú podmienky pre život hostiteľskej bunky priaznivé. **V prípade nepriaznivých podmienok pre život bunky môže provírus alebo profág navodiť svoju replikáciu, expresiu svojich génov a syntézu svojich proteínov a na záver lyzovať hostiteľské bunky** (Dimmock a kol., 2007). Lýzu bunky často spôsobujú neobalené virióny (Navrátil, 2011). **Niektoré vírusy však bunky nelyzujú, ale uvoľňujú sa z nich postupne**, napr. **v prípade** niektorých **eukaryotických vírusov procesom exocytózy**. Bunka tak ostáva živá a neustále (aj keď v malom množstve) produkuje vírusy.

14.4.1 Replikácia a expresia genómov dsDNA vírusov

Replikácia genómu eukaryotických dsDNA vírusov ako napr. Herpesviridae a Adenoviridae prebieha v jadre. Replikácia väčšiny veľkých nukleocytoplazmatických eukaryotických vírusov (Megavirales) prebieha v jadre aj v cytoplazme. V prípade prokaryotických dsDNA vírusov (ako napr. množstvo bakteriofágov) prebieha replikácia ich genómu výhradne v cytoplazme, keďže prokaryoty jadro nemajú. Replikáciu dsDNA vírusových genómov zabezpečujú zvyčajne DNA-polymerázy kódované vírusovým genómom, ale môžu sa jej zúčastňovať aj enzýmy hostiteľa. Produkciu vírusových mRNA molekúl spravidla zabezpečujú RNA-polymerázové enzýmy a asociované proteíny hostiteľa

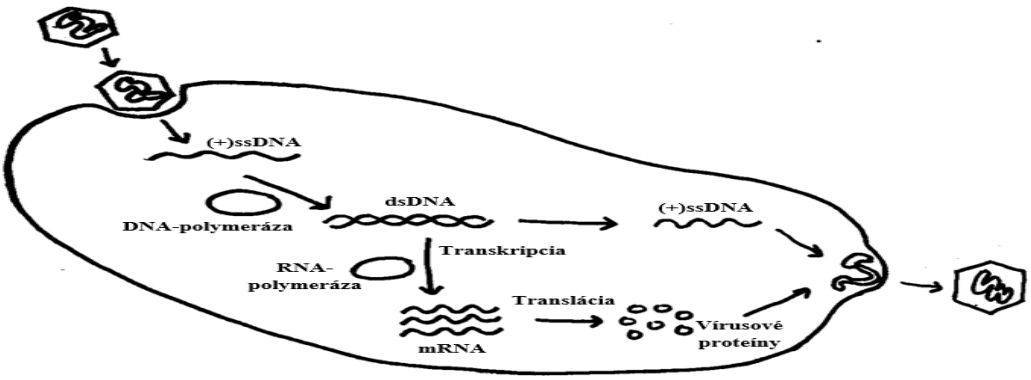
a ich preklad (transláciu) do vírusových proteínov zabezpečujú vždy ribozómy hostiteľskej bunky (obr. 14.5).



Obr. 14.5. Replikácia a expresia genómov dsDNA vírusov

14.4.2 Replikácia a expresia genómov ssDNA vírusov

Replikácia genómu ssDNA prebieha v prípade eukaryotických vírusov (napr. Parvoviridae) v jadre, v prípade prokaryotických ssDNA vírusov (napr. bakteriofág M13) v cytoplazme. DNA-polymeráza hostiteľa kopíruje (+) ssDNA vlákno genómu a vytvára dvojvláknový DNA medziprodukt. Následne je (-) DNA znova kopírovaná do (+) ssDNA vírusových genómov. Hostiteľská RNA-polymeráza zabezpečuje prepis (-) DNA vlákna do vírusovej mRNA, ktorá je následne prekladaná do vírusových proteínov ribozómami hostiteľskej bunky (obr. 14.6).

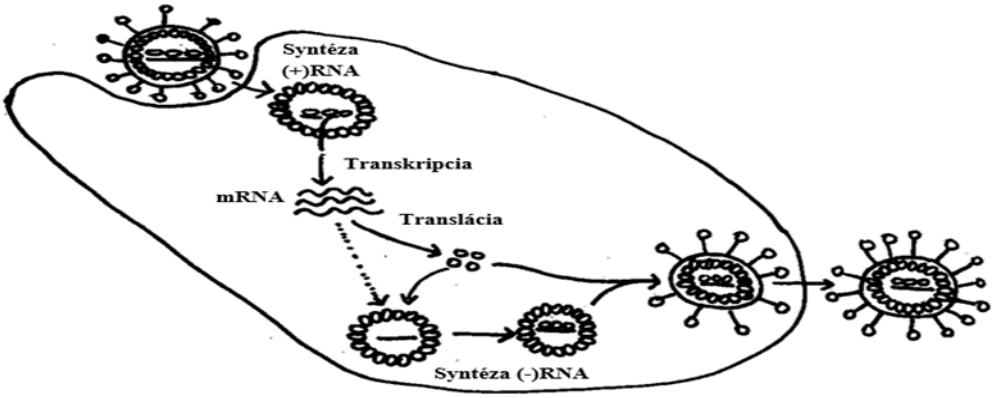


Obr. 14.6. Replikácia a expresia genómov ssDNA vírusov

14.4.3 Replikácia a expresia genómov dsRNA vírusov

Táto skupina vírusov je špecifická segmentovaným genómom. Jednotlivé segmenty sa nezávisle semikonzervatívne replikujú. dsRNA sa replikuje momocou vírusovej RNA-závislej

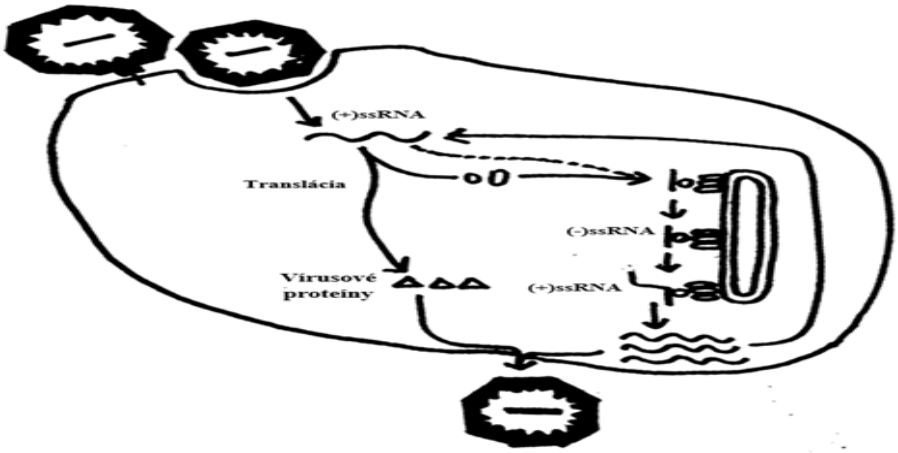
RNA-polymerázy, ktorá kopíruje záporné aj kladné RNA vlákna segmentovaného genómu. Kladné vlákno prepisované RNA-polymerázou podľa záporného vlákna má funkciu mRNA molekúl a prekladá sa do vírusových proteínov (obr. 14.7). Typickými zástupcami sú reovírusy (Patton, 2008).



Obr. 14.7. Replikácia a expresia genómov dsRNA vírusov

14.4.4 Replikácia a expresia genómov (+)ssRNA vírusov

(+)ssRNA týchto vírusov plní funkciu genómu a zároveň mRNA. Po vstupe do bunky sa môže priamo prekladať do proteínov hostiteľskými ribozómami. Prvé proteíny, ktoré sa exprimujú po infekcii, majú funkciu pri replikácii genómu. Vírusová (+)ssRNA je prepisovaná pomocou vírusovej RNA-dependentnej RNA-polymerázy (RdRP) najprv do (-)ssRNA a tá je následne prepisovaná opäť do (+)ssRNA (obr. 14.8). Replikácia eukaryotických (+)ssRNA vírusov prebieha obyčajne v cytoplazme v tzv. vírusových replikačných komplexoch, ktoré sú v spojení s intracelulárnymi membránami drsného ER, GA, mitochondrií, vakuolov, chloroplastov, peroxizómov alebo cytoplazmatickou membránou (Nagy a Pogany, 2011). Vírusové replikačné komplexy obsahujú proteíny vírusovej aj hostiteľskej bunky (Nagy a Pogany, 2011). Vírusy (+)ssRNA sú najbežnejším typom rastlinných vírusov (Saxena a Lomonossoff, 2014).

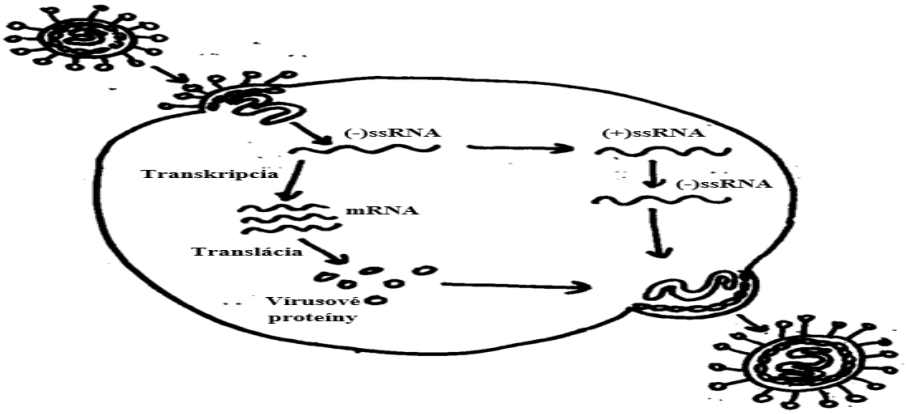


Obr. 14.8. Replikácia a expresia genómov (+)ssRNA vírusov

14.4.5 Replikácia a expresia genómov (-)ssRNA vírusov

Virión obsahujúci vírusovú RNA-dependentnú RNA-polymerázu (RdRp) a jednovláknovú RNA zápornej polarity najprv vstupuje do hostiteľskej bunky a uvoľňuje svoju negatívnu RNA do cytoplazmy. Vírus používa na RNA replikáciu vlastnú RdRp, aby nasyntetizoval pozitívne vlákna RNA. Pozitívna RNA slúži ako mRNA, ktorá je prekladaná do kapsomérnych proteínov a vírusovej RdRp hostiteľskými ribozómami. Pozitívne vlákna slúžia aj ako templáty pre syntézu negatívnych RNA vlákien pomocou RdRp. Z kapsomérnych proteínov vznikajú kapsidy, ktoré sa spájajú so zápornými RNA vláknami a vírusovou RdRp za vzniku nových viriónov. Po zostavení nukleokapsidu nové virióny opúšťajú bunku, ktorú môžu alebo nemusia lyzovať a môžu infikovať ďalšie bunky (obr. 14.9).

Rozlišujeme dva typy genómov (-)ssRNA vírusov – segmentované a nesegmentované. V prípade eukaryotických (-)ssRNA vírusov s nesegmentovanými genómami ako napr. vírus besnoty prebieha celý vírusový replikačný cyklus v cytoplazme. Prvým krokom replikácie je transkripcia negatívneho vlákna pomocou RdRp za vzniku rôznych monocistronických pozitívnych mRNA, ktoré kódujú jednotlivé vírusové proteíny. Pozitívne vlákno slúži aj ako templát pre syntézu negatívneho genómu (Dietzgen a kol. 2017). V prípade eukaryotických (-)ssRNA vírusov so segmentovanými genómami ako orthomyxovírusy (napr. vírus chrípky) prebieha replikácia RNA v jadre, kde dochádza aj k vystrihovaniu intrónov z pozitívnej RNA, ktorá je následne transportovaná do cytoplazmy, kde je prekladaná do proteínov. RdRp produkuje spravidla jeden monocistronický reťazec mRNA z každého segmentu genómu (Lakdawala a kol., 2016).

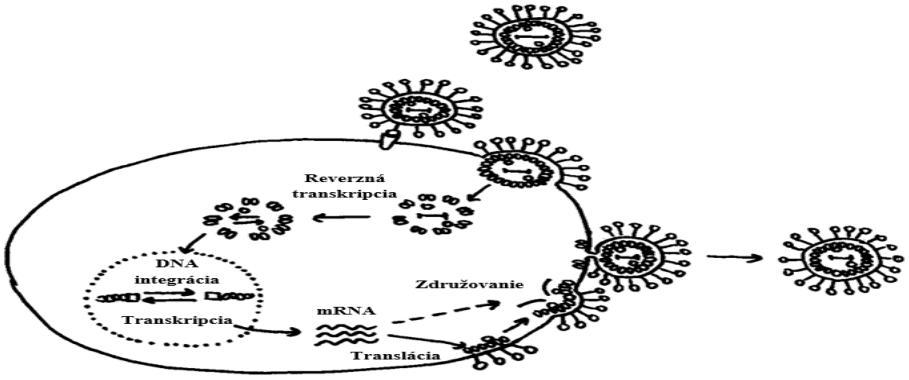


Obr. 14.9. Replikácia a expresia genómov (-)ssRNA vírusov

14.4.6 Replikácia a expresia genómov (+)ssRNA-RT vírusov

Retrovírusy (napr. vírus HIV) sú eukaryotické vírusy, ktoré majú membránu obsahujúcu glykoproteíny, ktoré sú schopné sa naviazať na receptorový proteín na hostiteľskej eukaryotickej bunke. Vo virióne sa okrem (+)ssRNA nachádzajú tri enzýmy: proteáza, reverzná transkriptáza a integráza. Virión sa povrchovým glykoproteínom naviaže na receptorový proteín, jeho membrána splynie s cytoplazmatickou membránou a virión bez

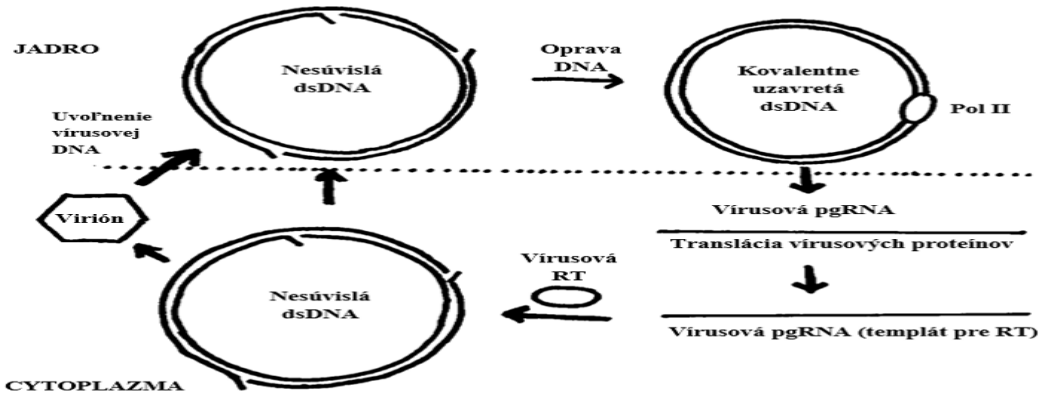
lipidového obalu preniká do bunky. Reverzná transkriptáza prepíše vírusovú RNA do DNA známej aj ako cDNA. Táto DNA vstupuje do jadra, kde sa integruje do DNA hostiteľskej bunky pomocou integrázy. DNA môže v jadre zostať transkripčne neaktívna alebo môže byť prepisovaná do (+)ssRNA (mRNA), ktorá je následne transportovaná z jadra do cytoplazmy a prekladaná hostiteľskými ribozómami. Syntetizujú sa vírusové enzýmy a kapsidové proteíny. Vírusová (+)ssRNA sa syntetizuje v jadre, importuje sa do cytoplazmy a spája sa s proteínmi v blízkosti cytoplazmatickej membrány, z ktorej vzniká membrána nového retrovírusu počas toho ako retrovírus opúšťa bunku (obr. 14.10).



Obr. 14.10. Replikácia a expresia genómu (+)ssRNA-RT vírusov

14.4.7 Replikácia a expresia genómu dsDNA-RT vírusov

Kruhová vírusová, na niektorých miestach v rámci jedného a druhého vlákna prerušená dsDNA sa po vstupe do cytoplazmy uvoľňuje z viriónu a vstupuje do jadra. Medzery na oboch vláknach DNA sú opravené hostiteľskými mechanizmami opravy DNA, čím vzniká neprerušovaná dsDNA. Výsledná kovalentne uzatvorená dsDNA slúži ako templát pre transkripciu eukaryotickou RNA-polymerázou II, pričom vzniká pre-genómovú RNA (pgRNA). pgRNA je transportovaná do cytoplazmy a podlieha translácii na ribozómoch, pričom sa syntetizujú vírusové proteíny vrátane reverznej transkriptázy (RT). RT syntetizuje dsDNA s prerušeniami na obidvoch vláknach, ktorá môže byť zbalená do nového viriónu alebo zabudovaná do jadra pre ďalšie kolo replikácie (obr. 14.11). Tento cyklus je typický pre pararetrovírusy (Pooggin, 2013).



Obr. 14.11. Replikácia a expresia genómu dsDNA-RT vírusov

14.5 Príklady vírusov rôznych organizmov

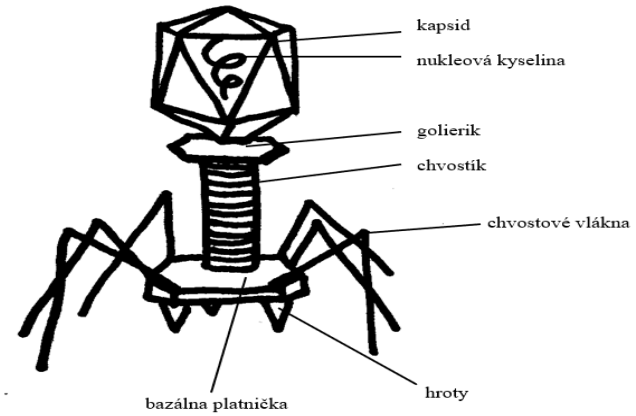
Všetky bunkové organizmy môžu byť spravidla napadnuté mnohými rôznorodými vírusmi. Diverzita vírusov nejakej konkrétnej taxonomickej skupiny bunkových organizmov teda vysoko presahuje diverzitu svojej hostiteľskej skupiny. V nasledujúcej kapitole sú uvedené len príklady niektorých vybraných vírusov prokaryotov (baktérií a archeónov) a niektorých skupín eukaryotov.

14.5.1 Vírusy baktérií – bakteriofágy

Bakteriofágy (známe aj ako fágy) sú vírusy, ktoré **infikujú baktérie** a replikujú sa v nich. Bakteriofágy majú obal zložený z proteínov, v ktorom sa nachádza DNA alebo RNA genóm. Štruktúra obalu môže byť relatívne jednoduchá alebo pomerne komplexná. Ich genómy môžu kódovať od menej ako štyri gény až po stovky génov. **Fágy sa replikujú v baktériách po injektovaní svojho genómu do ich cytoplazmy**. Patria medzi najrozmanitejšie a najbežnejšie mikroorganizmy v biosfére. Vyskytujú sa prakticky vo všetkých biotopoch obývaných baktériami, ako sú voda, pôda a črevá zvierat. Jedným z najhojnejšie obývaným prírodným prostredím tieto a iné vírusy je morská voda. V oceánoch je až desaťkrát viac týchto vírusov než baktérií (Wommack a Colwell, 2000). Ich populácia môže dosahovať až početnosť 250 miliónov bakteriofágov na mililiter morskej vody (Bergh a kol., 1989).

Väčšina v súčasnosti známych bakteriofágov má DNA genómy a nemá lipidový obal. Príkladmi čeľadí s lineárnou dsDNA a bez lipidového obalu sú čeľade z radu Caudovirales – Myoviridae (napr. fágy T4 a Mu), Siphoviridae (napr. fág λ) a Podoviridae (napr. fágy T3 a T7). Fágy z čeľade Clavaviridae a Corticoviridae majú cirkulárnu dsDNA a fágy z čeľadí Microviridae (napr. fág ϕX174) a Inoviridae (napr. fág M13) obsahujú cirkulárnu ssDNA. Príkladom fágov s lineárnou (+)ssRNA sú fágy z čeľade Leviviridae (napr. fág Qβ).

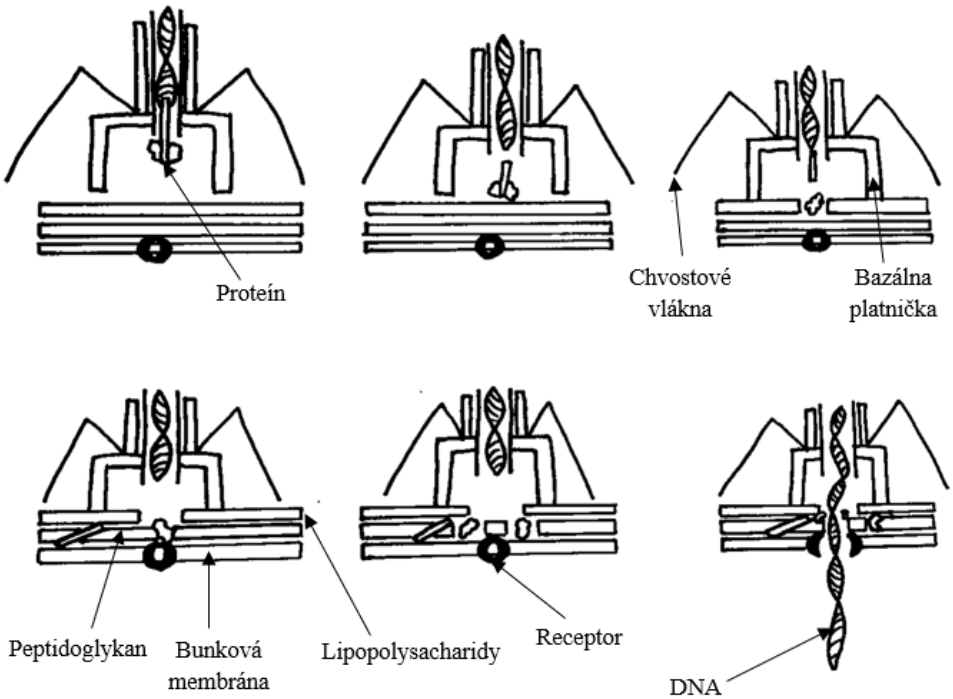
Bakteriofág λ je najznámejším **vírusom baktérie *Escherichia coli***. Jeho fágová častica (virión) neobsahuje lipidický obal. Jeho **proteínový obal pozostáva z hlavičky** (označuje sa aj ako kapsid) **a chvosta**. **Chvost sa skladá z golierika, chvostíka a bazálnej platničky s hrotmi a chvostovými vláknami** (obr. 14.12). **V hlavičke sa nachádza lineárny dsDNA genóm**. Podobnú komplexnú štruktúru majú aj mnohé iné fágy.



Obr. 14.12. ***Štruktúra viriónu bakteriofága λ***

Počas infekcie λ fágová častica rozpoznáva *E. coli* a viaže sa na jej povrch hrotmi a koncovými vláknami bazálnej platničky chvosta. DNA v hlavičke sa potom vysunie cez chvostík do cytoplazmy baktérie.

Pred vstup do hostiteľskej bunky sa bakteriofágy pripájajú k špecifickým lipopolysacharidom a proteínom (receptorom) na povrchu baktérií. Určitý bakteriofág teda môže infikovať iba určité baktérie nesúce receptory, na ktoré sa môže viazať. Rozpoznávaním receptorov na povrchu baktérií je teda podmienená hostiteľská špecifita bakteriofágov (Gabashvili a kol., 1997). Keďže fágové virióny nemajú schopnosť aktívneho pohybu, stretnutia so správnymi hostiteľmi obsahujúcimi správne receptory sú v prostredí náhodné. Po kontakte s príslušným receptorom sa chvostové vlákna ohýbajú, aby sa bazálna platnička priblížila k povrchu bunky. Následuje **kontrakcia chvosta a injektovanie genetického materiálu cez narušené povrchové štruktúry baktérií**. Spôsob, akým DNA bakteriofágy (napr. fág λ) rozpoznajú a rozrušia povrchy Gram-negatívnych baktérií (napr. *E. coli*) a injektujú do nich svoju DNA, je znázornený na obr. 14.13.



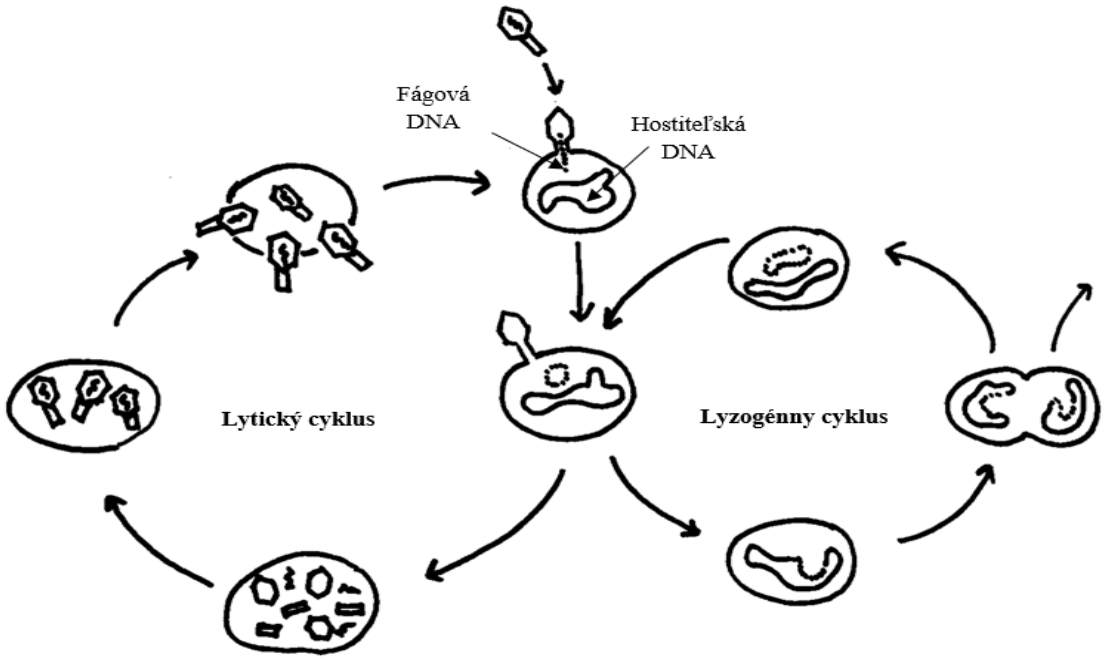
Obr. 14.13. Priebeh pripojenia bakteriofága ku Gram-negatívnej baktérii a prienik DNA do baktérie cez dve membrány a peptidoglykánovú bunkovú stenu.

Po vstupe fágovej nukleovej kyseliny zvyčajne dochádza k jej replikácii a k syntéze fágovych proteínov na hostiteľských ribozómoch. Tento proces sa líši v závislosti od typu nukleovej kyseliny, ktorú fág obsahuje. DNA bakteriofágy prepíšu svoju DNA do vírusovej mRNA a podľa tejto informácie sú na ribozómoch baktérií syntetizované všetky proteíny vírusu. Po syntéze vírusových proteínov a replikácii DNA sa DNA zbaľuje do proteínového obalu za vzniku nových viriónov. V prípade (+)ssRNA a dsRNA bakteriofágov sa v baktériách pred vznikom viriónov musí zreplikovať ich RNA. Pozitívna ssRNA môže

byť prekladaná na ribozómoch (Fiers a kol., 1976). Po replikácii RNA a syntéze vírusových proteínov sa RNA zbaľuje do proteínového obalu viriónov.

Fágy sú uvoľnené z buniek baktérií najčastejšie prostredníctvom lýzy bunky, počas ktorej sa uvoľňuje obsah buniek vrátane viriónov do prostredia (Black a Thomas, 2012). Lýzu baktérií zabezpečuje fágový enzým nazývaný endolyzín, ktorý rozkladá peptidoglykán bunkovej steny baktérií – mureín. Vláknité fágy ako napr. ssDNA bakteriofág M13 hostiteľskú baktériu nelyzujú, ale bunka prežíva (a aj sa delí) a neustále postupne vylučuje nové vírusové častice.

Niektoré bakteriofágy majú len **lytický životný cyklus** (napr. **fág T4**), iné môžu mať aj **lyzogénny životný cyklus** (napr. **fág λ**). **Lytické fágy bunky baktérií lyzujú** po tom, čo ich prinútia vyprodukovať veľké množstvo kópií viriónov. Po lýze buniek môže fágové potomstvo infikovať ďalšie baktérie. **Lyzogénny životný cyklus nemá za následok okamžitú lýzu hostiteľskej bunky**. **Fágy**, ktoré sú **schopné podstúpiť lyzogénny cyklus**, sú známe ako **mierne (temperované) fágy**. V prípade lyzogénneho cyklu sa **vírusový genóm integruje do hostiteľskej DNA, replikuje sa spolu s ňou** a spolu s ňou sa prenáša na dcérske bunky po bunkovom delení (obr. 14.14). V niektorých prípadoch sa fág dokonca môže stať plazmidom. **Fág integrovaný v hostiteľskej DNA** sa nazýva **profág**. Profág zostáva nečinný, až kým sa nezhoršia životné podmienky hostiteľa (napr. vyčerpanie živín alebo nadmerné UV žiarenie). **Pri stresových podmienkach** hostiteľa **endogénne fágy (profágy)** aktivujú expresiu svojich génov a **iniciujú reprodukčný lytický cyklus**, čo vedie k ich rýchlemu rozmnoženiu a lýze hostiteľskej bunky (Rajagopala a kol., 2011) (obr. 14.14).



Obr. 14.14. Lytický a lyzogénny cyklus bakteriofágov

14.5.2 Vírusy archeónov

Prvotný záujem o vírusy archeónov vzbudili vírusy napádajúce extrémofilné halofily a metanogénne archea zo skupiny Euryarchaeota. Ukázalo sa, že väčšina z týchto vírusov sa morfologicky a štruktúrne podobá klasickým bakteriofágom a tak sa začali zaraďovať

k čeľadiam Myoviridae a Siphoviridae (Dyall-Smith a kol., 2003). Druhá skupina vírusov archeónov, ktorá vykazuje veľkú morfologickú diverzitu, sú vírusy, ktoré napádajú Crenarcheota. Patria tu vírusy radu Ligamenvirales. Napriek malému počtu známych druhov vírusov v tejto skupine majú tieto vírusy unikátne genómy (Lawrence a kol., 2009).

Takmer všetky doposiaľ popísané vírusy archeónov sú dsDNA vírusy (Lawrence a kol., 2009). Mnohé vírusy archeónov majú kapsidy s unikátnou štruktúrou, akú nenachádzame u vírusov baktérií a eukaryotov. O interakciách medzi vírusmi archeónov a ich hostiteľmi nie je dostatok informácií už len z toho dôvodu, že počet známych vírusov archeónov je relatívne malý a chýbajú aj modelové systémy na štúdium interakcií medzi vírusmi a archeónmi za laboratórnych podmienok (Snyder a Young, 2011).

Prinajmenšom niektoré vírusy archeónov (napr. vírusy $STIV_1$ a $SIRV_2$ rodu *Sulfolobus*) sú jedinečné z toho hľadiska, že majú úplne atypické uvoľňovacie mechanizmy z hostiteľskej bunky. Na povrchu buniek archeónov sa vytvárajú pyramídové útvary, tzv. VAP (virus-associated pyramids), ktorých je zhruba 10-20 na bunku. VAP prechádzajú plazmatickou membránou aj povrchovou S-vrstvou tvorenou proteínmi resp. glykoproteínmi. Cez vzniknuté otvory sa uvoľňujú nové virióny (Bize a kol., 2009).

14.5.3 Vírusy prvokov, rias a húb

Vírusy prvokov a rias sú veľmi rôznorodou skupinou zahrňujúcou malé ssRNA vírusy s veľkosťou okolo 20 nm až po veľké dsDNA vírusy presahujúce veľkosť 200 nm (Short, 2012). Medzi najväčšie vírusy, ktoré napádajú eukaryotické riasy, patria dsDNA phycodnavírusy. K tejto skupine zaraďujeme napr. chlorovírusy napádajúce zelené riasy rodu *Chlorella* alebo coccolithovírusy napádajúce druh *Emiliania huxleyi* zo skupiny Haptophyta (Wilson a kol., 2009). Veľké nukleocytoplazmatické dsDNA vírusy rodu *Dinodnavirus* napádajú skupinu Dinoflagellata.

Vírusy húb sa nazývajú mykovírusy. U mykovírusov sa stretávame častejšie s latentnou infekciou ako s lytickým cyklom. Najviac preskúmané sú mykovírusy plesní a kvasiniek. Väčšina vírusov plesní sú dsRNA vírusy, len malá časť obsahuje v kapside ssRNA. Plesnie a kvasinky môžu byť tiež nešpecifickými hostiteľmi vírusov suchozemských rastlín, ba aj živočíchov a človeka. Vírusová infekcia často napáda aj komerčne kultivované šampiňóny (*Agaricus bisporus*) (Rosypal a kol., 1998).

14.5.4 Vírusy rastlín

Rastlinné vírusy sa označujú aj ako **fytovírusy.** Prevažnú časť rastlinných vírusov predstavujú RNA vírusy, pričom **najtypickejší je výskyt (+)ssRNA** vírusov (napr. Potyviridae, Luteoviridae, Tombusviridae, Virgaviridae). Niektoré rastliny však napádajú aj vírusy z čeľadí s jednoreťazcovou DNA (Geminiviridae, Nanoviridae) (Tabuľka 14.1). Z hľadiska rozmerov a tvarov sú veľmi rozmanitou a pestrou skupinou. Množstvo rastlinných vírusov má paličkovitý tvar (napr. Virgaviridae). Druhou najbežnejšou štruktúrou sú izometrické častice. Niektoré vírusy môžu mať dve vrstvy bielkovín, ktoré sa spájajú a vytvárajú ikozaedrálnu časticu. Špeciálnym prípadom sú vírusy čeľade Geminiviridae, ktoré majú zdvojené ikozaedrálne častice. Pomerne malý počet rastlinných vírusov má okrem proteínového obalu aj lipidový obal (Gray a Banerjee, 1999).

Vírusové ochorenia rastlín znižujú efektivitu fotosyntézy a znehodnocujú poľnohospodársky významné rastliny. **Rastlinné vírusy sa môžu prenášať medzi bunkami**

v rámci jednej rastliny cez bunkové kanáliky spájajúce bunky – plazmodezmy. Týmto spôsobom sa vírus dostane až do vodivého pletiva (floému), čo mu umožňuje následne sa rozšíriť asimilačným prúdom z listov až do koreňa a prakticky po bunkách celej rastliny. Prvé symptómy vírusového ochorenia sa objavia v blízkosti miesta vniknutia vírusu do rastliny. Niektoré rastlinné vírusy napádajú prakticky všetky rastlinné pletivá, iné iba jej niektoré časti (Kabát a Šubr, 2009).

Tabuľka 14.1. Príklady niektorých rastlinných vírusov

Genóm vírusu	**Čeľaď**	**Rod**	**Prototypový druh (slovenský ekvivalent)**
ssDNA	Geminiviridae	*Mastrevirus*	Maize streak virus (vírus čiarkovitosti kukurice)
	Nanoviridae	*Nanovirus*	Subterranean clover stunt virus (vírus zakrpatenosti ďateliny podzemnej)
dsDNA-RT	Caulimoviridae	*Caulimovirus*	Cauliflower mosaic virus (vírus karfiolovej mozaiky)
dsRNA	Reoviridae	*Phytoreovirus*	Rice dwarf virus (vírus zakrpatenosti ryže)
(-)ssRNA	Bunyaviridae	*Tenuivirus*	Rice stripe virus (vírus prúžkovitosti ryže)
(+)ssRNA	Secoviridae	*Nepovirus*	Tobacco ringspot virus (vírus krúžkovitosti tabaku)
	Virgaviridae	*Tobamovirus*	Tobacco mosaic virus (vírus tabakovej mozaiky)
	Bromoviridae	*Cucumovirus*	Cucumber mosaic virus (vírus uhorkovej mozaiky)

Priebeh väčšiny infekcií je sprevádzaný postupným odumieraním napadnutých buniek. **Najbežnejšie symptómy**, ktorými rastliny reagujú na vírus, zahrňujú **chlorózy (strata chlorofylu, blednutie a žltnutie listov), celkové oslabenie napadnutej rastliny a deformácia listov alebo iných rastlinných orgánov**. V poľných podmienkach sa pomerne často vyskytuje zmiešaná infekcia dvoch alebo viacerých vírusov súčasne, čo značne sťažuje následnú diagnózu. Z toho dôvodu nie je spoľahlivá identifikácia vírusov, ktorá je založená len na popise príznakov, ale musí byť doplnená náročnejšími metódami zahrňujúce sériologické a/alebo molekulovo-biologické metódy (napr. izolácia DNA z napadnutého pletiva a následná PCR – polymerázová reťazová reakcia). V porovnaní s bakteriofágmi alebo živočíšnymi vírusmi nemajú fytovírusy na rastlinu bezprostredný letálny účinok. Životný cyklus populácie vírusov v miernom pásme je poväčšine spojený s ročným resp. vegetačným obdobím. Často sa vyskytuje aj užšia súvislosť so životným cyklom špecifických vektorov vírusov ako napr. cikádky, vošky a roztoče (Stančeková a Stanček, 2006).

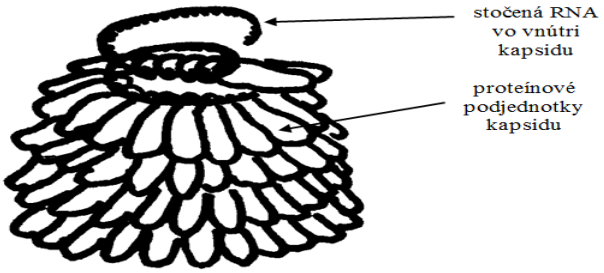
Pri vegetatívnom rozmnožovaní sa **vírus môže postupne prenášať z generácie na generáciu pomocou rastlinných orgánov slúžiacich na vegetatívne rozmnožovanie** (napr. koreňmi alebo poplazmi). **Pri pohlavnom rozmnožovaní rastlín sa môže vírus prenášať pomocou semien**. Keď sa vírusy prenášajú pomocou semien, vírus sa udržiava v zárodočných

bunkách. K nárastu množstva vírusových infekcií v semenách dochádza najmä vtedy, keď je rast a vývoj rastlín oneskorený kvôli nepriaznivým podmienkam (napr. počasie). Vírus môže prežívať aj v uhynutých rastlinných zvyškoch v pôde, v štádiu latencie, odkiaľ sa ďalej rozširuje do mladých rastlín. **Najbežnejší je** ale **prenos hmyzom**, najmä voškami, ktoré prenášajú takmer 90% vírusových ochorení rastlín a **vegetatívnym rozmnožovaním odrezkami a hľuzami** (Kabát a Šubr, 2009).

Rastliny tiež majú prepracované a účinné **obranné mechanizmy proti vírusom**. Jedným z najúčinnejších je prítomnosť tzv. **génov rezistencie** (R) voči vírusom. Každý R gén zabezpečuje rezistenciu voči určitému vírusu najčastejšie **indukciou programovanej bunkovej smrti (apoptózy) buniek okolo infikovanej bunky**, čo sa často môže prejavovať v podobe veľkých škvŕn. Tento proces zastavuje šírenie infekcie (Dinesh-Kumar a kol., 2000). Ďalším účinným mechanizmom obrany rastlín proti vírusom je aj tzv. **RNA interferencia**, kedy sa **v bunkách rastlín napadnutých vírusmi syntetizujú krátke úseky siRNA** (silencing RNA)**, ktoré sú komplementárne k vírusovým RNA**, čím je zabránené translácii a replikácii vírusovej RNA, ktorá je napokon degradovaná (Shors, 2008). Keď sú rastliny infikované, často **produkujú prírodné dezinfekčné prostriedky, ktoré zabíjajú vírusy**, ako je napr. kyselina salicylová, oxid dusný a kyslíkové radikály (Soosaar a kol., 2005).

14.5.4.1 (+)ssRNA vírus tabakovej mozaiky

Vírus tabakovej mozaiky (Tobacco mosaic virus = TMV) bol vôbec prvým objaveným vírusom (viď kapitola 3) a patrí medzi najlepšie preskúmané vírusy. Bol tiež prvým chemicky purifikovaným vírusom (Stanley, 1935, 1936; Bawden a kol., 1936). Na víruse tabakovej mozaiky bolo objasnené, ako funguje prenos vírusu z bunky do bunky. Jeho RNA bola použitá pri pokusoch, ktoré dokazovali, že nielen DNA, ale aj RNA môže byť nositeľom genetickej informácie a že k infikovaniu rastliny vírusom stačí aj samotná RNA (Fraenkel-Conrat, 1956).



Obr. 14.15. Časť TMV častice

Tento vírus infikuje okrem tabaku aj iné rastliny z čeľade ľuľkovitých (Solanaceaea). Na prenos tohto vírusu nie je potrebný hmyz ani žiadny iný vektor. Vírus sa prenáša z rastliny na rastlinu kontaktom poranených miest. Človek môže preniesť infekciu z chorých na zdravé rastliny dotykom. V rastline sa vírus šíri medzi bunkami plazmodezmami a floémom. Vírus spôsobuje v rastline zastavenie tvorby chloroplastov, čo sa prejavuje typickým mozaikovým vzorom na listoch.

Kapsid TMV je paličkovitého tvaru s polomerom 10 nm a dĺžkou cca 300 nm (obr. 14.15). V strede je centrálny otvor s polomerom 2 nm (Caspar, 1963). **Genóm** je tvorený **(+)ssRNA**, dlhý približne 6400 bp a kóduje minimálne štyri proteíny, z ktorých dva majú funkciu v replikácii RNA genómu (majú funkciu RdRp) a jeden kóduje proteín kapsidového obalu.

14.5.4.2 dsDNA-RT vírus karfiolovej mozaiky

Vírus mozaiky karfiolu (Cauliflower mosaic virus = CaMV) patrí do čeľade Caulimoviridae, ktorá zahrňuje pararetrovírusy infikujúce rastliny (Pringle, 1999). Pararetrovírusy sa replikujú prostredníctvom reverznej transkripcie RNA do DNA rovnako ako retrovírusy, ale vírusové častice obsahujú DNA namiesto RNA (Rothnie a kol., 1994). CaMV má ikozaedrálnu štruktúru a infikuje väčšinou rastliny z čeľade Brassicaceae (kapustovité). CaMV vyvoláva symptómy ako nekrotické poškodenia na povrchu listov (mozaika), zakrpatený rast a deformácia celkovej rastlinnej štruktúry. Výskyt symptómov sa líši v závislosti od vírusového kmeňa, hostiteľského ekotypu a environmentálnych podmienok (Khelifa a kol., 2010). Vírus môže byť prenášaný voškami druhu *Myzus persicae* (Brault a kol., 2010).

14.5.5 Vírusy živočíchov

Vírusy živočíchov napádajú rôzne bunky ich tkanív, ale mnohé vírusy stavovcov (najmä cicavcov a vtákov) sú prenosné aj na človeka. Prenos vírusu môže byť sprostredkovaný vzduchom, potravinami alebo vodou, priamym kontaktom (napr. so sliznicou) alebo v prípade vírusov stavovcov aj hmyzími vektormi (Murphy a kol., 1999).

14.5.5.1 Vírusy bezstavovcov

Vírusy bezstavovcov sú v porovnaní s vírusmi stavovcov menej preštudované. Bezstavovce sú schopné účinnej imunitnej odpovede, napriek tomu, že nevedia produkovať protilátky pomocou lymfocytov, ktoré sú podstatou tzv. získanej imunity stavovcov. U bezstavovcov hrajú dôležitú úlohu z hľadiska obrany voči vírusom a iným patogénom vrodené imunitné reakcie ako produkcia látok (napr. lektínov a fenoloxidáz obsiahnutých v hemolymfe), ktoré chránia bezstavovce pred parazitmi (Iwanaga a Lee, 2005). Ďalším účinným mechanizmom eliminácie parazitov bezstavovcami je fagocytóza (Ulvila a kol., 2011).

Medzi relatívne dobre preskúmané vírusy bezstavovcov patria vírusy z čeľade Baculoviridae s dvojreťazcovou DNA, ktoré napádajú napr. motýle (Lepidoptera), blanokrídlovce (Hymenoptera), dvojkrídlovce (Diptera) alebo Decapoda (rad kôrovcov). Niektorí zástupcovia Baculoviridae infikujú a zabíjajú niektoré druhy poľnohospodárskych škodcov (Mahy a kol., 2009) a v niektorých štátoch sa používajú na kontrolu populácie hmyzu, ako je húsenica motýľa *Anticarsia gemmatalis*, škodca sójových bôbov (Moscardi, 1999). Zástupcovia dsDNA vírusov z čeľade Iridoviridae napádajú tiež motýle, ale aj rovnokrídlovce (Orthoptera) a niektorí zástupcovia aj niektoré stavovce ako sú ryby a obojživelníky. (+ss)RNA okavírusy z čeľade Roniviridae napádajú kôrovce, najmä krevety.

(+)ssRNA Iflavirus z čeľade Iflaviridae spôsobuje deformáciu krídel u včely medonosnej (*Apis melifera*).

14.5.5.2 dsDNA poxvírus vtákov

Poxvírus vtákov (*Avipoxvirus*) patrí do čeľade **Poxviridae**, ktoré sú **obalené**, majú veľké **lineárne nesegmentované dsDNA genómy** a spôsobujú obyčajne kožné vredy (kiahne). Avipoxvírusy sú špecifické pre vtáky a v prípade infekcie iných druhov živočíchov nie sú schopné dokončiť svoj replikačný cyklus. Vírus má tvar tehly a jeho veľkosť je v priemere 200 nm. Patrí teda medzi veľké vírusy (Vanderplasschen a Pastoret, 2003). Šíri sa relatívne pomaly a zapríčiňuje vznik typických **kožných vredov plných hnisu**, ktoré sa môžu vyskytovať aj v horných častiach dýchacej a tráviacej sústavy, preto ďalšími sprievodnými príznakmi infekcie týmto vírusom sú tiež ťažkosti pri dýchaní a prijímaní potravy a tekutín. Na rozdiel od iných vírusov znáša Avipoxvírus extrémne sucho. Šíri sa teda aj prachovými časticami. Je to istý typ adaptácie na život v suchých slizniciach horných dýchacích ciest infikovaných hostiteľov. Vírus sa však často šíri aj rôznymi vektormi, najmä komármi. Môže spôsobiť vážne hospodárske škody pre veľkochovateľov hydiny.

14.5.5.3 Malý myšací ssDNA vírus

Malý myšací vírus (Minute virus of mice – MVM) patrí do rodu *Protoparvovirus* a do čeľade Parvoviridae s ssDNA genómami. MVM sa vyskytuje v dvoch variantoch – jeden infikuje bunky fibroblastového pôvodu a druhý imunosupresívny infikuje T lymfocyty (Brownstein a kol., 1992). Kvôli jeho vysoko nákazlivej povahe je častý u laboratórnych myší. Môže sa šíriť prostredníctvom výkalov, moču a zvratkov myší. Hoci príznaky infekcie u dospelých myší zvyčajne nie sú viditeľné, môže spôsobiť poškodenie viacerých orgánov počas vývoja plodu alebo krátko po pôrode. Infekcia spôsobuje problémy v experimentoch, v ktorých sa laboratórne myši využívajú, pretože mení aktivitu T- a B- lymfocytov a môže potláčať aj tvorbu nádorov (Baker, 1998).

14.5.5.4 dsRNA vírus choroby modrého jazyka

Vírus choroby modrého jazyka (Bluetongue virus – BTV) patrí do rodu *Orbivirus* z čeľade Reoviridae. Vírus pozostáva z desiatich vlákien **dvojvláknovej RNA obklopených dvoma proteínovými obalmi a nemá lipidový obal**. Choroba modrého jazyka je hmyzom prenášané ochorenie, ktoré **postihuje prežúvavce, najmä ovce a hovädzí dobytok**, menej často kozy, jelene a antilopy. Hlavnými príznakmi sú vysoká horúčka, nadmerné slinenie, opuch tváre a jazyka a chrapľavé dýchanie. **Opuchnuté pery a jazyk majú typické modré sfarbenie**, hoci tieto symptómy sa nemusia prejaviť u všetkých infikovaných zvierat. Niektorým zvieratám sa vytvárajú **na nohách rany**, čo môže viesť najmä u oviec ku chodeniu na kolenách. U hovädzieho dobytka, kôz a divých prežúvavcov je infekcia zvyčajne bez symptómov napriek vysokým hladinám vírusu v krvi. Doba inkubácie je 5-20 dní a všetky príznaky sa zvyčajne objavujú do jedného mesiaca (Roy, 2008).

14.5.5.5 (+)ssRNA vírus slintačky a krívačky

Vírus slintačky a krívačky (Foot and mouth disease – FMDV) patrí do rodu *Aphthovirus* z čeľade Picornaviridae. Ide o **neobalený vírus s lineárnym nesegmentovaným RNA genómom s pozitívnou polaritou**. Vyskytuje sa **najmä u ošípaných, hovädzieho dobytka, oviec a kôz**. Vyskytuje sa aj u voľne žijúcich párnokopytníkov, ktoré sú ale voči tomuto vírusu menej vnímavé. Len veľmi zriedkavo sa môže vyskytnúť aj u človeka (Martinez-Salas a kol., 2008).

Inkubačná doba sa pohybuje v priemere v rozmedzí od jedného do dvanástich dní (Arzt a kol., 2010). Ochorenie je sprevádzané vysokou horúčkou a **vytvárajú sa pľuzgiere v ústach, ktoré vedú k nadmernému vylučovaniu penivých slín**. Tvoria sa tiež **pľuzgiere na nohách** (najmä na kopytách), ktoré môžu prasknúť a spôsobiť krívanie. Dospelé zvieratá môžu schudnúť. V prípade kráv môže výrazne klesnúť produkcia mlieka. Ochorenie môže niekedy viesť aj k myokarditíde (zápalu srdcového svalu) a k smrti, najmä u novorodencov (Stenfeldt a kol., 2014).

FMDV vírus má veľmi vážne dôsledky na chov hospodárskych zvierat. **Vírus obsahujú sliny, moč, trus** aj ejakulát chorých zvierat a môže sa preto šíriť pomerne ľahko. Vírus **vstupuje do tela prostredníctvom inhalácie**. Vírus je geneticky vysoko variabilný (Martinez-Salas a kol., 2008), čo obmedzuje účinnosť očkovania.

14.5.5.6 (-)ssRNA vírus besnoty

Besnotu spôsobuje **obalený vírus rodu *Lyssavirus*** (Rabies virus) z čeľade Rhabdoviridae. Jeho **nesegmentovaný (-)ssRNA genóm** má okolo 11.8 kb. Na RNA je pevne naviazaný vírusový nukleoproteín. RNA genóm vírusu kóduje **päť génov**, ktorých poradie je vysoko konzervatívne. Kódujú nukleoproteín (N), fosfoproteín (P), matricový proteín (M), glykoproteín (G) a vírusovú RNA-polymerázu (L). Celý vírusový replikačný cyklus prebieha v cytoplazme (Finke a Conzelmann, 2005).

Besnota je ochorenie napádajúce centrálnu nervovú sústavu cicavcov, vrátane ľudí. Spôsobuje zápal mozgu. Besnota predstavuje príklad vírusového patogéna, ktorý **modifikuje správanie svojho hostiteľa**, aby uľahčil svoj prenos na ďalších hostiteľov. **Najbežnejší prenos besnoty je** totiž slinami **pri pohryznutí besným jedincom** (najčastejšie psom). Ochorenie je zvyčajne diagnostikované až po prejavení sa symptómov. Včasné príznaky môžu zahŕňať horúčku a brnenie v mieste pohryznutia. Po týchto symptómoch nasleduje niekoľko ďalších, ako sú prudké pohyby, nekontrolované vzrušenie, strach z vody, neschopnosť pohybovať istými časťami tela, zmätenosť, nespavosť, halucinácie a strata vedomia. Keď sú už badateľné tieto príznaky, s najväčšou pravdepodobnosťou sa v krátkej dobe dostaví aj smrť. V mnohých prípadoch sa **nakazené zviera správa neobvykle, môže byť mimoriadne agresívne** a môže bez dôvodu zaútočiť. Časové obdobie medzi nakazením sa vírusom a začiatkom prejavenia sa symptómov je zvyčajne jeden až tri mesiace, ale ochorenie sa môže prejaviť aj do jedného týždňa alebo až po roku, či neskôr. Inkubačná doba závisí od množstva vírusu v slinách, počtu uhryznutí a miesta poranenia – vzdialenosti, ktorú musí vírus prekonať, aby sa dostal periférnym nervovým systémom do centrálnej nervovej sústavy (Cotran a kol., 2005).

V celosvetovom meradle sú najčastejšími zvieratami napadnutými besnotou psy, infikované však môžu byť aj iné zvieratá ako napr. netopiere, opice, líšky, skunky, hovädzí dobytok, vlky, kojoty a mačky (Taylor, 1993). Ľudia sú najčastejšie napadnutí pri pohryznutí psom a

môžu sa u nich prejavovať podobné symptómy ako u zvierat. Prenos z človeka na človeka je veľmi zriedkavý.

Besnotu nie je možné liečiť inak ako **očkovaním**. Takmer všetky ľudské prípady besnoty boli smrteľné, kým v roku 1885 Louis Pasteur a Émile Roux nevyvinuli vakcínu proti tomuto ochoreniu. Ich pôvodná vakcína pochádzala z infikovaných králikov. Ich nervové tkanivo nechali sušiť po dobu piatich až desiatich dní, čím sa vírus oslabil. Po vakcinácii jedinca pohryznutého besným zvieraťom takýmto oslabeným vírusom začne imunitný systém produkovať protilátky proti vírusu ešte predtým, ako ochorenie stihne prepuknúť (predtým ako sa vírus dostane do mozgu). V súčasnosti sa však už využívajú hlavne vakcíny produkované bunkovými kultúrami (Geison, 1978).

14.5.5.7 Bovinný leukemický ssRNA-RT vírus

Bovinný leukemický vírus (Bovine leukemia virus – BLV) patrí do rodu *Deltaretrovirus* z čeľade Retroviridae. Spôsobuje **leukémiu u hovädzieho dobytka**. Na molekulovej úrovni je príbuzný ľudskému T-lymfotropnému vírusu HTVL-1. BLV sa **po infekcii B-lymfocytov prepíše pomocou reverznej transkriptázy do DNA a môže sa integrovať do genómovej DNA B-lymfocytov hovädzieho dobytka ako provírus** alebo sa môže v B-lymfocytoch vyskytovať v nezačlenenej lineárnej alebo kruhovej forme (Reyes a Cockerell, 1996). Okrem génov potrebných pre produkciu viriónov obsahuje jeho genóm aj onkogén kódujúci proteín nazývaný Tax, ktorý je zodpovedný za malígnu transformáciu (rakovinu) bielych krviniek (leukémiu) (Rosewick a kol., 2013). **Choroba sa prenáša telesnými tekutinami obsahujúcimi lymfocyty** ako napr. krv, mlieko a spermie a tiež z matky na potomstvo (Meas a kol., 2000). Fakt, že sa biele krvinky nachádzajú v rôznych orgánoch, vysvetľuje aj rôznorodosť príznakov – zväčšenie lymfatických uzlín, napadnutie tráviaceho traktu, nervovej sústavy, prípadne srdca. Zväčšovanie lymfatických uzlín je často skorým klinickým príznakom. Na chorobu v súčasnosti neexistuje liek. Jednou z možných prevencií je vylúčenie napadnutých zvierat zo stáda a zamedzenie kontaktu zdravých zvierat s telesnými tekutinami infikovaných a mŕtvych zvierat.

14.5.6 Vírusy človeka

14.5.6.1 dsDNA papilomavírusy

Papillomaviridae sú skupinou **neobalených DNA vírusov s dvojvláknovým cirkulárnym nesegmenovaným genómom** s veľkosťou okolo 8 kB. Ich kapsid má ikozaedrálnu symetriu. **Napádajú živočíchov zo skupiny Amniota** – plazy, vtáky a cicavce vrátane ľudí. Sú vysoko hostiteľsky špecifické a len zriedkavo sa prenášajú medzi druhmi (Mistry a kol., 2008). Po primárnej infekcii dokážu v hostiteľovi dlhodobo pretrvávať bez viditeľných symptómov. Môžu sa integrovať do hostiteľského genómu alebo pretrvávať mimo neho vo forme epizómu (vírusová DNA vo forme plazmidu). Infikujú prevažne kožu a sliznice (de Villiers a kol., 2004; Doorbar a kol., 2005). Papiloma vírusy **spôsobujú benigné nádory (papilómy) a bradavice**. Niektoré typy **ľudského papiloma vírusu** (human papilloma virus – HPV) môžu okrem nezhubných nádorov kože a bradavíc na koži spôsobiť za istých okolností aj **rakovinu krčka maternice, rakovinu ústnej dutiny alebo rakovinu**

penisu, prípadne aj rakovinu iných telesných orgánov a tkanív (Gogilashvili a kol., 2012). Za malígnu transformáciu hostiteľských buniek sú zodpovedné vírusové onkogénny.

14.5.6.2 dsDNA herpesvírusy

Herpesviridae sú **skupinou obalených dsDNA vírusov s lineárnym nesegmentovaným genómom**, ktoré **spôsobujú choroby zvierat a človeka**. Ich replikácia prebieha v jadre hostiteľskej bunky. **Medzi ľuďmi sú rozšírené najmä vírusy HSV-1 a HSV-2** (HSV = herpes simplex virus; tiež známe ako human herpesvirus HHV1 a HHV2), **vírus varicella/zoster (HHV-3) zapríčiňujúci ovčie kiahne a pásový opar, vírus Epstein-Barrovej (HHV-4) spôsobujúci infekčnú mononukleózu a cytomegalovírus (HHV-5)** (Stančeková a Stanček, 2006). Viac ako 90% dospelých už bolo infikovaných najmenej jedným z týchto vírusov a jeho latentná forma pretrváva vo väčšine ľudí.

HSV-1 zapríčiňuje ochorenia kože, najmä **pľuzgiere** a vriedky **na perách, na nose, v nose**, ale aj v nosohltane a v ústnej dutine. Zriedkavejšie môže spôsobiť aj zápaly pečene, mozgu (encefalitída), priedušiek a pľúc (bronchopneumónia). Šíri sa perorálne. **HSV-2 spôsobuje pľuzgiere** a vriedky **na pohlavných orgánoch** (genitálny herpes). **Oba tieto herpesvírusy sa rozmnožujú v stredných vrstvách kože a slizníc**, odkiaľ sa po nervových zakončeniach dostávajú až do nervových ganglií, kde spôsobujú latentnú infekciu, ktorá sa nemusí nijako prejavovať a u niektorých jedincov sa nemusia symptómy prejaviť nikdy. Za vhodných podmienok (napr. pri oslabení imunitného systému a/alebo v prípade napadnutia iným patogénom) môžu opäť prejsť z latentnej fázy do rozmnožovacej a napádať sliznice a kožu a stimulovať tvorbu pľuzgierov, ktoré sa časom zmenia na chrasty (Stančeková a Stanček, 2006).

Vírus varicella/zoster (VZV, resp. **HHV-3**) vyvoláva u človeka dve rozdielne ochorenia. **Spôsobuje ovčie kiahne (varicella)**, ochorenie najčastejšie **postihujúce deti**, dospievajúcich a mladých dospelých a **herpes zoster** (pásový opar) **prevažne u dospelých** osôb, len zriedkavo sa vyskytujúci u detí. Človeku, ktorý prekoná ovčie kiahne, sa vírus zabuduje po uzdravení do nervového tkaniva. Po mnohých rokoch sa môže tento vírus opäť prejaviť a obvykle vytvára herpetické pľuzgieriky zoradené v páse – pásový opar (Stančeková a Stanček, 2006).

Vírus Epstein-Barrovej (EBV, resp. **HHV-4)** je najviac známy ako **príčina infekčnej mononukleózy – infekcie lymfocytov**. Infekcia týmto vírusom však môže v zriedkavejších prípadoch viesť aj **k malígnej transformácii** hostiteľských buniek a ku karcinómu nosohltanu alebo k formám rakoviny lymfatického systému ako Burkittov lymfóm vyskytujúci sa u detí a Hodgkinova choroba. Infekcia EBV nastáva obyčajne perorálnym prenosom (Stančeková a Stanček, 2006).

14.5.6.3 (-)ssRNA vírus chrípky

Vírus chrípky (Influenza virus) patrí do čeľade **Orthomyxoviridae**. Vírusy tejto čeľade **obsahujú 6-8 segmentov lineárnej (-)ssRNA**. Vírus chrípky je **obalený vírus s lipidovou membránou**, do ktorej sú vnorené **povrchové glykoproteíny – hemaglutinín a neuraminidáza, zodpovedné za antigénnu variabilitu tohto vírusu**. Najčastejšími symptómami vírusu chrípky u človeka sú horúčka, bolesť hrdla, kašeľ, nádcha a bolesť svalov, ale niekedy aj zápal pľúc.

Vírus chrípky **vstupuje do hostiteľských buniek** (obyčajne buniek dýchacieho traktu) **endocytózou**. Vírusová RNA s negatívnou polaritou sa najprv prepíše v jadre do RNA s pozitívnou polaritou pomocou vírusovej RNA-dependentnej RNA-polymerázy (RdRp). Z (+)ssRNA sa za pomoci spliceozómu v jadre povystrihujú intróny a vírusová mRNA je transportovaná do cytoplazmy, kde môže byť prekladaná do vírusových proteínov, z ktorých niektoré vstupujú do jadra a zúčastňujú sa replikácie RNA a iné sú transportované na povrch buniek pomocou endomembránového systému (ER a GA) hostiteľskej bunky. **Vírus uniká z hostiteľskej bunky exocytózou**, pričom je vírus obalený membránou hostiteľského pôvodu v mieste, ktoré obsahuje vírusové povrchové proteíny.

Na základe variability povrchových glykoproteínov môžeme vírus chrípky rozdeliť do rôznych typov, subtypov a kmeňov. Existujú tri najznámejšie typy vírusu chrípky (A, B a C). **Vírus chrípky typu A sa vyskytuje najčastejšie, infikuje ľudí, iné cicavce a vtáky a často spôsobuje chrípkové pandémie** (Webster a kol., 1992). Jedným z najrozšírenejších subtypov vírusu chrípky je H1N1, ktorý v rokoch 1918-1920 spôsobil pandémiu tzv. španielskej chrípky, počas ktorej zomrelo viac ako 50 miliónov ľudí. Jedným z najznámejších subtypov vírusu chrípky je aj **H5N1**. Jeden z jeho kmeňov **HPAI A (H5N1)** rozšírený najmä v Ázii spôsobuje aj tzv. **vtáčiu chrípku**. U vtákov môžu byť príznaky mierne, ale niekedy môže spôsobiť aj ich masový úhyn vtákov. Prenos tohto subtypu z vtákov na človeka je zriedkavý, keď už však nastane, viac ako 50% prípadov je smrteľných.

Vírus chrípky typu B je **takmer výlučne ľudským patogénom** a je menej rozšírený ako vírus chrípky typu A. Infikovaný týmto vírusom však môže byť aj tuleň (Osterhaus a kol., 2000). Tento typ chrípky mutuje rýchlosťou dva až trikrát nižšou ako typ A, preto nie je tak geneticky variabilný a nevykazuje vysoký stupeň antigénnej diverzity povrchových štruktúr. Imunitu voči tomuto vírusu preto ľudia zvyčajne získajú už v ranom veku. Aj vírus chrípky B však dokáže mutovať dostatočne rýchlo na to, aby v ľudskej populácii predsa len prežíval a množil sa (Webster a kol., 1992). Na základe zníženej mutačnej rýchlosti genómu v kombinácii s obmedzeným rozsahom hostiteľov nemožno predpokladať v blízkej budúcnosti pandémiu vyvolanú vírusom chrípky typu B (Zambon, 1999).

Vírus chrípky typu C infikuje ľudí a ošípané a môže spôsobiť lokálne epidémie. Chrípkové infekcie prasiat (tzv. prasacia chrípka) môžu byť však zapríčinené aj rôznymi subtypmi vírusu chrípky typu A. Chrípka typu C je menej častá ako A a B a zvyčajne spôsobuje len mierne symptómy najmä u detí (Matsuzaki a kol., 2002).

Proti rôznym kmeňom vírusov chrípky sa neustále vyvíjajú vakcíny. Problémom vakcinácie je však vysoká mutačná rýchlosť vírusov chrípky podmieňujúca vysokú variabilitu povrchových štruktúr týchto vírusov. Protilátky produkované proti vírusom chrípky po zaočkovaní preto nemusia byť účinné proti novým, neustále vznikajúcim kmeňom týchto vírusov.

14.5.6.4 (-)ssRNA vírusy osýpok

Vírus osýpok (Measles virus) patrí do rodu *Morbillivirus* a do čeľade **Paramyxoviridae**. Tento vírus je **obalený** a jeho genóm tvorí **jednovláknová nesegmentovaná RNA negatívnej polarity**. Vírus spôsobuje vysoko nákazlivé infekčné ochorenie – osýpky. Symptómy sa u infikovanej osoby zvyčajne prejavujú 10-12 dní po nakazení a trvajú 7-10 dní. Počiatočné príznaky zvyčajne zahŕňajú horúčku, často vyššiu ako 40 °C, kašeľ a zápal očí. Po troch až piatich dňoch od začatia príznakov sa objavia **červené vyrážky**, ktoré sa zvyčajne začínajú tvoriť na sliznici ústnej dutiny a na tvári a potom sa rozšíria po ostatných častiach tela (Stančeková a Stanček, 2006). Väčšie komplikácie môžu

zahŕňať zápal mozgu a zápal pľúc. Osýpky sú choroba, ktorá sa ľahko šíri kašľom a kýchaním (slinami, hlienmi a sopľami) infikovaných ľudí. Vakcína proti osýpkam je účinná pri prevencii ochorenia a často sa podáva najmä v rozvojových krajinách v kombinácii s vakcínami proti iným vírusovým ochoreniam, ako je napr. mumps (zápal príušných slinných žliaz spôsobený tiež vírusom z čeľade Paramyxoviridae) alebo rubeola resp. rubella (ružienky spôsobené ssRNA vírusom s pozitívnou polaritou). Vďaka očkovaniu už osýpky v Európe takmer vymizli.

14.5.6.5 (+)ssRNA vírus kliešťovej encefalitídy

Vírus kliešťovej encefalitídy je **obalený RNA vírus s nesegmentovaným lineárnym genómom pozitívnou polaritou**. Patrí do rodu *Flavivirus* z čeľade Flaviviridae, ktorý **sa replikuje v cytoplazme** hostiteľských buniek. Väčšina vírusov patriacich do tohto rodu **je prenášaná kliešťami alebo komármi**. Rod *Flavivirus* môže spôsobovať aj iné ochorenia ako napr. žltú zimnicu.

Rezervoárom vírusu kliešťovej encefalitídy sú cicavce a vtáky, z ktorých sa môže tento vírus šíriť kliešťami na človeka. Na človeka sa však môže preniesť aj konzumáciou nepasterizovaného mlieka nakazených hospodárskych zvierat. Ochorenie sa môže prejaviť maximálne u 30% nakazených osôb. Inkubačná doba je jeden až dva týždne. Okolo miesta vpichnutia kliešťa sa pri nakazení po pár dňoch objavuje sčervenanie (erytém) o veľkosti niekoľkých mm (na rozdiel od boreliózy, kedy má erytém niekoľko cm). Spravidla platí, že čím dlhšie je kliešť prisatý v koži, tým je pravdepodobnosť prepuknutia ochorenia vyššia. Priebeh ochorenia kliešťovej encefalitídy možno rozdeliť do dvoch intervalov. V prvých dňoch po infikovaní sa môže dostaviť zvýšená teplota, bolesti hlavy a končatín, nevoľnosť a celková únava. V druhej fáze ochorenia nastupuje **zápal mozgových blán a/alebo mozgu**, ktorý sa prejavuje zvýšenou horúčkou, bolesťami hlavy a krku až depresiou. Medzi týmito dvoma fázami sa môže vyskytovať bezpríznakové obdobie (1-20 dní). Zvyčajne sa ochorenie končí uzdravením, ale niekedy zanecháva na napadnutom organizme následky v podobe neurologických porúch. Najjednoduchším, ale i najspoľahlivejším spôsobom ochrany je **očkovanie**, ktoré pozostáva z troch dávok (Máderová, 2005).

14.5.6.6 (+)ssRNA vírus detskej obrny

Detská obrna (poliomyelitída) je spôsobená poliovírusom rodu *Enterovirus* z čeľade **Picornaviridae**. **Poliovírus je neobalený vírus** zložený len z jednovláknového RNA genómu s pozitívnou polaritou a proteínoveho kapsidu s ikozaedrálnou symetriou. Má pomerne malý genóm (približne 7500 nt) (Hogle, 2002). **Šíri sa alimentárnou cestou** (potravinami, a stolicou). Je schopný prežiť aj veľmi kyslé prostredie žalúdka, následne sa množiť v slizniciach tráviacej sústavy a napokon **prejsť** krvou a lymfou až **do centrálnej nervovej sústavy** a spôsobiť zápal mozgových blán. Poliomyelitída je veľmi nebezpečné ochorenie prejavujúce sa najmä u detí a dorastu. V zriedkavých prípadoch môže napadnúť aj motorické neuróny, čo vedie **k trvalej paralýze (obrne) svalov trupu a končatín** (Stančeková a Stanček, 2006). Účinnou prevenciou je očkovanie.

14.5.6.7 (+)ssRNA-RT vírus HIV

Vírus ľudskej imunitnej deficiencie (Human Immunodeficiency Virus – HIV) je **obalený vírus rodu *Lentivirus* z čeľade Retroviridae**, ktorý **spôsobuje chorobu AIDS** (acquired immunodeficiency syndrome) – **syndróm získanej imunitnej nedostatočnosti**. Lentivírusy sú rovnako ako všetky retrovírusy jednoreťazcové RNA vírusy s pozitívnou polaritou.

HIV infikuje bunky ľudského imunitného systému, ako sú pomocné T-lymfocyty (špecificky $CD4^+$ T-lymfocyty), makrofágy a dendritové bunky (Cunningham a kol., 2010). Nachádza sa teda **v krvi, v lymfe, ale aj iných telesných tekutinách obsahujúcich bunky imunitného systému** (napr. ejakulát, vaginálne sekréty, materské mlieko, plodová voda). Vo väčšine prípadov **sa HIV prenáša pohlavným stykom, z matky na plod, transfúziou krvi alebo intravenóznym aplikovaním drog** pomocou použitých injekčných striekačiek (resp. ihiel). Slinami a tráviacou sústavou sa vírus neprenáša.

Po vstupe do buniek bielych krviniek endocytózou sa vírusový RNA genóm konvertuje (reverzne transkribuje) **na dvojvláknovú DNA vírusovou reverznou transkriptázou**. Vírusová **DNA sa potom importuje do jadra hostiteľskej bunky a integruje sa do jej DNA pomocou integrázy** a hostiteľských ko-faktorov (Smith a Daniel, 2006). Po integrácii vírusu do hostiteľského genómu vo forme provírusu obyčajne nastáva latentné obdobie, kedy sú vírus a jeho hostiteľská bunka imunitným systémom nerozpoznateľné na neurčitý čas. **Vírus HIV môže zostať nečinný** po dobu až desiatich, prípadne aj **viacero rokov po primárnej infekcii**. Počas tohto obdobia prítomnosť provírusu nemá žiadne príznaky. Za nie celkom známych okolností môže byť integrovaná vírusová DNA transkribovaná a **môžu sa začať syntetizovať vírusové RNA genómy a vírusové mRNA a proteíny** za pomoci enzymatickej mašinérie hostiteľských buniek. **Výsledkom prepuknutia ochorenia AIDS býva zničenie bielych krviniek, po ktorom sa človek nedokáže brániť proti akýmkoľvek patogénom, preto trpí zvyčajne viacerými ochoreniami, na ktoré v konečnom dôsledku zomiera**.

Zaujímavosťou je, že **najbližším príbuzným HIV je šimpanzí vírus SIV** (Simian Immunodeficiency Virus), ktorý ale pre šimpanzy nie je až taký nebezpečný (Gao a kol., 1999). Možno predpokladať, že HIV vznikol zmutovaním tohto šimpanzieho vírusu po tom, čo sa na ľudskú populáciu SIV v minulosti niekoľkokrát preniesol pohlavným stykom zoofilných ľudí so šimpanzami (de Sousa a kol., 2012) a/alebo krvou pri zraneniach počas lovu, zabíjania, pitvania a porcovania šimpanzov domorodými populáciami prevažne za účelom konzumácie (Kalish a kol., 2005).

Napriek veľkým snahám vyvinúť liek proti vírusu HIV sa ho zatiaľ nepodarilo nájsť. V dôsledku kombinácie faktorov, ako sú mimoriadne vysoká mutačná rýchlosť tohto vírusu spôsobujúca vysokú variabilitu povrchových štruktúr, schopnosť integrácie do genómu bielych krviniek a dlhé obdobie latencie, sú pokusy o vakcináciu proti tomuto vírusu prakticky zbytočné. Ak už AIDS prepukne, nádejnými terapeutickými metódami by mohli byť rôzne formy génovej terapie ako napr. RNA interferencia pomocou krátkych (antisense) RNA molekúl so zápornou polaritou, komplementárnych k vírusovej genomickej pozitívnej RNA. Párovanie takýchto krátkych iRNA (interferenčné RNA) resp. siRNA (silencing RNA) s vírusovou RNA môžu zabrániť translácii vírusovej RNA a/alebo indukovať jej degradáciu komplexom hostiteľských enzýmov prirodzene sa zúčastňujúcich degradácie mRNA.

Preventívne opatrenia voči infekcii HIV vírusom zahŕňajú **vyhýbanie sa pohlavného styku s neznámym osobami, používanie prezervatívov a v prípade drogovo závislých osôb používanie nepoužitých sterilných injekčných ihiel a striekačiek pri intravenóznej aplikácii drog**. Každá osoba ochotná darovať krv by sa mala podrobiť testu na HIV, aby sa vírus nemohol šíriť krvnou transfúziou.

Ukazuje sa, že istá časť ľudskej populácie môže byť proti vírusu HIV prirodzene rezistentná. Niektorí ľudia môžu mať napr. zmutované gény, ktorých produkty asistujú pri prieniku vírusu do bunky (napr. receptor). Aké percento ľudskej populácie je rezistentné, je však momentálne ťažké odhadnúť. Momentálne chýbajú aj štatistické údaje o tom, u akého percenta ľudskej populácie infikovanej HIV sa ochorenie AIDS nikdy neprejavilo a zomreli v dôsledku iných okolností, hoci vírus HIV mohli počas svojho života preniesť na iných ľudí.

14.6 Iné nebunkové „organizmy“

14.6.1 Prióny

Najmenšími známymi infekčnými agensami živočíchov a iných eukaryotov sú prióny. Termín **prión** zaviedol v roku 1982 Stanley B. Prusiner ako skratku pre „proteinaceous infectious particle” – **„proteínová infekčná častica“** (Prusiner, 1982). Priónmi spôsobené ochorenia boli pôvodne označované ako „pomalé vírusové ochorenia“, no prióny sa od vírusov odlišujú tým, že **neobsahujú nukleovú kyselinu**. **Prióny sú patologickou izoformou normálnych proteínov kódovaných hostiteľskými bunkami, ktoré vedia zmeniť priestorové usporiadanie (konformáciu) normálneho proteínu na svoje** (Stančeková a Stanček, 2006). Zmena konformácie normálneho proteínu na patologickú je podmienená interakciou patologického proteínu s normálnym. **Priónový proteín (PrP) s patologickou konformáciou sa považuje za príčinu ochorení**, spoločne nazývaných ako **prenosné spongiformné encefalopatie** (Transmissible Spongiform Encephalopathies – TSE), s ktorými sa stretávame u viacerých cicavcov (Prusiner, 1991). **Normálny priónový proteín** je kódovaný jadrovým génom cicavcov a pravdepodobne **má funkciu v správnom fungovaní centrálnej nervovej sústavy**. **Mutácie v tomto géne môžu viesť k abnormálnemu priestorovému poskladaniu** tohto proteínu **a k rôznym neurodegeneratívnym ochoreniam**. Mutácie tohto génu môžu byť geneticky podmienené a prenášať sa z generácie na generáciu, ale môžu vznikať aj počas života v somatických bunkách. Predpokladá sa však, že patologické priónové proteíny môžu byť prijaté aj potravou a dostať sa do krvi a následne do nervovej sústavy, kde menia správnu konformáciu prirodzených priónových proteínov na patologickú. Toto vedie k reťazovej reakcii, ktorá vytvára veľké množstvá patologickej priónovej formy.

Patologické konformácie priónov sú extrémne stabilné oproti prirodzeným nepatologickým formám a hromadia sa v infikovanom nervovom tkanive, čo vedie k jeho poškodeniu a bunkovej smrti (Dobson, 2001). Sú odolné voči denaturácii chemickými (napr. nízke pH) a fyzikálnymi faktormi (napr. vysoká teplota), preto sú možnosti terapie proti priónom obmedzené. Inkubačná doba priónových ochorení môže byť síce pomerne dlhá (5-20 rokov), hneď ako sa však objavia príznaky, ochorenie postupuje rýchlo a vedie k poškodeniu mozgu a smrti. Neurodegeneratívne symptómy môžu zahŕňať kŕče, demenciu, ataxiu (dysfunkciu v rovnováhe a koordinácii) a zmeny správania a/alebo osobnosti. Medzi **zvieracie priónové ochorenia** patria napr. **bovinná spongiformná encefalopatia (BSE)** (tzv. **choroba šialených kráv), scrapie oviec a kôz**, choroba chronického vyčerpania u jeleňov a spongiformná encefalopatia mačiek. Medzi **ľudské priónové ochorenia** patrí **Kuru (choroba „smejúcich sa“ ľudožrútov z Novej Guiney)**, Creutzfeldova-Jakobova choroba, Gerstmannov-Sträusslerov-Scheinkerov fenomén a fatálna familiárna insomnia (Prusiner, 1998).

Predpokladá sa, že po konzumácii mäsa z chorého zvieraťa postihnutého priónovým ochorením, môžu zvieracie prióny indukovať zmenu konformácie normálneho ľudského

priónového proteínu na patologickú. Frekvencia tejto formy prenosu je však minimálne diskutabilná a mediálna pozornosť venovaná možnosti prenosu choroby šialených kráv na človeka je pravdepodobne prehnane zbytočná. Počet ľudí, ktorí ochoreli po konzumácii mäsa z nakazených zvierat, je pomerne nízky (doposiaľ maximálne stovky ľudí). Navyše symptómy neurodegeneratívnych ochorení podobných chorobe šialených kráv môžu vyvolať aj dedičné a somatické mutácie v ľudských bunkách.

Za zmienku stojí aj fakt, že proteíny s podobnými vlastnosťami, ako majú prióny a sú schopné meniť konformáciu podobných proteínov na svoju, boli objavené napr. aj u kvasiniek.

14.6.2 Viroidy

Viroidy sú malé infekčné patogény **zložené výlučne z krátkych vlákien kruhovej jednovláknovej RNA bez proteínového obalu**. RNA viroidov má približne len 200-500 nt. Viroidy **napádajú suchozemské rastliny**. Viroidy **nekódujú žiadny proteín** (Tsagris, 2008) a replikujú sa v jadre alebo v chloroplastoch rastlinných buniek. Mechanizmus replikácie viroidu využíva hostiteľskú RNA polymerázu, ktorá katalyzuje syntézu nových kruhových viroidových RNA (Flores a kol., 2012). Medzi rastlinami môžu byť prenášané voškami.

14.6.3 Virusoidy a satelity

Virusoidy sú krátke kruhové ssRNA molekuly zapuzdrené obalovým proteínom kódovaným tzv. pomocným (helper) vírusom. Vyskytujú sa u suchozemských rastlín. Genóm virusoidov pozostáva z niekoľkých stoviek nukleotidov a nekóduje žiadne proteíny. **Virusoidy sú** teda v zásade **viroidy obalené kapsidovým proteínom nejakého vírusu** (Symons, 1991).

Keďže pre životný cyklus virusoidov je potrebná prítomnosť helper vírusu, mohli by byť označené aj ako satelitné subvírusy (satelity). **Satelity sú „subvírusy“, ktoré pre svoju replikáciu vyžadujú prítomnosť iného pomocného (helper) vírusu.** Typickým príkladom je **satelitný (-)ssRNA subvírus hepatitídy D**, ktorý **pre svoju replikáciu vyžaduje infekciu dsDNA-RT vírusom hepatitídy B**. Na rozdiel od rastlinných viroidov a vírusoidov kóduje satelitný vírus hepatitídy D HD antigén – proteín kapsidového obalu, ktorý sa vyskytuje v dvoch formách. Ostatné proteíny satelitnému subvírusu hepatitídy D poskytuje vírus hepatitídy B (Sureau, 2006). Oba tieto patogény spôsobujú žltačku a poškodenie pečene u ľudí, podobne ako iné typy vírusov hepatitídy – napr. (+)ssRNA vírusy hepatitídy A a C.

Literatúra

ARZT, J. – PACHECO, J. M. – RODRIGUEZ, L. L. 2010. The early pathogenesis of foot-and-mouth disease in cattle after aerosol inoculation. Identification of the nasopharynx as the primary site of infection. Vet Pathol 47, 1048-1063.

BAKER, D. G. 1998. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. Clin Microbiol Rev 11, 231-266.

BALTIMORE, D. 1971. Expression of animal virus genomes. Bacteriol Rev 35, 235–241.

BARMAN, S. a kol. 2001. Transport of viral proteins to the apical membranes and interaction of matrix protein with glycoproteins in the assembly of influenza viruses. Virus Res 77, 61–69.
BAWDEN, F. – PIRIE, N. – BERNAL, J. D. – FANKUCHEN, I. 1936. Liquid crystalline substances from virus-infected plants. Nature 138, 1051-1052.
BEDNÁŘ, M. a kol. 1996. Lekářská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie. Praha: Marvil.
BERGH, O. a kol. 1989. High abundance of viruses found in aquatic environments. Nature 340, 467-468.
BIZE, A. a kol., 2009. A unique virus release mechanism in the Archaea. Proc Nat Acad of Sci USA, 106, 11306-11311.
BLACK, L. W. – THOMAS, J. A. 2012. Condensed genome structure. Adv Exp Med Biol 726, 469-487.
BRAULT, V. a kol. 2010. Aphids as transport devices for plant viruses. C R Biol 333, 524–538.
BROWNSTEIN, D. G. a kol. 1992. The pathogenesis of infection with minute virus of mice depends on expression of the small nonstructural protein NS2 and on the genotype of the allotropic determinants VP1 and VP2. J Virol 66, 3118-3124.
CASPAR, D. L. 1963. Assembly and stability of the tobacco mosaic virus particle. Adv Protein Chem 18, 37-121.
COLLIER, L. – BALOWS, A. – SUSSMAN, M. 1998. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 9th edition. Vol. 1: Virology. London: Arnold.
COLSON, P. a kol. 2012. Reclassification of giant viruses composing a fourth domain of life in the new order Megavirales. Intervirology 55, 321-332.
COTRAN, R. S. – KUMAR, V. – FAUSTO, N. 2005. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. 7th edition. Elsevier/Saunders.
CUNNINGHAM, A. L. a kol. 2010. Manipulation of dendritic cell function by viruses. Curr Op Microbiol 13, 524-529.
DE SOUSA, J. D. a kol., 2012. Enhanced heterosexual transmission hypothesis for the origin of pandemic HIV-1. Viruses 4, 1950-1983.
DE VILLIERS, E. M. a kol. 2004. Classification of papillomaviruses. Virology 324, 17-27.
DIETZGEN, R. G. a kol. 2017. The family Rhabdoviridae: mono- and bipartite negative-sense RNA viruses with diverse genome organization and common evolutionary origins. Virus Res 227, 158-170.
DIMMOCK, N. J. – EASTON, A. J. – LEPPARD, K. 2007. Introduction to modern virology. 6th edition, Blackwell Publishing.
DINESH-KUMAR, S. P. – THAM, W. H. – BAKER B. J. 2000. Structure-function analysis of the tobacco mosaic virus resistance gene N. Proc Nat Acad Sci USA 97, 14789-14794.
DOBSON, C. M. 2001. The structural basis of protein folding and its links with human disease. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 356, 133-145.
DOORBAR, J. 2005. The papillomavirus life cycle. J Clin Virol 32, S7–S15.
DUFFY, S. – HOLMES, E. C. 2009. Validation of high rates of nucleotide substitution in geminiviruses: phylogenetic evidence from East African cassava mosaic viruses. J Gen Virol 90, 1539–1547.
DYALL-SMITH, M. – TANG, L. – BATH, C. 2003. Holoarchaeal viruses: how diverse are they?: Res Microbiol 154, 309-313.
FIERS, W. a kol. 1976. Complete nucleotide sequence of bacteriophage MS2 RNA: primary and secondary structure of the replicase gene. Nature 260, 500-507.
FINKE, S. – CONZELMANN, K. K. 2005. Replication strategies of rabies virus. Virus Res 111, 120-131.

FLORES, R. a kol. 2012. Viroids: from genotype to phenotype just relying on RNA sequence and structural motifs. Front Microbiol 3, 217.
FORTERRE, P. 2006. Three RNA cells for ribosomal lineages and three DNA viruses to replicate their genomes: a hypothesis for the origin of cellular domain. Proc Natl Acad Sci USA 103, 3669-3674.
FRAENKEL – CONRAT, H. 1956. The role of the nucleic acid in the reconstitution of active tobacco mosaic virus. J Am Chem Soc 78, 882-883.
GABASHVILI, I. a kol. 1997. Polymorphism of bacteriophage T7. J Mol Biol 273, 658-667.
GAO, F. a kol. 1999. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. Nature 397, 436-441.
GEISON, G. L. 1978. Pasteur's work on rabies: Reexamining the ethical issues. Hastings Cent Rep 8, 26-33.
GOGILASHVILI, K. – SHONIA, N. – BURKADZE, G. 2012. The role of human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma (review). Georgian Med News (213), 32-36.
GRAY, S. M. – BANERJEE, N. 1999. Mechanisms of arthropod transmission of plant and animal viruses. Microbiol Mol Biol Rev 63, 128-148.
HOGLE, J. 2002. Poliovirus cell entry: common structural themes in viral cell entry pathways. Annu Rev Microbiol 5, 677-702.
IWANAGA, S. – LEE, B. L. 2005. Recent advances in the innate immunity of invertebrate animals. J Biochem Mol Biol 38, 128-150.
JAVOREKOVÁ, S. – MAKOVÁ, J. 2012. Mikrobiológia. Nitra: SPU v Nitre.
KABÁT, P. – ŠUBR, Z. 2009. Vírusy rastlín. Bratislava: Univerzita Komenského.
KALISH, M. L. a kol. 2005. Central African hunters exposed to simian immunodeficiency virus. Emerg Infect Dis 11, 1928-1930.
KAUSCHE, G. – PFANKUCH, E. – RUSKA, H. 1939. Die Sichtbarmachung von pflanzlichem Virus im Übermikroskop. Naturwissenschaften 27, 292-299.
KHAN, J. A. – DIJKSTRA, J. 2002. Plant viruses as molecular pathogens. New York – London – Oxford: Haworth Press.
KHELIFA, M. a kol. 2010. Evaluation of the minimal replication time of Cauliflower mosaic virus in different hosts. Virology 396, 238-245.
KURTH, R. – BANNERT, N. 2010. Retroviruses: Molecular biology, genomics and pathogenesis. Horizon Scientific.
LABONTÉ, J. M. – SUTTLE, C. A. 2013. Previously unknown and highly divergent ssDNA viruses populate the oceans. ISME J 7, 2169–2177.
LAKDAWALA, S. S. – FODOR, E. – SUBBARAO, K. 2016. Moving on out: Transport and packaging of Influenza viral RNA into virions. Annu Rev Virol 3, 411-427.
LAWRENCE, C. M. a kol. 2009. Structural and functional studies of archaeal viruses. J Biol Chem 284, 12599-12603.
LWOFF, A. – HORNE, R. W. – TOURNIER, P. A. 1962. A system of viruses. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 27, 51-55.
MAHY, B. W. J. a kol. 2009. Desk encyclopedia of general virology. Oxford: Academic Press.
MARTINEZ-SALAS, E. – SAIZ, M. – SOBRINO, F. 2008. Foot-and-mouth disease virus. In: Mettenleiter, T. C. a Sobrino, F. (eds): Animal viruses: Molecular biology. Caister Academic Press. 1-38.
MATSUZAKI, Y. a kol. 2002. Antigenic and genetic characterization of influenza C viruses which caused two outbreaks in Yamagata City, Japan, in 1996 and 1998. J Clin Microbiol 40, 422-429.
MÁDEROVÁ, E. 2005. Kliešťová encefalitída na Slovensku. Via pract 2, č. 1, 51-54.

McCLINTOCK, B. 1950. The origin of behavior of mutable loci in maize. Proc Natl Acad Sci USA 36, 344-355.
MEAS, S. a kol. 2002. Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. Vet Microbiol 84, 275-282.
MIHINDUKULASURIYA, K. A. a kol. 2009. Nyamanini and Midway viruses define a novel taxon of RNA viruses in the order Mononegavirales. J Virol 83, 5109–5116.
MISTRY, N. – WIBOM, C. – EVANDER, M. 2008. Cutaneous and mucosal human papillomaviruses differ in net surface charge, potential impact on tropism. Virol J 5, 118.
MODROW, S. a kol. 2013. Viruses with single-stranded, positive-sense RNA genomes. Molecular virology. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
MOSCARDI, F. 1999. Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. Annu Rev Entomol 44, 257-289.
MURPHY, F. A. a kol. 1999. Veterinary virology. Boston: Academic Press.
NAGY, P. D. – POGANY, J. 2011. The dependence of viral RNA replication on co-opted host factors. Nat Rev Microbiol 10, 137-149.
NAVRÁTIL, M. 2011. Základy virologie: obecná virologie. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci.
OSTERHAUS, A. a kol. 2000. Influenza B virus in seals. Science 288, 1051-1053.
PATTON, J. T. 2008. Segmented double-stranded RNA viruses: Structure and molecular biology. Caister Academic.
POOGGIN, M. M. 2013. How can plant DNA viruses evade siRNA-directed DNA methylation and silencing? Int J Mol Sci 14, 15233-15259.
PRESSING, J. – REANNEY, D. C. 1984. Divided genomes and intrinsic noise. J Mol Evol 20, 135-146.
PRINGLE, C. R. 1999. Virus taxonomy--1999. The universal system of virus taxonomy, updated to include the new proposals ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses during 1998. Arch Virol 144, 421-429.
PRUSINER, S. B. 1982. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. Science 216, 136-144.
PRUSINER, S. B. 1991. Molecular biology of prion diseases. Science 252, 1515-1522.
PRUSINER, S. B. 1998. Prions. Proc Natl Acad Sci USA 95, 13363-13383.
RAJAGOPALA, S. V. – CASJENS, S. – UETZ, P. 2011. The protein interaction map of bacteriophage lambda. BMC Microbiology 11, 213.
REYES, R. A. – COCKERELL, G. L. 1996. Unintegrated bovine leukemia virus DNA: Association with viral expression and disease. J Virol 70, 4961-4965.
ROSEWICK, N. a kol. 2013. Deep sequencing reveals abundant noncanonical retroviral microRNAs in B-cell leukemia/lymphoma. Proc Natl Acad Sci USA 110, 2306-2311.
ROSYPAL, S. a kol. 1998. Přehled biologie. 2. vyd. Praha: Scientia.
ROTHNIE, H. M. – CHAPDELAINE, Y. – HOHN, T. 1994. Pararetroviruses and retroviruses: a comparative review of viral structure and gene expression strategies. Adv Virus Res 44, 1-67.
ROUX, S. a kol. 2012. Evolution and diversity of the Microviridae viral family through a collection of 81 new complete genomes assembled from virome reads. PLoS ONE 7, e40418.
ROY, P. 2008. Molecular dissection of Bluetongue virus. In: Mettenleiter, T. C. a Sobrino, F. (eds): Animal viruses: Molecular biology. Caister Academic Press. 305-354.
SANJUÁN, R. a kol. 2010. Viral mutation rates. J Virol 84, 9733-9748.
SAXENA, P. – LOMONOSSOFF, G. P. 2014. Virus infection cycle events coupled to RNA replication. Annu Rev Phytopathol 52, 197–212.
SHORS, T. 2008. Understanding viruses. Jones and Bartlett Publishers.

SHORT, M. 2012. The ecology of viruses that infect eukaryotic algae. Environ Microbiol 14, 2253-2271.
SINSHEIMER, R. L. 1959. Purification and properties of bacteriophage φX174. J Mol Biol 1, 37-42.
SMITH, J. A. – DANIEL R. 2006. Following the path of the virus: the exploitation of host DNA repair mechanisms by retroviruses. ACS Chem Biol 1, 217-226.
SOOSAAR, J. L. – BURCH-SMITH, T.M. – DINESH-KUMAR, S.P. 2005. Mechanisms of plant resistance to viruses. Nat Rev Microbiol 3, 789-798.
STANČEKOVÁ, M. – STANČEK, D. 2006. Virológia pre pedagógov. Bratislava: Univerzita Komenského.
STENFELD, C. a kol. 2014. Early events in the pathogenesis of foot-and-mouth disease in pigs; identification of oropharyngeal tonsils as sites of primary and sustained viral replication. PLoS ONE 9, e106859.
SNYDER, J. C. – YOUNG, M. J. 2011. Advances in understanding archaea-virus interactions in controlled and natural enviroments. Curr Op Microbiol 14, 497 – 503.
STANLEY, W. M. 1935. Isolation of a crystalline protein possessing the properties of tobacco-mosaic virus. Science 81, 644-645.
STANLEY, W. M. 1935. Chemical studies on the virus of tobacco mosaic VI. The isolation from diseased Turkish tobacco plants of a crystalline protein possessing the properties of tobacco-mosaic virus. Phytopathology 26, 305-320.
SUREAU, C. 2006. The role of the HBV envelope proteins in the HDV replication cycle. Curr Top Microbiol Immun 307, 113–131.
SYMONS, R. H. 1991. The intriguing viroids and virusoids: what is their information content and how did they evolve? Mol Plant Microbe Interact 4, 111-121.
TAYLOR, P. J. 1993. A systematic and population genetic approach to the rabies problem in the yellow mongoose (*Cynictis penicillata*). Onderstepoort J Vet Res 60, 379-387.
TSAGRIS, E. M. a kol. 2008. Viroids. Cell Microbiol 10, 2168-2179.
ULVILA, J. – VANHA-AHO, L. M. – RÄMET, M. 2011. *Drosophila* phagocytosis – still many unknowns under the surface. APMIS 119, 651-662.
VANDERPLASSCHEN, A. – PASTORET, P. P. 2003. The uses of poxviruses as vectors. Curr Gene Ther 3, 583-595.
WEBSTER, R. G. a kol. 1992. Evolution and ecology of influenza A viruses. Microbiol Rev 56, 152-179.
WILSON, W. H. – VAN ETTEN, J. L. – ALLEN, M. J. 2009. The Phycodnaviridae: The story of how tiny giants rule the world. Curr Top Microbiol Immunol 328, 1-42.
WOMMACK, K. E. – COLWELL, R. R. 2000. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. Microbiol Mol Biol Rev 64, 69–114.
ZAMBON, M. 1999. Epidemiology and pathogenesis of influenza. J Antimicrob Chemother 44 (Suppl B), 3-9.

15 DOMÉNA BACTERIA (BAKTÉRIE)

Alexandra Lukáčová, Katarína Majkútová, Matej Vesteg

Baktérie (Bacteria) sú **prokaryotické mikroorganizmy**, ktoré **nemajú jadro, endoplazmatické retikulum (ER), Golgiho aparát (GA) a mitochondrie. Rozmnožujú sa výhradne nepohlavne** (viď kapitoly 6 a 13). Do roku 1977 boli všetky prokaryotické mikroorganizmy považované za baktérie. V roku 1977 Carl Woese a Geroge Fox na základe porovnávacích analýz rRNA z malej ribozómovej podjednotky zistili, že existujú dve zásadne odlišné skupiny prokaryotov. Tieto dve skupiny boli spočiatku označované ako Eubacteria (eubaktérie) a Archaebacteria (archaebaktérie) (Woese a Fox, 1977). O niečo neskôr v roku 1990 Woese a kol. (1990) navrhli, aby sa eubaktérie premenovali na baktérie (Bacteria) a archaebaktérie na archeóny (Archaea) (viď kapitola 20). Od tohto roku je medzi vedcami najrozšírenejšia základná klasifikácia organizmov do **troch domén** – **Bacteria, Archaea a Eukarya**. Do domény Eukarya patria všetky eukaryotické organizmy (eukaryoty). **Domény Bacteria a Archaea predstavujú dve samostatné línie prokaryotických organizmov (baktérie a archeóny)**.

Baktérie sa na Zemi vyskytovali pravdepodobne už pred viac ako 3.2 miliardami rokov (Homann a kol., 2018). Veda, ktorá sa venuje štúdiu baktérií, sa nazýva **bakteriológia**. Významnými osobnosťami v oblasti bakteriológie boli napr. Louis Pasteur, Robert Koch, Alexander Fleming a mnohí ďalší (viď kapitola 3).

15.1 Tvar buniek a typy kolónií baktérií

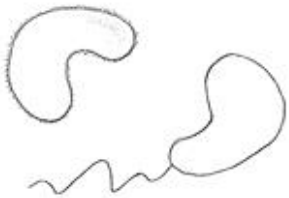
Rozmery buniek baktérii sa pohybujú približne od ~100 nm do ~10 μm. Morfológia buniek baktérií je rozmanitá. Variácie v morfológii sa môžu vyskytnúť v priebehu bunkového delenia a v rôznych fázach životného cyklu (van Teeseling a kol., 2017). Výsledný tvar bakteriálnych buniek môže byť ovplyvnený environmentálnymi podmienkami (Yang a kol., 2016).

Baktérie majú najčastejšie **sférický (oválny) tvar – koky** alebo **podlhovastý paličkovitý (tyčinkovitý) tvar – bacily** (Dusenbery, 2009). Baktérie, ktoré majú **prechodný tvar medzi kokom a bacilom**, sú označované ako **kokobacily** (napr. *Moraxella catarrhalis* alebo *Haemophilus influenzae*). Baktérie s tvarom **špirálovitých paličiek** sa nazývajú **spirily** a **spirochéty**. **Vibriá** (napr. *Vibrio cholerae*) majú **tvar mierne zahnutej paličky** (obr. 15.1). U niektorých baktérií boli popísané aj netypické tvary buniek ako napr. hviezdicovitý (Yang a kol., 2016).

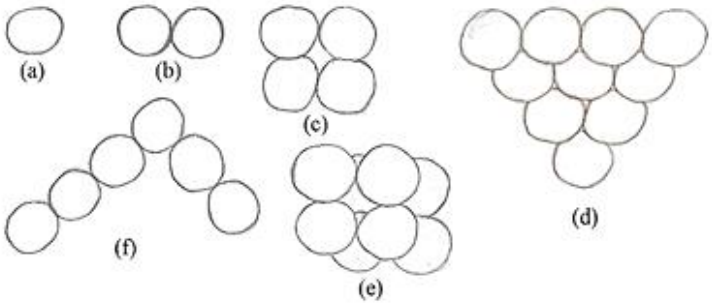
Baktérie sa vyskytujú buď ako **samostatné bunky**, alebo sú **asociované do charakteristických zoskupení**. Niektoré druhy baktérií tak vytvárajú multicelulárne štruktúry. Príkladom sú agregáty myxobaktérií, predĺžené vlákna aktinobaktérií, ako aj útvary pripomínajúce hýfy húb (mycéliá), ktoré vytvárajú baktérie zo skupiny streptomycét (Claessen a kol., 2014). Mnohobunkové útvary tvoria aj mnohé druhy fotosyntetických cyanobaktérií (viď kapitola 19).

Koky sú **baktérie ovoidného alebo guľovitého tvaru**. Ich usporiadanie závisí od spôsobu delenia buniek. Vytvárajú **dvojice – diplokoky** (napr. *Neisseria gonorrhoeae*), **štvorice – tetrakoky** (napr. *Deinococcus radiodurans*), **retiazky – streptokoky** (napr. *Enterococcus faecalis),* **nepravidelné zoskupenia pripomínajúce hrozno – stafylokoky**

(napr. *Staphylococcus aureus)* a **priestorové zhluky – sarciny** (napr. *Sarcina lutea* a *Clostridium maximum*) (obr. 15.2).



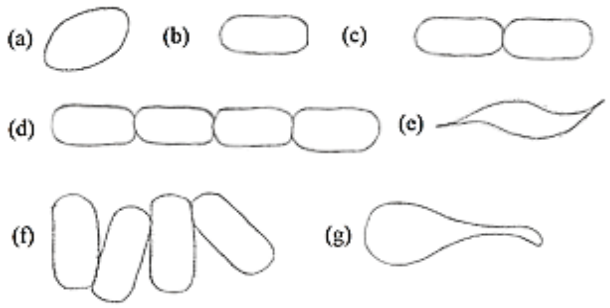
Obr. 15.1. Zahnutá palička vibrií



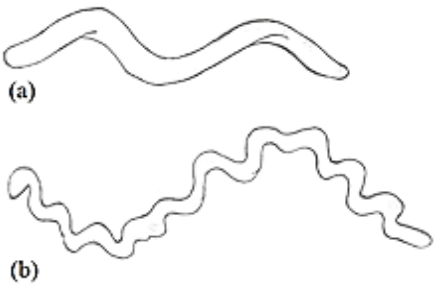
Obr. 15.2. Kokovité baktérie a ich kolónie*. (a) kok (b) diplokok (c) tetrakok (d) stafylokok (e) sarcina (f) streptokok*

Typickými zástupcami **bacilov (paličiek, tyčiniek)** sú napr. *Escherichia coli*, *Bacillus anthracis*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* a *Clostridium botulinum*. Niektoré bacily môžu mať vretenovitý (napr. *Fusobacterium nucleatum*), prípadne kyjovitý tvar (napr. *Corynebacterium diphtheriae*). Usporiadanie bacilov do multicelulárnych zoskupení opäť závisí od spôsobu delenia buniek baktérií. **Dvojice bacilov** sa nazývajú **diplobacily** (napr. *Klebsiella pneumoniae*) a **retiazky bacilov streptobacily** (napr. *Streptobacillus moniliformis*). Ak je zoskupenie tvorené bacilmi, ktoré sú spolu v kontakte dlhšími stranami buniek, ide o tzv. palisádové usporiadanie, resp. **palisády** (obr. 15.3f). Palisády vytvárajú baktérie ako napr. *Corynebactreium diphteriae*.

Paličkovité baktérie stočené do tvaru špirály sa nazývajú **spirily** a **spirochéty** (obr. 15.4). Tenké podlhovasté **spirochéty** sa vyznačujú **flexibilnou bunkovou stenou**, zatiaľ čo pre **spirily** je typická **rigídna** (pevná) **bunková stena**. Medzi spirochéty patria zástupcovia s tvarom nepravidelných špirál (napr. pôvodca boreliózy *Borrelia burgdorferi*), pravidelných špirál (napr. pôvodca syfilisu *Treponema pallidum*) a jemných špirál so zahnutými koncami (napr. pôvodca leptospirózy *Leptospira interrogans*) (Petrovičová a Šimkovičová, 2004). Príkladmi spiríl sú baktérie rodov *Campylobacter* (napr. *Campylobacter jejuni*) a *Helicobacter* (napr. *Helicobacter pylori*).



Obr. 15.3. Tvary paličkovitých baktérií a ich kolónií. *(a) kokobacil (b) palička (bacil) (c) diplobacil (d) streptobacil (e) vretenovitá palička (f)* palisády *(g) kyjovitá palička*



Obr. 15.4. Špirálovité baktérie *(a) spirily (b) spirochéty*

Heterogénnou skupinou Gram-pozitívnych baktérií sú **aktinomycéty** (Actinobacteria). Vo väčšine prípadov formujú rozsiahle vláknité rozvetvené kolónie pripomínajúce mycéliá húb. Aktinomycéty tvoria vzdušné a substrátové mycéliá, ktoré sa líšia morfológiou a funkciou (Encyclopaedia Britannica, 2018). **Substrátovým mycéliom sa baktérie prichytávajú o podkladový materiál a vo vzdušnom vznikajú spóry**. V niektorých prípadoch sa mycélium po určitom čase rastu rozpadá na jednotlivé paličkovité, prípadne kokovité baktérie.

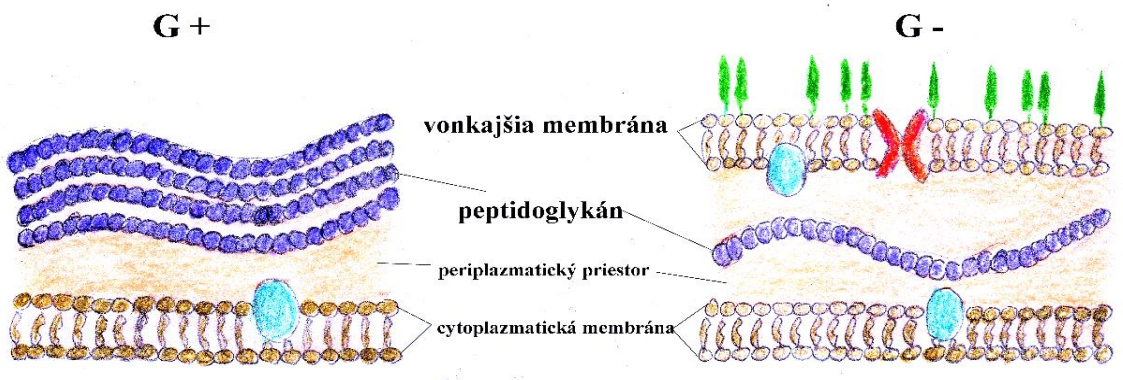
15.2 Štruktúra buniek baktérií

Baktérie sú **prokaryoty**, teda organizmy **bez jadra**. Okrem jadra sa **v cytoplazme prokaryotických (baktériových a archeónových) buniek nenachádzajú ani organely ako mitochondrie, GA, ER a chloroplasty**. Všetky baktérie majú **cytoplazmatická membránu (CM) ohraničujúcu cytoplazmu, v ktorej sa nachádzajú ribozómy a nukleoid (kruhový chromozóm)**. (Lodish a kol., 2013) (viď kapitola 6).

V cytoplazme sú okrem nukleoidu a ribozómov lokalizované enzýmy katalyzujúce syntézu základných stavebných jednotiek proteínov a nukleových kyselín, enzýmy pre replikáciu, transkripciu a transláciu, dehydrogenázy a nukleázy, regulačné molekuly (napr. cAMP) a molekuly tRNA a mRNA. V cytoplazme sú prítomné aj enzýmy katalyzujúce jednotlivé kroky rôznych metabolických dráh ako napr. glykolýza, glyoxalátový, pentózový alebo Krebsov cyklus (Cammack a kol., 2006; viď kapitola 11). Repertoár metabolických dráh však závisí od druhu či dokonca kmeňa daného druhu baktérie a jeho ekologických nárokov.

Väčšina baktérií má **peptidoglykánovú (mureínovú) bunkovú stenu**. **Gram-negatívne baktérie majú navyše vonkajšiu lipidovú membránu, ktorá u Gram-pozitívnych baktérií s podstatne hrubšou bunkovou stenou absentuje**. **Priestor medzi vonkajšou a (vnútornou) cytoplazmatickou membránou (CM)**, kde sa **u Gram-negatívnych baktérií** nachádza aj tenká (7-8 nm) mureínová bunková stena, je označovaný ako **periplazmatický priestor (periplazma)**. V prípade **Gram-pozitívnych baktérií** sa **periplazmou** označuje **priestor medzi hrubou** (20-80 nm) **vrstvou peptidoglykánu a CM** (obr. 15.5) (Zuber a kol., 2006).

Baktérie môžu mať ďalšie povrchové štruktúry ako glykokalyx (puzdro alebo kapsula), fimbrie (viď kapitoly 15.2.6 a 15.2.7), prípadne jeden alebo viac **bičíkov zložených z flagelínu** (viď kapitoly 15.2.6 a 15.2.8).



Obr. 15.5. Základné rozdiely v povrchových štruktúrach Gram-pozitívnych (G+) a Gram-negatívnych (G-) baktérií

15.2.1 Nukleoid

Väčšina genetickej informácie baktérií je sústredená v **haploidnom nukleoide (baktériovom chromozóme), ktorý nie je ohraničený membránou**, a teda **je lokalizovaný v cytoplazme**. Nukleoid je **tvorený spravidla jedinou cirkulárnou** (do kruhu uzavretou) **molekulou dvojzávitnice DNA** (Thanbichler a kol., 2005). U niektorých druhov baktérií môže byť zriedkavo prítomných aj viac chromozómov s rozličnou veľkosťou (v tomto prípade väčšinou dva). Chromozómy baktérií sú len zriedkavo lineárne. Na rozdiel od eukaryotov sa DNA väčšiny prokaryotických organizmov s výnimkou niektorých archeónov **neviaže na** nízkomolekulové bázické proteíny **históny** (Griswold, 2008). **DNA baktérií sa** však **viaže na** tzv. **histónom podobné proteíny** (z angl. histone-like proteins) (Drlica a Rouviere-Yaniv, 1987; Pettijohn, 1988; viď kapitola 13).

Baktériová bunka v kľudovej fáze obsahuje spravidla len jeden esenciálny nukleoid. Na druhej strane vo fáze bunkového rastu v nej možno pozorovať aj viac ako jeden genómový ekvivalent. Vysvetlením tohto javu je nekoordinácia medzi procesom replikácie chromozómu, zväčšovaním bunky a bunkovým delením. V závislosti od rýchlosti replikácie DNA, rastu a delenia buniek baktérií sa množstvo genómových ekvivalentov obyčajne pohybuje v intervale 1 až 4, prípadne aj viac (Kaprálek, 1986).

Veľkosť genómov baktérií sa v priemere pohybuje v rozmedzí 0.5-10 Mb (viď kapitola 7.1). **Väčšina DNA baktérií**, ako aj archeónov, je **kódujúca** a **neobsahuje** nekódujúce časti génov, tzv. spliceozómové **intróny**, typické pre eukaryoty. Medzigénové oblasti sú len krátke. **Gény** kódujúce proteíny sú **usporiadané** v genómoch baktérií **v operónoch** (súboroch génov prepisovaných z jednej regulačnej oblasti) (viď kapitola 9).

15.2.2 Plazmidy

V bunkách mnohých baktérií sa nachádzajú **menšie, spravidla kruhové molekuly dvojvláknovej DNA** nazývané **plazmidy** (Bennett, 2008). Plazmidy sú obyčajne **neesenciálne** štruktúry **kódujúce gény, ktoré v určitom prostredí zvýhodňujú niektoré baktérie pred inými**. Príkladom sú plazmidy rozširujúce nutričné možnosti baktérií, prípadne plazmidy poskytujúce baktériám **schopnosť rezistencie voči antibiotikám a ťažkým kovom** ako napr. kadmium, striebro a ortuť (Stanisich, 1988). **Plazmidy sa medzi baktériami** toho istého druhu, prípadne zriedkavejšie aj medzi baktériami rôznych druhov môžu šíriť **pomocou procesu konjugácie ako jednosmerného prenosu plazmidu z donorovej do recipientnej bunky**. Takéto plazmidy sa nazývajú konjugatívne. Nekonjugatívne plasmidy môžu byť prenášané medzi bunkami transdukciou pomocou bakteriofágov alebo transformáciou (viď kapitola 13.2.3).

Plazmidy sa v bunkách baktérií nachádzajú **väčšinou vo viacerých kópiách**. V závislosti od vonkajších podmienok a možností kontaktu recipientov s potenciálnymi donormi sa počet kópií konkrétneho plazmidu v jednej bunke baktérie daného druhu pohybuje približne v intervale od 0 až po viac ako 100 (Brown, 2010).

V súčasnosti sú plazmidy a ich geneticky modifikované deriváty využívané v oblasti biotechnológií v rámci genetických modifikácií mikroorganizmov za účelom výroby rôznych komerčne a medicínsky zaujímavých látok, najmä rôznych proteínov.

15.2.3 Ribozómy baktérií

Ribozómy sú asymetrické makromolekulové komplexy zložené z proteínov a RNA, ktoré v prokaryotických a eukaryotických bunkách zabezpečujú proces **proteosyntézy** (viď kapitola 9). Baktériové ribozómy sú štruktúrne odlišné od ribozómov eukaryotov a archeónov (Poehlsgaard a Douthwaite, 2005). V cytoplazme buniek baktérií sa voľne vyskytujú **veľké (50S) a malé (30S) podjednotky ribozómov, kompletné prokaryotické ribozómy (70S)** a **zhluky 70S ribozómov** pospájané prekladajúcim (translatujúcim) sa mRNA vláknom – tzv. **polyribozómy (polyzómy)**. **mRNA** je v prípade **baktérií** a archeónov **polycistronická** (vzniká prepisom viacerých génov jediného operónu)**,** a teda **obsahuje informáciu pre syntézu viacerých proteínov**. Jednotlivé 70S **ribozómy sa viažu na nekódujúce oblasti mRNA na** tzv. **ribozóm viažuce miesta** (z angl. ribosome-binding sites**) pred každým prepísaným génom daného operónu už v priebehu transkripcie a iniciujú ich transláciu** (viď kapitola 9).

Ribozómy a polyzómy môžu byť v bunke baktérií aj **naviazané na cytoplazmatickú membránu.** Ide najmä o polyzómy prekladajúce proteíny, ktoré sú integrálnou alebo asociovanou súčasťou cytoplazmatickej membrány prípadne proteíny sekretované do baktériovej periplazmy alebo do okolia bunky. Voľné cytoplazmatické polyzómy prekladajú najmä proteíny s funkciou v cytoplazme.

15.2.4 Cytoplazmatická membrána baktérií

Cytoplazmu buniek baktérií obklopuje **cytoplazmatická membrána** (CM). Rovnako ako v prípade iných biologických membrán je zložená **z fosfolipidovej dvojvrstvy** a membránových proteínov. Lipidy baktérií sú rovnako ako lipidy eukaryotov prevažne **estery vyšších mastných kyselín a glycerol-3-fosfátu**. Chemická štruktúra lipidov archeónov je značne odlišná (viď kapitola 20). Súčasťou CM sú periférne a integrálne membránové proteíny. Integrálne proteíny sú priamou integrálnou súčasťou CM, zatiaľ čo periférne proteíny sú s CM len asociované, prípadne dočasne naviazané na lipidovú dvojvrstvu alebo integrálne proteíny (Johnson a Cornell, 1999; Alenghat a Golan, 2013).

CM baktérií je polyfunkčná štruktúra. Jej primárnou funkciou je zabezpečiť bunke ochranu izoláciou vnútorného bunkového priestoru od úplne odlišného vonkajšieho prostredia (Singleton, 1999). Uvedenú funkciu umožňuje vonkajšia hydrofóbna časť fosfolipidovej dvojvrstvy, ktorá je nepriepustná pre polárne molekuly. Živiny sú cez biologickú membránu selektívne prenášané prostredníctvom transportných membránových proteínových komplexov. Táto vlastnosť CM sa nazýva **polopriepustnosť (semipermeabilita).**

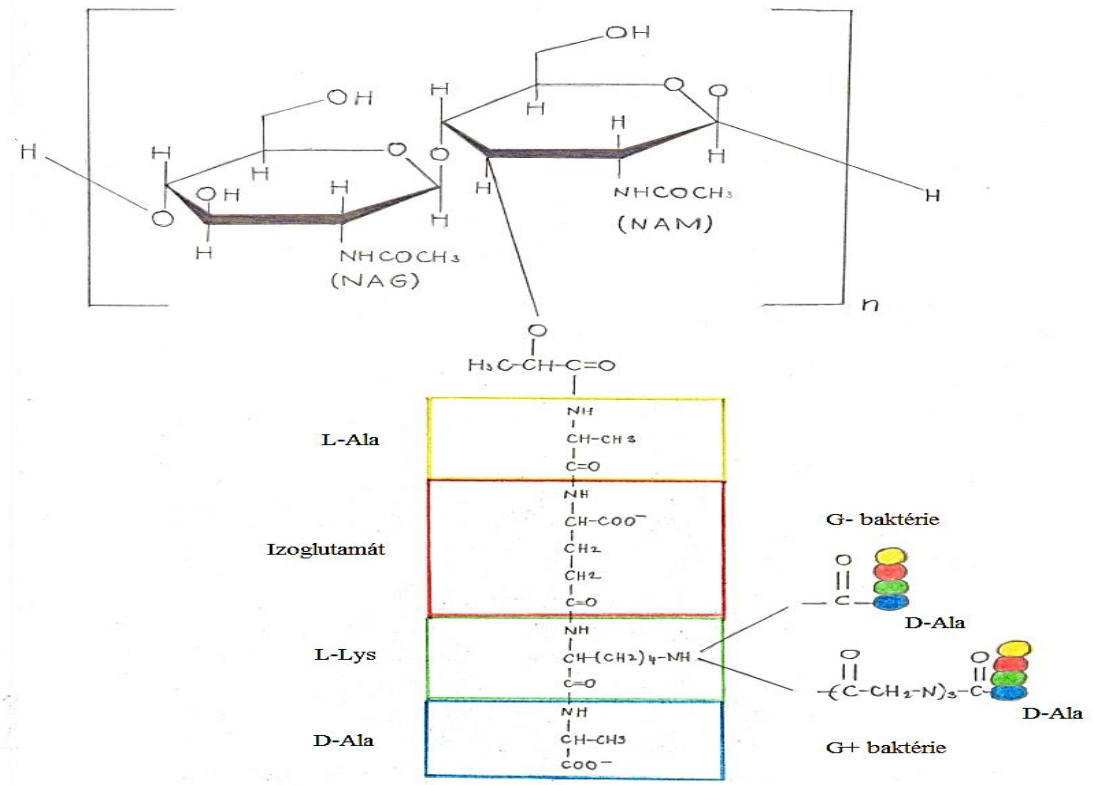
Invagináciou častí CM baktérií môžu **vznikať** tzv. **mezozómy** (vezikuly, lamely alebo tubulárne štruktúry). Keď boli objavené, predpokladalo sa, že ide o štruktúry s vysokou biologickou aktivitou, ktoré sa môžu zúčastňovať dejov ako napr. oxidatívna fosforylácia (podobne ako mitochondriové kristy), replikácia chromozómu a tvorba bunkovej steny pri delení buniek (Suganuma, 1966; Pontefract a kol., 1969). Hoci sa väčšina odborníkov od počiatku 70-tych rokov minulého storočia až dodnes skôr prikláňala k názoru, že ide o artefakty vznikajúce pri chemickej fixácii (usmrtení) buniek pred mikroskopovaním, novšie štúdie naznačujú, že ide o štruktúry s normálnou fyziologickou funkciou, ktoré **vznikajú počas bunkového delenia alebo v stresových podmienkach** (napr. počas pôsobenia antibiotík alebo iných chemikálií) a sú **schopné akumulovať peroxid vodíka** (Xin a kol.,

2014). V prípade fotosyntetických cyanobaktérií (siníc) vznikajú invagináciou CM fotosyntetické organely nazývané tylakoidy (viď kapitola 19).

15.2.5 Bunková stena baktérií

Bunková stena (BS) obaľuje CM, determinuje tvar baktérií a poskytuje im efektívnu mechanickú ochranu pred nepriaznivými vplyvmi vonkajšieho prostredia. BS zabezpečuje bunke chemickú odolnosť, ochranu proti vyschnutiu, ako aj schopnosť vyrovnať sa s nevhodnými osmotickými podmienkami a škodlivým žiarením. Táto povrchová štruktúra udržiava v bunkách baktérií pomerne vysoký osmotický tlak – u Gram-negatívnych baktérií približne 500 kPa (5 atm) a u Gram-pozitívnych až 2500 kPa (25 atm) (Kačániová a Hleba, 2011). BS sa vyznačuje **priepustnosťou (permeabilitou)** pre vodu a väčšinu v nej rozpustných látok.

BS baktérií je možné odstrániť hydrolýzou prostredníctvom enzýmu lyzozýmu alebo účinkom penicilínu (Koch, 2003). **Bunky** (baktérií, rias a húb) **s úplne odstránenou BS** sa zvyknú vo všeobecnosti označovať ako **protoplasty**. **Bunky s čiastočne odstránenou BS alebo bunky Gram-negatívnych baktérií s úplne odstránenou BS** (ale zachovanou vonkajšou membránou), ale aj bunky kvasiniek bez BS sa zvyknú skôr označovať ako **sféroplasty**. Protoplasty aj sféroplasty majú zvyčajne **sférický** (guľovitý) **tvar**. Aj napriek čiastočnej alebo úplnej absencii BS zostávajú po odstránení BS ostatné bunkové komponenty v experimentálnych podmienkach zachované. Protoplasty aj sféroplasty možno využiť na štúdium membrán (a ich komponentov), fúzií buniek, prípadne aj v oblasti génového inžinierstva.



Obr. 15.6. Štruktúra mureínu tvoriaceho bunkovú stenu baktérií

Stavba a stupeň zložitosti organizácie BS závisí od konkrétneho druhu baktérie. Vo všeobecnosti rozlišujeme dva základné typy baktériovej BS – BS Gram-pozitívnych baktérií a BS Gram-negatívnych baktérií. Hlavnou stavebnou štruktúrou oboch je **peptidoglykán** nazývaný tiež **mureín** (mukopeptid). Tvoria ho **polysacharidové reťazce zložené z dvoch** striedajúcich sa **aminocukrov** – **N-acetylglukozamín (NAG)** a kyselina **N-acetylmurámová** (NAM) (Vollmer a Bertsche, 2008). Na **kyselinu N-acetylmurámovú je naviazaných 3 až 5 aminokyselín** (niektoré sú aj v D-konformácii, pričom v proteínoch sú prítomné aminokyseliny len v L-konformácii)**, ktorými sú jednotlivé polysacharidové vrstvy prepojené** (obr. 15.6).

Východiskové stavebné zložky peptidoglykánu sú syntetizované v cytosole. Z cytoplazmy sa za účasti transportných bielkovín prenesú a prichytia na CM, cez ktorú sú následne ďalej transportované. Účinkom enzýmov sa monoméry inkorporujú do už existujúcich štruktúr BS. Vytvorením glykozidových väzieb vznikajú z monomérnych jednotiek polymérne reťazce, ktoré sa spájajú prostredníctvom voľných peptidov naviazaných na kyselinu N-acetylmurámovú a tvoria rady. Z radov vedľa seba a nad sebou tak vznikajú vrstvy. Popísaná **sieťovitá štruktúra mureínu** zabezpečuje mechanickú pevnosť a osmotickú stabilitu BS baktérií.

15.2.5.1 Bunková stena Gram-pozitívnych baktérií

BS Gram-pozitívnych baktérií tvorí **hrubý** (20-80 nm) **viacvrstvový mureín** (obr. 15.5 a 15.6) **prestúpený lineárnymi reťazcami teichoových kyselín ukotvených v CM** (Kaprálek,1986). Teichoové kyseliny sú vo vode rozpustné polymérne štruktúry ribitolfosfátu alebo glycerolfosfátu (Brown a kol., 2013), kovalentne viazané na murámovú kyselinu peptidoglykánu. Zohrávajú kľúčovú úlohu pri udržiavaní tvaru bunky, regulácii bunkového delenia, ako aj iných fyziologických procesoch. Spolu s **mureínom** tvoria **teichoové kyseliny** tzv. **PAMP** (z angl. pathogen associated molecular patterns), **molekuly typické pre patogénne Gram-pozitívne baktérie rozpoznávané imunitným systémom hostiteľského organizmu** (Dammermann a kol., 2013). Bunková stena Gram-pozitívnych baktérií predstavuje zvyčajne až okolo 90% suchej váhy bunky (v prípade Gram-negatívnych baktérií je to len okolo 10%).

Okrem korynebaktérií, norkardií a mykobaktérií sa v BS Gram-pozitívnych baktérií nenachádzajú lipidy. V BS Gram-pozitívnych baktérií sa spravidla nevyskytujú ani proteíny.

Priestor medzi BS a CM sa **u Gram-pozitívnych baktérií** označuje ako **periplazma** (periplazmatický priestor) (obr. 15.5). Do tohto priestoru sú kotranslačne (počas translácie na ribozómoch naviazaných na CM) sekretované rôzne proteíny.

Príkladmi rodov Gram-pozitívnych baktérií sú *Bacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* a *Lactobacillus*. Niektorí zástupcovia spôsobujú závažné infekčné ochorenia (viď kapitola 16).

15.2.5.2 Bunková stena a vonkajšia membrána Gram-negatívnych baktérií

BS Gram-negatívnych baktérií je v porovnaní s BS gram-pozitívnych baktérií **tvorená len tenkou** (7-8 nm) **vrstvou mureínu**. **Nad ňou** sa nachádza **vonkajšia** biologická

membrána, ktorá je niekedy považovaná za súčasť BS (obr. 15.2). Prepojenie BS s vonkajšou membránou zabezpečujú lipoproteíny.

Na rozdiel od CM má **vonkajšia membrána** menší celkový obsah fosfolipidov a iné proteínové zloženie. **Fosfolipidy sú na vonkajšej strane nahradené** komplexnými molekulami **lipopolysacharidov (LPS)**, ktoré sú zodpovedné za špecifické **antigénne vlastnosti** Gram-negatívnych baktérií.

Priestor medzi vnútornou CM a vonkajšou membránou Gram-negatívnych baktérií sa nazýva **periplazma**, ktorá predstavuje samostatný bunkový kompartment (Miller a Salama, 2018). Okrem **prítomnosti tenkej mureínovej BS** sa periplazma vyznačuje vysokou koncentráciou hydrolytických enzýmov a ďalších proteínov, ktoré umožňujú rozklad a transport živín prijatých z extracelulárneho prostredia k CM (Zuber a kol., 2006).

Oligomérne **proteíny vonkajšej membrány** sa nazývajú **poríny**. Vytvárajú **hydrofilné kanály** prechádzajúce celou vrstvou **vonkajšej membrány**, cez periplazmu až k peptidoglykánu, kde sú nekovalentne, ale pevne ukotvené. Poríny zabezpečujú **prechod hydrofilných molekúl** rôznych veľkostí a nábojov do bunky (Novikova a Solovyeva, 2009), ako aj transport toxínov a odpadových látok von z bunky (Yen a kol., 2002). Vzhľadom na prítomnosť porínov je vonkajšia membrána priepustnejšia pre hydrofilné látky ako vnútorná CM membrána (Galdiero a kol., 2012).

Príkladmi rodov Gram-negatívnych baktérií sú *Escherichia*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella* a *Pseudomonas*. Niektorí zástupcovia sú patogénni (viď kapitola 16).

15.2.5.3 Gramovo farbenie

Gramovo farbenie (GF) je diferenciačné farbenie, ktoré bolo prvýkrát použité v roku 1884 dánskym bakteriológom Hansom Christianom Gramom (Smith a Hussey, 2005). Táto metóda **spravidla umožňuje rozlíšenie Gram-pozitívnych a Gram-negatívnych baktérií na základe odlišných chemických a fyzikálnych vlastností ich bunkovej steny**.

Počas GF sú bunky Gram-pozitívnych, ako aj Gram-negatívnych baktérií zafarbené pomocou kryštálovej violete na fialovo. Pripravené preparáty sú následne morené jódom v roztoku jodidu draselného, ktorý s farbivom v oboch prípadoch vytvára farebný komplex. Farbivo je v ďalšom kroku vymývané etanolom, prípadne acétonom. Vplyvom týchto látok dochádza u Gram-negatívnych baktérií k rozpusteniu vonkajšej lipidovej membrány a k vyplaveniu komplexu farbiva a jódu (Murray a kol., 2013). V prípade Gram-pozitívnych baktérií s odlišnou stavbou bunkovej steny k vymytiu farebného komplexu nedochádza. V závere sú preparáty baktérií dofarbené karbolfuchsínom, prípadne safranínom, pričom **Gram-pozitívne baktérie** zostávajú zafarbené **na fialovo** a **Gram-negatívne baktérie** sa farbia **na ružovo**, prípadne červeno.

Niektoré baktérie s dvomi membránami, ktoré by mali byť Gram-negatívne ako napr. kokovitý zástupcovia rodu *Acinetobacter*, sú odolné voči kroku, v ktorom sa má vyplaviť farebný komplex (Smith a Hussey, 2005) a aj napriek presnému dodržaniu postupu GF sa často farbia Gram-pozitívne (Visca a kol., 2001). Opačným prípadom sú zástupcovia rodu *Gardnerella* s jednou membránou, ktoré by sa mali farbiť Gram-pozitívne, no z dôvodu neobvyklej štruktúry bunkovej steny sa po GF javia Gram-negatívne alebo sa farbia Gram-variabilne, kedy je výsledkom GF zmes ružových aj fialových buniek (Sadhu a kol., 1989). Gram-variabilne sa farbia aj Gram-pozitívne baktérie rodov *Bacillus*, *Butirivibrio* alebo *Clostridium* (Smith a Hussey, 2005). Vysvetlením je klesajúca hrúbka peptidoglykánu v priebehu ich rastu (Beveridge, 1990). Ďalšími príkladmi sú baktérie rodov *Corynebacterium*

Propionibacterium, *Arthrobacter*, *Actionomyces* a *Mycobacterium*, ktorých bunková stena je náchylná na poškodenie v priebehu bunkového delenia, čo vedie k Gram-negatívnemu farbeniu týchto Gram-pozitívnych buniek s jednou membránou. Okrem uvedených výnimiek je pri GF nevyhnutné brať do úvahy aj vek farbenej kultúry baktérií ako významný faktor ovplyvňujúci výsledky tejto metódy (Smith a Hussey, 2005).

15.2.6 Glykokalyx

Niektoré baktérie môžu mať nad bunkovými povrchmi ďalšiu ochrannú vrstvu nazývanú **glykokalyx**. V prípade Gram-pozitívnych baktérií je táto vrstva lokalizovaná nad BS a u Gram-negatívnych baktérií nad vonkajšou membránou (obr. 15.2). Pojem glykokalyx sa u baktérií často používa ako názov pre označenie **kapsuly** aj **slizovej vrstvy** (angl. slime layer), ktoré sa líšia pevnosťou väzby s baktériovým bunkovým povrchom.

Kapsula (puzdro) je štruktúra, ktorá **pevne nasadá na bunkový povrch** (na bunkovú stenu) Gram-pozitívnych, ako aj (vonkajšiu membránu) Gram-negatívnych **baktérií**. Stavebnou zložkou tejto povrchovej štruktúry sú spravidla **polysacharidy**. Niektoré baktérie rodu *Bacillus* disponujú polypetidovými kapsulami. Príkladom je puzdro *Bacillus anthracis* (pôvodca antraxu) zložené z kyseliny poly-D-glutámovej (Ezzell a Welkos, 1999). Jednou z významných funkcií kapsuly je **ochrana baktérií pred ich fagocytózou** eukaryotickými bunkami, ako sú **makrofágy** (biele krvinky imunitného systému vyznačujúce sa schopnosťou fagocytózy), čím táto štruktúra prispieva k ich schopnosti spôsobovať a šíriť ochorenie (Daffé a Etienne, 1999).

Na rozdiel od kapsuly je **slizová vrstva vo voľnejšom kontakte s bunkovým povrchom** Gram-pozitívnych a Gram-negatívnych **baktérií** a môže byť jednoducho odstránená napr. centrifugáciou. Vrstva je tvorená spleťou polysacharidov, glykoproteínov a glykolipidov (Tang a kol., 2015). Jednou z hlavných funkcií slizovej vrstvy je **ochrana baktérie pred vysušením**, prípadne **vplyvom antibiotík**.

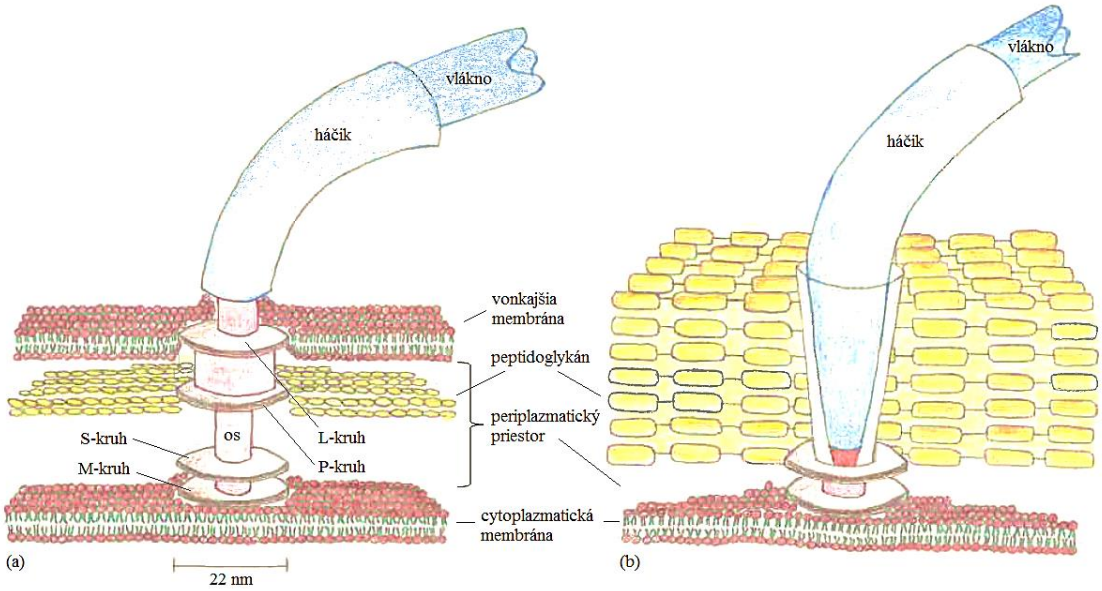
Ďalšou štruktúrou, ktorá sa môže nachádzať na povrchu buniek niektorých baktérií (a u väčšiny archeónov), je **S-vrstva** (z angl. surface layer) zložená **z glykoproteínov**. Môže slúžiť napr. na adhéziu k povrchu alebo ako ochrana pred bakteriofágmi alebo fagocytózou.

15.2.7 Fimbrie a pily

Z povrchu buniek niektorých baktérií môžu vystupovať početné **fimbrie**. Pojem fimbria môže byť niekedy zamenený termínom pilus, avšak pilusy (pili) sú často chápané ako štruktúry, ktoré baktériám slúžia v procese **konjugácie**. **Konjugatívne pilusy** tzv. „sex pilusy“ (z angl. sex pili) zabezpečujú rozpoznanie recipientnej bunky donorovou a ich kontakt pri prenose genetickej informácie konjugáciou (viď kapitola 13.2.3.1). **Fimbrie** sú baktériami (napr. patogénmi ako *Bordetella pertussis*, baktériami rodu *Staphylococcus* a *Streptococcus*, niektorými kmeňmi *E. coli*) využívané **najmä na adhéziu k povrchu** hostiteľskej bunky. Vlákna pilusov a fimbrií sú zložené z proteínových podjednotiek **pilínov** usporiadaných do tvaru skrutky.

15.2.8 Bičíky baktérií

Baktérie môžu (alebo nemusia) mať jeden alebo viac **bičíkov**. Základnou funkciou bičíka je zabezpečovať bunkám **motilitu** (pohyblivosť). Tento rigídny vláknitý útvar ukotvený v CM prestupuje bunkovú stenu, ako aj vonkajšiu membránu v prípade Gram-negatívnych baktérií. Najväčšia časť pohyblivej štruktúry je však orientovaná do vonkajšieho prostredia. Na rozdiel od bičíkov eukaryotických buniek, ktoré sa skladajú z proteínov tubulínov, sú bičíky baktérií tvorené globulárnymi molekulami proteínu **flagelínu**. Bičík baktérií má tri základné časti: **vlákno, háčik a bazálne teliesko**. Háčik zložený zo subjednotiek jediného proteínu FlgE (flagellin-like protein E) (Matsunami a kol., 2016) kĺbovito prepája vlákno zložené z flagelínu s bazálnou časťou bičíka. Bazálne teliesko je v CM a bunkovej stene Gram-pozitívnych baktérií, ako aj vo vonkajšej membráne v prípade Gram-negatívnych baktérií upevnené prstencovitými štruktúrami. U Gram-negatívnych baktérií sú to dva páry prstencov – spodný M-kruh a S-kruh a vrchný L-kruh a P-kruh. Gram-pozitívne baktérie disponujú len spodným párom prstencov (M-kruh a S-kruh), čo súvisí s ich odlišnou stavbou bunkovej steny a absenciou vonkajšej membrány (Macnab, 2003; Diószeghy a kol., 2004) (obr. 15.7).



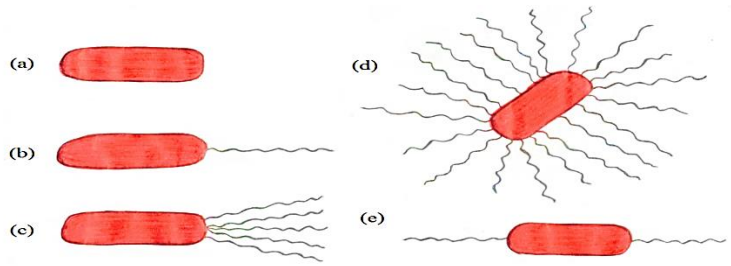
Obr. 15.7. (a) Bičík Gram-negatívnych baktérií, (b) bičík Gram-pozitívnych baktérií

Bičík zabezpečuje **motilitu** vďaka obojsmernej rotácii – v smere a protismeru hodinových ručičiek (Silverman a Simon, 1974; Berg a Anderson, 1973; Meister a Berg, 1987), čím umožňuje baktériám pohyb dopredu alebo dozadu (Jahn a Boyee, 1965; Harshey, 2003). Rotačný pohyb sprostredkuje spodný pár doštičiek uložených v CM. M-kruh plní úlohu rotora voči S-kruhu vo funkcii statora. **Zdrojom energie** je **protónový gradient** lokalizovaný na CM (Kojima a Blair, 2004).

Prítomnosť/neprítomnosť, ako aj počet a poloha bičíkov sú charakteristickými črtami jednotlivých bakteriálnych druhov a rodov. **Na základe prítomnosti, počtu a polohy bičíkov môžu byť bunky baktérií** (obr. 15.8):

a) **atrichálne – bez bičíka,**

b) **monotrichálne – jeden bičík umiestnený na jednom póle bunky,**
c) **lofotrichálne – niekoľko bičíkov lokalizovaných na jednom póle bunky,**
d) **peritrichálne – niekoľko bičíkov po celom povrchu bunky,**
e) **amfitrichálne – jeden alebo viacero bičíkov na oboch póloch bunky.**



Obr. 15.8. Bunky baktérií z hľadiska počtu a postavenia bičíkov. *(a) atrichálne, (b) monotrichálne, (c) lofotrichálne, (d) peritrichálne (e) amfitrichálne*

Špeciálnym typom bičíkov disponujú **spirochéty**. Tieto Gram-negatívne baktérie špirálovitého tvaru sa pohybujú **vnútrobunkovými bičíkmi**, tzv. axiálnymi fibrilami, resp. **axiálnymi filamentmi** (vláknami), ktoré sú lokalizované medzi vnútornou a vonkajšou membránou **v periplazmatickom priestore**. Motilita baktérií je zabezpečená opačným pohybom periplazmatických bičíkov. Jedna časť axiálnych vlákien rotuje v smere, zatiaľ čo druhá časť proti smeru pohybu hodinových ručičiek. Takáto rotácia vnútorných bičíkov, ktorých počet závisí od baktériového druhu, sprostredkuje krútivý „vývrtkovitý“ pohyb baktérie (Li a kol., 2000). Inou skupinou špirálovitých baktérií sú spirily. Na rozdiel od spirochét je motilita (pohyb) spiríl sprostredkovaná lofotrichálne, prípadne amfitrichálne umiestnenými bičíkmi (obr. 15.8).

15.3 Medzibunková komunikácia baktérií

Medzibunková komunikácia jednobunkových organizmov sa označuje ako **Quorum sensing** (QS). Ide o regulačný mechanizmus spojený so syntézou **malých signálnych molekúl** – **autoinduktorov**. U Gram-pozitívnych baktérií sú to najmä rôzne molekuly oligopeptidov a v prípade Gram-negatívnych baktérií je to najčastejšie N-acylhomoserín laktón. Nárast koncentrácie autoinduktorov v extracelulárnom priestore priamoúmerne ovplyvňuje nárast hustoty (denzity) populácie baktérií a spôsobuje zmeny v génovej expresii. Uvedené deje úzko súvisia s procesmi ako napr. konjugácia, virulencia, motilita, produkcia antibiotík, tvorba biofilmov, sporulácia a fixácia dusíka (Bassler, 1999). **QS zodpovedá** aj **za tvorbu mnohobunkových kolónií baktérií**.

Mechanizmus QS neumožňuje len dorozumievanie sa medzi baktériami rovnakého druhu, ale aj medzidruhovú komunikáciu. V súčasnosti je tiež známe, že tento proces nie je obmedzený len na bunky baktérií, ale vyskytuje sa aj u jednobunkových eukaryotov. Mnohé jednobunkové eukaryoty môžu vďaka tomuto procesu tiež agregovať do mnohobunkových zoskupení, prípadne vytvárať aj mnohobunkové rozmnožovacie útvary s diferenciáciou buniek.

15.4 Klasifikácia a systematika baktérií

Pod pojmom **klasifikácia baktérií** rozumieme **rozdelenie baktérií do jednotlivých taxonomických skupín**. **V minulosti**, pred vynájdením metód sekvenovania DNA a PCR (polymerázová reťazová reakcia – z angl. polymerase chain reaction), boli baktérie rozlišované najmä **na základe morfológie buniek** (tvaru buniek, počtu a umiestenia bičíkov), **tvaru ich kolónií,** ako aj **počtu buniek v kolóniách.** Ďalšími možnosťami využívanými pri klasifikácii bol tiež **rast baktérií na selektívnych médiách alebo ich rozlíšenie prostredníctvom mikrobiologických farbení** ako napr. Gramovo farbenie (viď kapitola 15.2.5.3). **V súčasnosti** je klasifikácia baktérií **založená najmä na porovnávacích analýzach sekvencií génov a proteínov a konštrukcii fylogenetických stromov**.

Proces detekcie baktérií (ale aj iných mikroorganizmov) v rôznych vzorkách spravidla zahŕňa ich **kultiváciu na vhodnom živnom médiu, následnú izoláciu DNA, PCR, elektroforézu, sekvenovanie PCR produktov a porovnanie sekvencie PCR produktu s databázami sekvenčných dát**. **Metóda PCR** umožňuje selektívne namnoženie (naamplifikovanie) požadovanej sekvencie DNA v smere 5'-3' prostredníctvom DNA-polymerázy (Cox, 2015). Úsek DNA určený na amplifikáciu vymedzujú primery, krátke jednovláknové oligonukleotidy s veľkosťou približne 20 bp. Pre baktérie existujú **univerzálne primery**, časti rRNA génov z rRNA operónov. Tieto sekvencie sú rovnaké pre všetky baktérie. Medzi nimi sa naopak nachádzajú sekvencie medzi dvomi rRNA génmi, ktoré sú veľmi variabilné.

Po ukončení PCR je spravidla nevyhnutné urobiť elektroforézu, pomocou ktorej je možné zistiť, či v priebehu PCR reakcie naozaj došlo k vzniku PCR produktov. Elektroforéza je metóda používaná na purifikáciu a separáciu makromolekúl najmä proteínov a nukleových kyselín (DNA, RNA) na základe ich rozdielneho náboja, veľkosti, ale aj konformácie (Pastoráková a Petrovič, 2016). Elektroforéza DNA (vrátene PCR produktov) je jednou z najjednoduchších variantov tejto metódy, ktorou sme schopní PCR produkt vizualizovať (a tak, zistiť či vznikol) a zároveň zistiť jeho veľkosť. Získané **PCR produkty** sú ďalej **sekvenované a porovnaním ich sekvencie s databázami sekvenčných dát** je možné zistiť, o akú baktériu ide, prípadne ktorej baktérii, resp. skupine baktérií je sekvenčne najpodobnejšia, a teda najpríbuznejšia. Týmto spôsobom možno baktérie z neznámych vzoriek **identifikovať, zaraďovať do druhov**, prípadne ich aj **typizovať.**

Na typizáciu, resp. **zaraďovanie baktérií do nižších taxonomických kategórií ako kmeň**, napr. **biovar, patovar, sérovar** a pod. sú obyčajne používané primery so sekvenciami odvodenými z iných génov ako génov pre rRNA. **Biovar** je baktériový **kmeň** (alebo skupina baktériových kmeňov) **fyziologicky a biochemicky odlišný od iných kmeňov baktérií toho istého druhu**. **Patovar** je baktériový **kmeň** (alebo súbor baktériových kmeňov) s podobnými charakteristikami, ktorý sa **od iných kmeňov baktérií toho istého druhu líši patogenitou vo vzťahu k jednému alebo viacerým hostiteľským organizmom.** Baktériový kmeň alebo skupina baktériových kmeňov **s odlišnými antigénnymi vlastnosťami ako ostatné kmene** baktérií toho istého druhu sa nazývajú **sérovary**, resp. **sérotypy** (Rogers a Kadner, 2019). Uvedené pojmy sú používané nielen v prípade baktérií, ale aj iných mikroorganizmov.

V súčasnosti je **baktérie možné identifikovať aj bez ich kultivácie**. DNA môže byť izolovaná a PCR produkty získané aj z tzv. **environmentálnych vzoriek** (Hazen a Jiménez, 1988) odobratých z prakticky akéhokoľvek prostredia. DNA izolovanú z týchto vzoriek možno priamo osekvenovať, čím sú spravidla získavané sekvencie z rôznych druhov mikroorganizmov, a to nielen z baktérií, ale aj eukaryotov a archeónov. Analýzou týchto sekvencií je možné zistiť, aké mikroorganizmy sa v danej vzorke nachádzajú. V súčasnosti sú preto k dispozícii veľké množstvá **environmentálnych sekvencií mikroorganizmov, ktoré**

nikdy nikto nekultivoval alebo ani nepozoroval. Väčšinu mikroorganizmov, tzv. **„microbial dark matter“**, vyskytujúcich sa v prírode nie sme momentálne schopní kultivovať a o mnohých skupinách mikróbov vieme len z environmentálnych sekvencií (Rinke a kol., 2013; Solden a kol., 2016).

Aktuálne je druhým najčastejšie využívaným spôsobom identifikácie baktérií vo vzorkách metóda MALDI-TOF MS (z angl. „matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry“), ktorá pri identifikácii baktérií, prípadne iných mikroorganizmov využíva ich proteínové profily.

V súčasnosti je **klasifikácia a systematika baktérií** založená takmer výlučne na **fylogenetických analýzach a konštrukcii fylogenetických stromov odrážajúcich evolučnú príbuznosť jednotlivých druhov baktérií a ich vyšších taxonomických skupín**. Nižšie taxóny ako kmene sa môžu v rámci jedného druhu baktérií líšiť svojou genetickou informáciou až zhruba o 10%. Pre porovnanie človek a šimpanz sú nielen iný druh, ale aj rod, hoci ich genómy sa líšia len zhruba o 1%. Týchto **variabilných 10% baktériového genómu** sa označuje ako **pan-genóm baktériového druhu**. Ide o prídavnú spravidla neesenciálnu genetickú informáciu, ktorá však môže svojim nositeľom v určitom prostredí priniesť istú výhodu. V populácii druhu, ale aj medzi rôznymi druhmi baktérií sa táto genetická informácia šíri horizontálnym (laterálnym) génovým transferom sprostredkovaným parasexuálnymi procesmi, ako sú transdukcia, konjugácia a transformácia (viď kapitola 13.2.3). Gény (resp. korešpondujúce proteíny), ktoré často podliehajú horizontálnemu génovému transferu, nie sú vhodné pre fylogenetické analýzy evolučných vzťahov medzi jednotlivými skupinami baktérií (či iných organizmov). **Vo fylogenetike**, resp. systematike baktérií, ale aj archeónov a eukaryotov, sa využívajú najmä **gény** (resp. ich produkty), **ktoré horizontálnemu transferu nepodliehajú**. Na tieto účely sú spravidla využívané **ribozómové rRNA** (najmä z malej podjednotky ribozómov) **a ribozómové proteíny**, pričom vo väčšine prípadov ide v súčasnosti o kombináciu desiatok až viac ako sto génov a/alebo proteínov. Fylogenetické stromy konštruované za účelom štúdia evolučných vzťahov medzi vyššími taxónmi baktérií obyčajne porovnávajú sekvencie z veľkého množstva druhov zo všetkých hlavných skupín baktérií vrátane environmentálnych sekvencií.

V minulosti sa v systematike baktérií bolo možné najčastejšie stretnúť s rozdelením baktérií **na Gram-pozitívne a Gram-negatívne baktérie**. Na základe najnovších fylogenetických analýz možno v súčasnosti niektoré skupiny baktérií zaradiť do väčších zoskupení, resp. vyšších taxonomických jednotiek ako napr. kmene (phyla) a superkmene (superphyla) – **Proteobacteria** (zahrňujú napr. α-, β-, γ-, δ-, ε- a ζ-proteobacteria), **PVC** (zahrňujú napr. Planctomycetes, Verrucomicrobia a Chlamydiae), **FCB** (napr. Bacteroidetes a Chlorobi), **Terrabacteria** (napr. Cyanobacteria, Chloroflexi, Actinobacteria, Tenericutes a Firmicutes) a **CPR** (Parcubacteria a iné skupiny prevažne nekultivovaných baktérií) (Rinke a kol., 2013; Parks a kol., 2017; Castelle a Banfield, 2018). Existuje však veľké množstvo ďalších skupín baktérií, ktoré aktuálne nemožno zaradiť ani do jednej zo spomínaných vyšších taxónov. Postavenie mnohých baktériových skupín v rámci fylogenetického stromu baktérií sa v jednotlivých fylogenetických analýzach do značnej miery odlišuje v závislosti od výberu génov (resp. proteínov) a druhov zahrnutých do analýzy, ako aj od matematických modelov použitých pri konštrukcii stromov. V nasledujúcich podkapitolách sú stručne spomenuté niektoré z najznámejších skupín, podskupín a zástupcov baktérií.

15.4.1 Proteobacteria

„Purpurové baktérie a ich príbuzní“ (z angl. „purple bacteria and their relatives“) bol neformálny názov skupiny Proteobacteria (proteobaktérie) navrhnutej v roku 1987 Carlom

Woesom (Woese, 1987). Táto taxonomická skupina vyznačujúca sa svojou vysokou diverzitou bola neskôr pomenovaná podľa gréckeho boha mora Protea, ktorý bol schopný brať na seba rôzne podoby (Stackebrandt a kol., 1988). Do skupiny Proteobacteria patria **výlučne Gram-negatívne baktérie**.

Z hľadiska **metabolizmu** môžu byť zástupcovia taxónu Proteobacteria **chemoautotrofní**, **fotoautotrofní, ale aj heterotrofní** (Marín, 2014). Väčšina zástupcov je fakultatívne alebo výhradne anaeróbnych. Medzi **fototrofné proteobaktérie** patria mnohé **purpurové sírne a nesírnymi baktérie** žijúce v **anoxickom** (bez prítomnosti kyslíka), prípadne aj v aeróbnom prostredí (Imhoff a Hiraishi, 2005; Yurkov, 2006; Yurkov and Hughes, 2017; Imhoff a kol., 2018). **Fotosyntéza proteobaktérií** je **anoxygénna – neprodukuje kyslík**. Rovnako ako v prípade baktérií skupín Chloroflexi a Gemmatimonadetes je u fotosyntetických proteobaktérií v procese fotosyntézy využívaný **fotosystém typu II** (Imhoff a kol., 2018). Viacerí zástupcovia sa **podieľajú na kolobehu dusíka** v prírode (viď kapitola 12.3) a sírne baktérie aj **na kolobehu síry** (viď kapitola 12.4). **Väčšina** zástupcov proteobaktérií je **voľne žijúcich**, no niektorí zástupcovia (napr. rody *Helicobacter*, *Salmonella*, *Yersinia* a *Vibrio*) sú **patogénni** (viď kapitola 16).

Proteobacteria sú v rámci domény Bacteria spravidla považované za jednu z hlavných línií „stromu života“ (z angl. the tree of life) (Mindell, 2013), hoci niektoré fylogenetické analýzy naznačujú, že niektoré línie proteobaktérií by mali byť samostatnými skupinami (viď nižšie). Z taxonomického hľadiska sú Proteobacteria v rámci domény Bacteria najčastejšie považované za kmeň (phylum). **V rámci** kmeňa **Proteobacteria** sa najčastejšie môžeme stretnúť s rozdelením na skupiny (najčastejšie považované za triedy – classis) **α-proteobacteria, β-proteobacteria, γ-proteobacteria, δ-proteobacteria, ε-proteobacteria** a **ζ-proteobacteria.** Podľa najnovších taxonomických revízií patria medzi proteobaktérie aj skupiny (triedy) **Acidithiobacillia** (Williams a Kelly, 2013), **Hydrogenophylalia** (Boden a kol., 2017) a **Oligoflexia** (Nakai a kol., 2014).

Niektoré publikácie navrhujú, aby bola skupina Proteobacteria považovaná za superkmeň (superphylum) a mnohé triedy, ktoré do nej patria za samostatné kmene (phyla, vyššie taxonomické jednotky ako triedy) (Yarza a kol., 2014). Najnovšie fylogenetické analýzy naznačujú, že α-proteobacteria, β-proteobacteria, γ-proteobacteria, ζ-proteobacteria, Acidithiobacillia a Hydrogenophilalia sú pravdepodobne príbuzné a predstavujú jednu monofyletickú evolučnú líniu, pričom skupiny **δ-proteobacteria a ε-proteobacteria sa** vo fylogenetických stromoch často **nejavia byť blízko príbuzné ostatných proteobaktérií** (Williams a Kelly, 2013; Nakai a kol., 2014; Hug a kol., 2016; Boden a kol., 2017; Parks a kol. 2017; Castelle a Banfield, 2018; Waite a kol., 2017; viď kapitoly 15.4.1.4 a 15.4.1.5).

15.4.1.1 α-proteobacteria

Zástupcovia taxónu **α-proteobacteria** (alfa-proteobaktérie) sú značne rôznorodí. Skupinu tvoria **nesírne fototrofné purpurové baktérie a ich heterotrofní príbuzní**. **Fotosyntetiké α-proteobaktérie sú schopné anoxygénnej fotosyntézy**, pri ktorej nedochádza k produkcii kyslíka. V tomto procese je rovnako ako pri ostatných proteobaktériách využívaný **fotosystém typu II** (Imhoff a kol., 2018). Fotosyntetickými pigmentmi sú baktériochlorofyl *a* alebo *b* a karotenoidy (Imhoff a kol., 2015). Zástupcovia α-proteobaktérií sú prevažne aeróbni alebo fakultatívne aeróbni (Cavalier-Smith, 2002).

Zo skupiny α-proteobacteria pochádzal aj **endosymbický predchodca mitochondrií eukaryotickej bunky** (viď kapitola 21), ktorý mohol byť príbuzný α-proteobaktérií rodov *Rhodospirillum* (Esser a kol., 2004; Abhishek a kol., 2011; Thiergart a kol., 2012) alebo

Rickettsia (Andersson a kol., 1998; Sicheritz-Pontén a kol., 1998; Emelyanov, 2003; Abhishek a kol., 2011; Ferla a kol., 2013), prípadne bol zo skupiny metanotrofných alebo metylotrofných α-proteobaktérií, ktoré využívajú metán alebo metanol ako zdroj uhlíka (Degli Esposti, 2014; Degli Esposti a kol., 2014).

Medzi α-proteobaktérie patrí niekoľko podskupín (radov) ako napr. Rhodobacterales, Rhodospirillaleas, Rhizobiales, Rickettsiales, Caulobacterales, Magnetococcales, Pelagibacterales, Holosporales a Sphingomonadales.

Značné množstvo baktérií podskupiny (radu) **Rhodobacterales** patrí medzi **fotoautotrofné** alebo **fotoheterotrofné** (mixotrofné) druhy obsahujúce **baktériochlorofyl** (Kopejtka a kol., 2017), hoci mnohí zástupcovia schopnosť fotosyntézy nemajú. Fotosyntetickí zástupcovia majú **červené, ružové alebo purpurové sfarbenie v dôsledku prítomnosti karotenoidov**. Typickými zástupcami **nesírnych fototrofných purpurových baktérií** z tejto skupiny sú rody ***Rhodobacter*** a *Rhodovulum*, ktorí sú schopní sa vyživovať za anaeróbnych podmienok fotoautotrofne a v prítomnosti kyslíka heterotrofne. Niektorí morskí fotoheterotrofní zástupcovia ako napr. rod ***Roseobacter*** však fotosyntetizujú za aeróbnych podmienok (Wagner-Döbler a Biebl, 2006; Moran a kol., 2007; Brinkhoff a kol., 2008), nemajú enzým RuBisCO a svetlo využívajú len ako prídavný zdroj energie (Koblížek a kol., 2013). Baktérie zo skupiny Rhodobacterales majú zvyčajne **tyčinkovitý tvar**, ale napr. baktéria *Rhodobacter sphaeroides* je schopná modifikácie tvaru z tyčinky na kokobacila v závislosti od zmeny jej rastových podmienok (Slovak a kol., 2005). Ďalšími príkladmi rodov baktérií z radu Rhodobacterales sú *Paracoccus*, *Phaebacter*, *Pseudovibrio*, *Ruegeria* a *Sulfitobacter*.

Mnohé **fotosyntetické** α-proteobaktérie patria aj do radu **Rhodospirillales** a čeľade **Rhodospirillaceae** (napr. rody *Rhodospirillum* a *Rhodospira*), do ktorej boli kedysi radené všetky **nesírne fototrofné purpurové baktérie**. Do skupiny Rhodospirillales však patrí aj čeľaď **Acetobacteraceae**, kam patria **heterotrofní, obligátne aeróbni** zástupcovia **tyčinkovitého tvaru** (napr. rod *Acetobacter*), ktorí oxidujú cukry alebo etanol a **počas respirácie produkujú kyselinu octovú** a majú využitie v potravinárstve.

Do radu **Rhizobiales** patria **fototrofné purpurové** (Imhoff a kol., 2018), **symbiotické**, ale aj **patogénne** α-proteobaktérie. Baktérie tohto radu sú významnou **zložkou mikrobioty** (symbionty) mnohých druhov **suchozemských rastlín** (Garrido-Oter a kol., 2018). **Viaceré druhy** zo skupín (čeľadí) Rhizobiaceae, Bradyrhizobiaceae, Phyllobacteriaceae a Hyphomicrobiaceae majú **schopnosť fixácie vzdušného dusíka** (diazotrofia), čím ho môžu v pôde sprístupniť koreňom rastlín. Príkladom sú rody *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium* a ***Rhizobium***, ktorých zástupcovia žijú **v symbióze s koreňmi leguminóznych** (bôbovitých) **rastlín** z čeľade Fabaceae. Súčasťou koreňového systému neleguminóznych rastlín sú však často aj nediazotrofné baktérie zo skupiny Rhizobiales, ktorých význam pre rastliny nie je doposiaľ objasnený (Garrido-Oter a kol., 2018). Garrido-Oter a kol. (2018) predpokladajú, že schopnosť baktérií fixovať vzdušný dusík sa vyvinula až po ich prispôsobení sa rastlinnému hostiteľovi a nie naopak. Niektoré, tzv. **metylotrofné** skupiny (čeľade) radu Rhizobiales (Methylobacteriaceae, Methylococcaceae a Methylocystaceae) využívajú ako **zdroj uhlíka organické zlúčeniny s jedným atómom uhlíka** ako napr. metanol, metylamín, formaldehyd a metán. Striktne aeróbni, fakultatívne metylotrofní zástupcovia rodu ***Methylobacterium*** paličkovitého tvaru majú ružové sfarbenie (Dourado a kol., 2015). Niektorí zástupcovia tohto rodu majú zachované aj gény kódujúce proteíny svetlo-zberného komplexu a enzýmy pre syntézu baktériochlorofylu (Marx a kol., 2012). *Methylobacterium* spp. môžu byť tiež symbiontami rastlín (Dourado a kol., 2015). Medzi **patogénne** baktérie radu **Rhizobiales** patria napr. zástupcovia rodov ***Bartonella, Brucella* a *Agrobacterium*** (viď. kapitola 16.1.1).

Zástupcovia radu **Rickettsiales** sú malé **obligátne intracelulárne symbionty eukaryotických buniek**, pričom **mnohé z nich sú parazitické**. Rod ***Wolbachia*** sa bežne sa vyskytujúci u množstva článkonožcov (napr. kliešťa *Ixodes ricinus*) alebo nematód (Zhang a kol., 2011), pričom často ide skôr o mutualistu (prospešného endosymbionta závislého od svojho hostiteľa) ako o parazita. Významnými rodmi **patogénnych baktérií** radu Rickettsiales sú napr. ***Rickettsia, Anaplasma*** alebo ***Ehrlichia*** (viď kapitola 16;1;1;2). Endosymbionty (resp. parazity) ako *Wolbachia* a *Rickettsia* môžu ovplyvniť fyziológiu, ale aj správanie a pomer pohlaví svojich hostiteľov (napr. pavúkovcov) v prospech svojho prenosu (Rowley a kol., 2004; Goodacre a kol., 2006; Duron a kol., 2008; Gunnarsson a kol., 2009; Paddock a kol., 2010; Wang a kol., 2010; Vanthournout a kol., 2011). Niektoré štúdie naznačujú, že by predchodca mitochondrií mohol pochádzať práve zo skupiny Rickettsiales (Andersson a kol., 1998; Sicheritz-Pontén a kol., 1998; Emelyanov, 2003; Abhishek a kol., 2011; Ferla a kol., 2013).

Do radu **Magnetococcales** patria **magnetotaktické baktérie**. V cytoplazme ich buniek prítomné **magnetozómy**, **organely obsahujúce** magnetické častice **bohaté na železo obalené membránou**, ktoré baktériám slúžia na orientáciu v priestore. Reprezentatívnym zástupcom tohto taxónu je druh *Magnetococcus marinus*. *M. marinus*, kmeň *MC-1(T)* je baktéria sférického tvaru s dvoma zväzkami lofotrichálne umiestnených bičíkov (Bazylinski a kol., 2013). Vyživuje sa **chemolitoautotrofne** (chemo- – energiu získavajú rozkladom molekúl, lito- – donorom elektrónov sú anorganické látky, v tomto prípade sulfidy alebo tiosulfáty, auto- – zdrojom uhlíka je CO_2) alebo **chemoorganoheterotrofne** (organo- – donorom elektrónov sú organické látky, v tomto prípade acetát; hetero- – zdrojom uhlíka sú organické látky, v tomto prípade tiež acetát) (Bazylinski a kol., 2013).

15.4.1.2 β-proteobacteria

Baktérie zo skupiny **β-proteobacteria** (beta-proteobaktérie) **sú blízko príbuzné** baktériám zo skupiny **γ-proteobacteria** (gama-proteobaktérie). **β-proteobacteria a γ-proteobacteria** sú často zaraďované do spoločného taxónu **Chromatibacteria (Cavalier-Smith, 2002),** do ktorého sa v novších systémoch radia aj ďalšie dve skupiny (triedy) – **Hydrogenophilalia** (pôvodne radené medzi β-proteobaktérie) a **Acidithiobacillia** (pôvodne radené medzi γ-proteobaktérie) (Dworkin a kol., 2006; Williams a Kelly, 2013; Boden a kol., 2017).

β-proteobaktérie sú **prevažne heterotrofné, len niektoré** (purpurové nesírne β-proteobaktérie) sú **schopné anoxygénnej fotosyntézy** sprostredkovanej **fotosystémom II** za účasti fotosyntetických pigmentov **baktériochlorofylu** a **karotenoidov** (Imhoff, 2006). β-proteobaktérie sú prevažne aeróbne alebo fakultatívne aeróbne.

V súčasnosti sa skupina β-proteobacteria rozdeľuje na štyri podskupiny (rady) Rhodocyclales, Neisseriales, Burkholderiales a Nitrosomonadales (Boden a kol., 2017). Rad Hydrogenophilales bol nedávno vyňatý zo skupiny β-proteobaktérií a v súčasnosti predstavuje samostatnú skupinu (triedu) Hydrogenophilalia (viď nižšie). Ďalšou významnou zmenou v klasifikácii β-proteobaktérií bolo presunutie zástupcov pôvodného radu Methylophilales (resp. čeľade Methzlophilaceae) do radu Nitrosomonadales (Boden a kol., 2017). K β-proteobaktériám pravdepodobne patria alebo sú im blízko príbuzní aj endosymbionti rodu *Acanthamoeba* (eukaryotické améby zo skupiny Amoebozoa), ktorých nie je možné kultivovať samostatne bez hostiteľa (Horn a kol., 2002).

Baktérie zo skupiny (radu) **Rhodocyclales** môžu mať tvar paličiek (napr. *Thauera aromatica*), zakrivených paličiek (napr. rod *Azospira*), kokov (napr. *Quatrionicoccus* spp.)

a polprstencov alebo prstencov (napr. *Rhodocyclus purpureus*). Do radu Rhodocyclales patria anoxygénne fotoheterotrofné, chemoautotrofné alebo metylotrofné baktérie. Rad rozdeľujeme na tri čeľade – Rhodocyclaceae (napr. rody *Rhodocyclus* a *Azospira*), Azonexaceae (napr. rody *Azonexus* a *Quatrionicoccus*) a Zoogloeaceae (napr. rody *Zoogloea* a *Thauera*). Zástupcovia rodu ***Rhodocyclus*** sa môžu vyživovať **fotoheterotrofne alebo fotoautotrofne** s využitím molekulového vodíka ako donora elektrónov **za anoxických podmienok** (bez prístupu kyslíka), prípadne **heterotrofne** s využitím organických látok (napr. mastných kyselín) **v prítomnosti kyslíka**. Ako fotosyntetické organely im slúžia špecializované vezikuly. Príkladmi zástupcov rodu *Rhodocyclus* sú motilné baktérie *R. gelatinosus* (*Rubrivivax gelatinosus*) a *R. tennuis* s polárne umiestnenými bičíkmi a nemotilný zástupca *R. purpureus* (Imhoff, 2006; Imhoff a kol., 2015). Zástupcovia rodu *Azospira* ako napr. *Azospira restricta* majú schopnosť fixácie vzdušného dusíka a sú asociované s koreňmi rastlín (Bae a kol., 2007).

Do radu **Neisseriales** patria dve čeľade Chromobacteriaceae a Neisseriaceae. Do čeľade **Chromobacteriaceae** patrí rod Gram-negatívnych baktérií ***Chromobacterium***. Zástupcami tohto radu sú napr. *C. violaceum* a *C. subtsugae*. ***C. violaeceum*** je fakultatívne aeróbny nesporulujúci kokobacil s jedným bičíkom umiestneným na póle bunky. Tento mikroorganizmus má často aj jeden alebo dva laterálne umiestnené bičíky (Ray a kol., 2004). *C. violaeceum* produkuje prírodnú látku **violaceín** využiteľnú **v liečbe rakoviny** hrubého čreva, ako aj iných druhov rakoviny (Kodach a kol., 2006). Do čeľade **Neisseriaceae** sa radia **striktne aeróbne** Gram-negatívne baktérie **bez bičíkov**, ktoré sa vyskytujú prevažne v párocb ako **diplokoky**. Aj keď sú mnohí zástupcovia tejto čeľade **komenzálmi cicavcov** alebo sú prirodzenou súčasťou ich mikrobioty, do rodu *Neisseria* patria aj významné **ľudské patogény** ako ***N. gonorrhoea*** spôsobujúca **kvapavku** a *N. meningitidis* spôsobujúca meningokoková meningitída (viď kapitola 16.2.1).

Do radu **Burkholderiales** patria čeľade Gram-negatívnych baktérií ako napr. Burkholderiacae, Commamonadaceae a Alcaliginaceae. Významnými rodmi čeľade **Alcaligenaceae** sú napr. *Alcaligenes*, *Achromobacter* a *Bordetella*. Do rodu ***Alcaligenes*** patria prevažne aeróbne tyčinkovité motilné, zriedkavo nemotilné baktérie. Motilným zástupcom zabezpečujú pohyb amfitrichálne umiestnené bičíky. Typickým predstaviteľom tohto rodu je patogénna baktéria ***A. faecalis***, ktorá sa bežne vyskytuje vo vode, v pôde a v črevách stavovcov, no u imunokompromitovaných pacientov (s narušeným imunitným systémom) môže spôsobiť nozokomiálnu (získanú v nemocničnom prostredí) sepsu. Medzi významné patogény patria aj zástupcovia rodu ***Bordetella*** ako napr. ***B. pertussis***, pôvodca infekčného ochorenia **pertussis**, tzv. **čierny kašeľ** (viď kapitola 16.2.2). Rod ***Achromobacter*** reprezentujú striktne aeróbne tyčinkovité baktérie vyskytujúce sa vo pôde a vode. Pri pohybe baktérie využívajú jeden, prípadne viacero peritrichálnych bičíkov. Príkladom zástupcu je *A. xylosoxidans*. Do čeľade **Comamonadaceae** patrí napr. rod ***Rhodoferax***, ktorého zástupcovia sú typické **nesírne purpurové anoxygénne fototrofné baktérie**, no známe sú aj nefotosyntetické druhy tohto rodu (Imhoff , 2006).

Do radu **Nitrosomonadales** patria čeľade ako napr. Nitrosomonadaceae, Spirillaceae, Thiobacillacea a Methylophilaceae, ktorá bola pôvodne samostatným radom v rámci β-proteobaktérií. Do čeľade **Nitrosomonadaceae** patria rody *Nitrosomonas*, *Nitrosolobus* a *Nitrosospira* (Boden a kol., 2017). Tyčinkovité **chemoautotrofné baktérie** rodu ***Nitrosomonas*** **oxidujú amoniak na dusitany** v procese označovanom ako **nitritácia** (viď kapitola 12.3), čím sú významnou súčasťou **kolobehu dusíka** v prírode. Energiu získanú oxidáciou amoniaku ďalej využívajú na fixáciu CO_2. Dusitany môžu byť ďalej v procese **nitratácie** oxidované na dusičnany pôsobením nitratačných baktérií (ako napr. α-proteobaktéria rodu *Nitrobacter* z radu Rhizobiales). Nitritácia a nitratácia sa súborne označujú ako **nitrifikácia** (viď kapitola 12.3). Väčšina baktérií rodu *Nitrosomonas* je

motilných s polárne umiestneným bičíkom. Typickými zástupcami sú napr. *N. europaea*, *N. nitrosa*, *N. marina* a *N. eutropha*. Do čeľade **Methylophilaceae** patria rody *Methylophilus*, *Methylobacillus* a *Methylovorus*, ktorých zástupcovia majú tvar mierne zahnutých alebo rovných paličiek (Boden a kol., 2017). **Metylotrofné** baktérie ako napr. zástupcovia rodu ***Methylophilus*** **oxidujú** organické látky ako napr. **metanol na oxid uhličitý**, čím sú významnými účastníkmi **kolobehu uhlíka** v prírode. **Chemoautotrofné** rody baktérií ako ***Thiobacillus*** a ***Annwoodia*** z čeľade **Thiobacillaceae** oxidujú tiosulfáty $(S_2O_3)^{2-}$ alebo sulfidy na sírany, a tým zase zohrávajú kľúčovú úlohu v **kolobehu síry** (Boden a kol., 2017).

15.4.1.3 Hydrogenophilalia

Zástupcovia skupiny **Hydrogenophilalia** sa v pomerne nedávnej minulosti radili medzi β-proteobaktérie, no v súčasnosti je táto skupina považovaná za **samostatnú triedu proteobaktérií v rámci Chromatibacteria** (Dworkin a kol., 2006; Williams a Kelly, 2013; Boden a kol., 2017). Trieda Hydrogenophilalia pozostáva z jediného radu Hydrogenophilales a čeľade Hydrogenophilaceae. Patria sem **termofilné** (rastúce pri teplote okolo 50 °C), **chemoautotrofné** a **heterotrofné aeróbne** baktérie. Všetky známe druhy tejto skupiny **využívajú molekulový vodík** alebo organické molekuly **ako zdroj elektrónov** a molekulový kyslík, prípadne dusičnany ako ich terminálne akceptory. Do skupiny Hydrogenophilalia patria rody *Hydrogenophilus* a *Tepidiphilus*, hoci v minulosti sa sem radil napr. aj rod *Thiobacillus* v súčasnosti radený medzi Nitrosomonadales zo skupiny β-proteobaktérií (Boden a kol., 2017).

15.4.1.4 γ-proteobacteria

γ-proteobacteria (gama-proteobaktérie) boli v minulosti často označované aj ako**„fotosyntetické purpurové sírne baktérie a ich príbuzný“** (Woese 1987). Skupiny **γ- a β-proteobacteria** tvoria spolu s triedami Hydrogenophilalia a Acidithiobacillia líniu **Chromatibacteria**, ktorá je na základe fylogenetických analýz **blízko príbuzná skupinám α-proteobacteria** a ζ-proteobacteria (zeta-proteobaktérie) (Cavalier-Smith, 2002; Dworkin a kol., 2006; Williams a Kelly, 2013; Hug a kol., 2016). Už dávnejšie bolo preto navrhnuté, aby boli **α-, β- a γ-proteobaktérie** radené **do spoločného taxónu Rhodobacteria** (Cavalier-Smith, 2002), kam by sa mohli v súčasnosti zaraďovať aj skupiny Hydrogenophilalia, Acidithiobacillia a ζ-proteobacteria (zéta-proteobaktérie). Cavalier-Smith (2002) predpokladá, že spoločný predchodca Rhodobacteria bol fototrof obsahujúci baktériochlorofyly *a*, *c* a *d* a karotenoidy. Mnohí zástupcovia α-, β- a γ-proteobaktérií vrátane patogénov však schopnosť fotosyntézy sekundárne stratili.

Do skupiny **γ-proteobakteria** patria rady ako napr. **Pseudomonadales Vibrionales, Xanthomonadales, Pasteurellales, Enterobacterales, Chromatiales a Legionellales**. Medzi medicínsky významné skupiny baktérií patria najmä čeľade **Enterobacteriaceae** (rad Enterobacteriales), **Vibrionaceae** (rad Vibrionales) a **Pseudomonadaceae** (rad Pseudomonadales). Ľudskými patogénnymi γ-proteobaktériami sú napr. ***Yersinia pestis***, pôvodca moru, ***Vibrio cholerae***, pôvodca cholery, ***Legionella pneumophila*** spôsobujúca legionelózu a mnohé ďalšie (viď kapitola 16.3).

Anoxygénne fotosyntetické purpurové sírne γ-proteobaktérie patria do radu **Chromatiales**. Tieto baktérie sú anaeróbne alebo mikroaerofilné. Fotosyntetické pigmenty sú

lokalizované v plazmatickej membráne a jej derivátoch – v lamelách, ktoré sú s ňou kontinuálne. Tieto baktérie nevyužívajú vodu ako donor elektrónov v procese fotosyntézy, a preto **neprodukujú molekuly kyslíka**. Namiesto vody využívajú **v procese fotosyntézy ako donor elektrónov zlúčeniny síry ako sulfidy a thiosulfáty** $(S_2O_3)^{2-}$, **ktoré oxidujú až na elementárnu síru**, ktorá môže byť **oxidovaná až na sírany**. Niektoré druhy však môžu využívať ako donor elektrónov aj molekulový vodík, železnaté zlúčeniny alebo dusitany. **Granule síry** môžu byť produkované **vo vnútri bunky** (čeľaď Chromatiaceae, napr. rod *Chromatium*) alebo vylučované **do extracelulárneho prostredia** (čeľaď Ectothiorhodospiraceae, napr. rod *Ectothiorhodosinus*). Medzi Chromatiales však patria aj **chemolithoautotrofné baktérie** nevyužívajúce svetelnú energiu, no metabolizujúce zlúčeniny síry ako napr. rod ***Halothiobacillus*** (čeľaď Halothiobacillaceae) alebo ***Thioalkalibacter*** (čeľaď Thioalkalibacteraceae). Zástupcovia čeľadí Thioalkalibacteraceae a Halothiobacillaceae môžu byť halofilní, halotolerantní, alkalifilní alebo alkalitolerantní mezofili alebo termofili (Boden, 2017).

Medzi γ-proteobaktéri patrí aj zrejme najlepšie preštudovaná baktéria ***Escherichia coli*** zo skupiny **Enterobacteriaceae** (rad Enterobacteriales), ktorá je už niekoľko desaťročí obľúbeným modelovým organizmom molekulovo-biologického výskumu. Niektoré kmene tejto baktérie **paličkovitého tvaru** sú vďaka bičíkom, ktoré sa nachádzajú spravidla po celom povrchu bunky, motilné (Darnton a kol., 2007). Napriek tomu, že **väčšina kmeňov *E. coli* nie je patogénnych**, niektoré môžu u človeka vyvolať ochorenia (viď kapitola 16.3.1.4). Baktéria je prirodzenou súčasťou normálnej črevnej mikrobioty človeka a živočíchov. *E. coli* je pravdepodobne aj najčastejšie geneticky modifikovaným organizmom. Jeho mutantné a geneticky modifikované kmene majú rozsiahle využitie v oblasti biotechnológií, farmaceutike (výroba komerčne a medicínsky zaujímavých látok), ale aj v základnom molekulovo biologickom výskume. Najbežnejšie laboratórne využívaný nepatogénny kmeň *E. coli K12* má veľkosť genómu 4.6 Mb.

15.4.1.5 Acidithiobacillia

Medzi γ-proteobaktérie sa ešte v nedávnej v minulosti radili aj zástupcovia **Acidithiobacillia**. V súčasnosti ide o samostatný taxón (triedu) v rámci proteobaktérií, reprezentovaný jediným radom Acidithiobacillales s dvoma skupinami (čeľaďami) baktérií oxidujúcich síru – Aciditiobacillaceae a Thermithiobacillaceae (Williams a Kelly, 2013). Paličkovitá baktéria rodu ***Acidithiobacillus ferrooxidans*** získava energiu pre svoj chemoautotrofný rast **v procese oxidácie železa a síry**, v ktorom vzniká trojmocné železo (Fe^{3+}) a kyselina sírová.

15.4.1.6 δ-proteobacteria

Ďalšou podskupinou (triedou – classis alebo kmeňom – phylum) skupiny (kmeňa – phylum alebo superkmeňa – superphylum) Proteobacteria je **δ-proteobacteria** (delta-proteobaktérie). Cavalier-Smith (2002) predpokladal, že skupiny δ- a ε-proteobacteria (epsilon-proteobaktérie) sú blízko príbuzné a navrhol, aby boli klasifikované do spoločného taxónu **Thiobacteria**. Niektoré najnovšie fylogenetické analýzy ale naznačujú, že δ-proteobacteria predstavuje samostatnú fylogenetickú líniu, ktorá je **skôr príbuzná iným skupinám baktérií** (napr. Dadabacteria) **ako ostatným proteobaktériám** (Hug a kol., 2016;

Parks a kol. 2017; Castelle a Banfield, 2018). Navyše rad **Desulfurellales** tradične radený medzi δ-proteobacteria sa na základe fylogenetických analýz ukázal byť príbuzný skupine ε-proteobacteria, na základe čoho bolo nedávno navrhnuté, aby sa tento rad **a ε-proteobaktérie** zaraďovali do spoločného taxónu **Epsilonbacteraeota** (Waite a kol., 2017). Vzhľadom na nepríbuznosť Epsilonbacteraeota, ako aj δ-proteobacterií ostatným proteobaktériám je tradičný taxón Proteobacteria pravdepodobne polyfyletický**,** a teda zahrňuje fylogeneticky nepríbuzné skupiny baktérií.

Do skupiny **δ-proteobaktérií** patria prevažne **aeróbne baktérie so schopnosťou tvorby mnohobunkových útvarov z radu Myxococcales**, ako aj striktne **anaeróbne baktérie redukujúce síru** (napr. rod *Desulfuromonas* z radu **Desulfuromonadales**), prípadne **sírany** – napr. rody *Desulfobacter, Desulfobacterium* a *Desufococcus* z radu **Desulfobacterales** a rod *Desulfovibrio* z radu **Desulfovibrionales** (Garrity a kol., 2005). Niektorí zástupcovia ako napr. rod *Syntrophus* z radu **Syntrophobacterales** môžu žiť v syntrofii s inými prokaryotickými mikroorganizmami. **Syntrofia** je **vzájomná nutričná závislosť medzi** dvomi alebo viacerými **druhmi mikroorganizmov**. Syntrofickí partneri si tak vzájomne poskytujú (produkujú, vylučujú) metabolity potrebné pre ich rast (Morris a kol., 2013).

Do radu **Desulfuromonadales** patria rody baktérií ako napr. *Desulfuromonas* (čeľaď Desulfuromonadaceae), *Geobacter* (Geobacteraceae) a *Pelobacter* (Pelobacteraceae). Príkladom zástupcov anaeróbneho rodu ***Desulfuromonas***, ktorí **redukujú elementárnu síru na sírovodík**, sú baktéria tvaru tyčinky ***D. acetoxidans*** s laterálnym bičíkom (hoci niektoré kmene sú nemotilné) (Pfenning a Biebl, 1976) a nemotilná tyčinka ***D. carbonis***. Anaeróbne baktérie rodu ***Geobacter*** sú použiteľné v **bioremediáciách** – **v odstraňovaní toxických látok** (resp. ich premieňaní na menej škodlivé) **z prostredia** (napr. vody a pôdy) **prostredníctvom mikroorganizmov**. Zástupcovia tohto rodu sú **schopní oxidovať organické látky obsiahnuté v rope** (ale aj iné organické látky) **na oxid uhličitý**, pričom ako **terminálne akceptory elektrónov využívajú železo alebo iné kovy** (resp. ich zlúčeniny), **vrátane rádioaktívnych** (napr. urán), ktoré redukujú (Childers, 2002). Typickými predstaviteľmi rodu *Geobacter* sú napr. tyčinkovité baktérie *G. tolueonoxydans, G. uraniireducens, G. metallireducens* a *G. sulfurreducens*. Príkladom rodu z čeľade Pelobacteraceae je *Pelobacter*. Zástupcovia tohto rodu sú tyčinkovitého tvaru a môžu sa vyskytovať samostatne, v párocH alebo retiazkach. Príkladom druhu tohto rodu je striktne anaeróbna tyčinkovitá nesporulujúca baktéria ***P. acetylenicus,*** ktorá **môže využívať acetylén** (prípadne iné jednoduché organické látky) **ako jediný zdroj uhlíka a energie** – je chemoorganoheterotrof (Schink, 1985).

Do radu **Syntrophobacterales** patria **striktne anaeróbne**, často **syntrofické** baktérie (napr. rod *Syntrophus*). M**nohé majú schopnosť redukovať sírany**. Niektoré sú pohyblivé s jedným polárnym bičíkom. **Syntrofický** zástupca ***Syntrophus aciditrophicus*** je nesporulujúca nemotilná baktéria tvaru tyčinky. Degraduje napr. mastné kyseliny a benzoát, pričom **produkuje molekulový vodík**, ktoré **využívajú iné mikroorganizmy**, napr. metanogény alebo baktérie redukujúce sírany (Elshahed a McInerney, 2001).

Striktne anaeróbne baktérie radu **Desulfobacterales**, ktoré **redukujú sírany na sulfidy**, sa vyznačujú morfologickou diverzitou. Môžu mať napr. tvar kokov alebo rovných, ako aj zahnutých paličiek. Mnohým zástupcom zabezpečuje motilitu polárne umiestnený bičík. Niektoré baktérie tvoria agregáty podobné sarcínam (*Desulfurosarcina variabilis*) alebo multicelulárne filamenty (*Desulfonema limicola*) (Garrity a kol., 2005).

Do radu **Desulfovibrionales** patria prevažne **baktérie redukujúce sírany** (napr. rod *Desulfovibrio*) s výnimkami rodov *Lawsonia* a *Bilophila*. Všetci zástupcovia sú **obligátne anaeróbni**, no niektorí môžu tolerovať aj pomerne vysoké koncentrácie kyslíka (sú aerotolerentní). Spravidla sú motilní, tvaru zahnutej (vibriá) alebo rovnej tyčinky (bacily).

Väčšina zástupcov je mezofilných, avšak patrí sem aj niekoľko mierne termofilných druhov baktérií (napr. *Desulfovibrio thermophilus*) (Garrity a kol., 2005).

Do radu **Myxococcales (myxobaktérie)** patria **aeróbne organotrofné δ-proteobaktérie**, ktoré sa vyskytujú **najmä v pôde**. Myxobaktérie sú **schopné kĺzavého pohybu** (angl. gliding), ktorý **nie je sprostrednovaný bičíkmi**, pilusmi ani fimbriami. Tento typ motility bol pozorovaný aj u rôznych iných fylogeneticky vzdialených skupín baktérií ako napr. cyanobaktérie, flavobaktérie prípadne mykoplazmy (McBride, 2001). Myxobaktérie sa vďaka chemickým signálom môžu takýmto spôsobom pohybovať v celých húfoch. V prípade, že sa myxobaktérie nachádzajú **v prostredí s nedostatkom živín**, tvoria **multicelulárne útvary podobné plodniciam húb** (angl. fruiting bodies). Plodnice myxobaktérií majú v závislosti od konkrétneho druhu rôzne tvary a sfarbenie. Na začiatku sú vegetatívne bunky baktérií v plodnici tyčinkovité a až neskôr sa z nich stávajú **okrúhle myxospóry s hrubou bunkovou stenou**, vďaka ktorej dokážu dlhší čas prežiť nevhodné podmienky. Proces formovania plodníc bol dlho považovaný za výsledok chemotaxie (pohybovej reakcie organizmov na chemické stimuly), avšak v súčasnosti sa predpokladá, že k ich tvorbe dochádza formou **signalizácie sprostredkovanej kontaktom baktérií** (Kiskowski a kol., 2004; Sozinova a kol., 2005). V rámci štúdia procesu formovania plodníc bola často využívaným modelovým organizmom najmä tyčinkovitá myxobaktéria *Myxococcus xanthus*. V porovnaní s inými baktériami sa myxobaktérie vyznačujú **pomerne veľkými genómami – 9-10 Mbp**. Zástupca *Minicystis rosea* má však genóm až s veľkosťou približne 16 Mbp (Sharma a Subramanian, 2016). Medzi myxobaktérie s menšími genómami patria *Vulgatibacter incomptus* (cca 4.35 Mbp) (Subramanian a Sharma, 2015) a *Anaeromyxobacter dehalogenans* (cca 5.01 Mbp) (Thomas a kol., 2008).

15.4.1.7 Oligoflexia

Oligoflexia sú relatívne novým taxónom (triedou) proteobaktérií, ktorý bol navrhnutý na základe fylogenických analýz. Do skupiny Oligoflexia v súčasnosti zaraďujeme rady **Oligoflexales** (Nakai a kol., 2014), **Silvanigrellales**, Bdellovibrionales a Bacteriovoracalles (Hahn a kol., 2017).

Taxonomické skupiny Oligoflexales (napr. rod *Oligoflexus*) a Silvanigrellales (napr. rod *Silvanigrella*) sú relatívne nové a doteraz popísaní zástupcovia sú **Gram-negatívni aeróbni chemoorganoheterotrofi s pleomorfnou** (rôznorodou) **morfológiou** v rámci druhov (paličky, filamenty, špirálovité filamenty) (Nakai a kol., 2014; Hahn a kol., 2017).

Zástupcovia súčasných radov **Bdellovibrionales** (napr. rod *Bdellovibrio*) **a Bacteriovoracalles** (napr. rod *Bacteriovorax*) sú prevažne **predátori (resp. paraziti) napádajúci iné Gram-negatívne baktérie**. Ešte **donedávna** boli **radení medzi δ-proteobaktérie**. Jedným z najlepšie preštudovaných zástupcov rodu ***Bdellovibrio*** je baktéria s tvarom mierne zahnutej tyčinky (vibria) a jedným polárnym bičíkom – ***B. bacteriovorus***. ***B. bacteriovorus*** **je parazitom periplazmy Gram-negatívnych baktérií** (napr. *E. coli*). Počas infekcie sa baktéria prichytí o vonkajšiu membránu hostiteľskej Gram-negatívnej baktérie, prenikne do jej periplazmy a stane sa nemotilnou (štádium nazývané bdelloplast). V periplazme dochádza k postupnému čerpaniu živín z hostiteľskej bunky a rastu bdelloplastu. Sekrécia degradačných enzýmov do cytoplazmy hostiteľa vedie k jej postupnému zmenšovaniu až úplnému zániku. Po zániku hostiteľskej cytoplazmy sa veľká stočená bunka viacnásobne rozdelí a vznikne mnoho buniek, ktorým sa následne obnovia bičíky. Na záver je vonkajšia membrána Gram-negatívnej baktérie rozpustená, pričom dcérske pohyblivé bunky unikajú do prostredia a infikujú ďalších hostiteľov (Saier, 1994).

15.4.1.8 Epsilonbacteraeota

Nedávno bolo na základe fylogenetických analýz navrhnuté, aby skupina **ε-proteobacteria** (epsilon-proteobaktérie) a rad **Desulfurellales (pôvodne radený medzi δ-proteobaktérie**) boli zaradené do spoločného samostatného taxónu (kmeňa, phyllum) **Epsilonbacteraeota** (Waite a kol., 2017). Vo väčšine systémov však nájdeme skupinu Desulfurellales stále klasifikovanú ako rad v rámci δ-proteobaktérií.

Skupinu **Desulfurellales** reprezentujú rody *Desulfurella* a *Hippea*. Do rodu ***Desulfurella*** patrí napr. Gram-negatívna, **termofilná**, tyčinkovitá baktéria *D. multipotens*, ktorá **redukuje síru**. Jej motilitu zabezpečuje polárne umiestnený bičík (Miroshnichenko a kol., 1994). Do rodu *Hippea* sa zaraďuje napr. Gram-negatívna, obligátne anaeróbna, morská termofilná paličkovitá baktéria *H. maritima*, ktorá sa rovnako vyznačuje schopnosťou redukovať síru (Miroshnichenko a kol., 1999).

Do skupiny ε-proteobacteria (epsilon-proteobaktérie) patrí len niekoľko známych rodov. Voľne žijúci zástupcovia sú prevažne **hypertermofilné alebo termofilné baktérie oxidujúce vodík** a/alebo **síru.** Niektorí zástupcovia síru naopak redukujú. **Viaceré druhy sú však aj parazitické** (Cavlier-Smith, 2002). Väčšina zástupcov má jeden polárny bičík. Termofilné, hypertermofilné, ale aj mezofilné ε-proteobaktérie plnia **významné úlohy v hlbokomorských hydrotermálnych ekosystémoch** ako chemolitotrofní **primárni producenti** (Nakagawa a Takaki, 2009; Huber a kol., 2010; Flores a kol., 2011). V niektorých fylogenetických analýzach predstavujú ε-proteobaktérie samostatnú líniu mimo ostatných proteobaktérií (Rinke a kol., 2013; Parks a kol., 2017). Podľa najnovších fylogenéz sú najbližšími príbuznými zástupcovia už spomínanej skupiny Desulfurellales (Waite a kol., 2017; Hahn a kol., 2017).

Medzi **ε-proteobacteria** patria rady **Campylobacterales** a **Nautiliales**. Príkladom voľne žijúceho zástupcu radu **Campylobacterales** je **mezofilný rod *Sulfurimonas***, ktorý **oxiduje vodík a síru a redukuje dusičnany** (nitrát). Príkladmi **patogénnych rodov** z radu Campylobacterales sú ***Helicobacter*** (čeľaď Helicobacteraceae, viď kapitola 16.4), *Campylobacter* a *Arcobacter* (čeľaď Campylobacteraceae) (Waite a kol., 2017). Niektoré ε-proteobaktérie sú prirodzenou súčasťou tráviaceho traktu zvierat. Príkladom takéhoto zástupcu z radu Campylobacterales je symbiotické baktéria rodu *Wolinella*, ktorá sa vyskytujú v tráviacom trakte hovädzieho dobytka. Príkladom zástupcu z radu **Nautiliales** je **termofilná chemolitoautotrofná** baktéria ***Nautilia profundicola***, žijúca anaeróbne pri teplotách (30-55 °C) **v hlbokomorskom prostredí bohatom na síru** (ktorú redukuje)**, vodík a oxid uhličitý**, ktorá však **môže žiť aj symbioticky na povrchu mnohoštetinatcov** *Alvinella pompejana* (Smith a kol., 2008).

15.4.1.9 ζ-proteobacteria

Skupina **ζ-proteobacteria** (zeta-proteobaktérie) je pravdepodobne **príbuzná α-, β-, a γ-proteobaktériám** (Hug a kol., 2016; Hahn a kol., 2017). Príkladom zástupcu ζ-proteobaktérií je neutrofilná (žijúca v prostredí s neutrálnym pH), chemolitoautotrofná baktéria ***Mariprofundus ferrooxydans*** (Euzéby, 1997). Druhové meno baktérie vychádza z jej schopnosti **oxidovať železo** za účelom získania energie. ζ-proteobaktérie rozšírené v hydrotermálnych ekosystémoch zohrávajú významnú úlohu v kolobehu železa v prírode (Roost a kol., 2017).

15.4.2 Terrabacteria

Superkmeň **Terrabacteria zahŕňa skupiny** (kmene) **Cyanobacteria** (viď kapitola 19), **Chloroflexi, Actinobacteria, zoskupenie „Deinoccocus-Thermus“, Armatimonadetes, Firmicutes vrátane Tenericutes**, ale aj ďalšie taxóny (Battistuzzi a kol., 2004; Battistuzzi a Hedges, 2009). Blízke vzťahy medzi skupinami podporuje niekoľko fylogenetických analýz (Bern a Goldberg, 2005; Rinke a kol., 2013; Parks a kol., 2017). Výsledky niektorých však naznačujú, že toto zoskupenie nemusí byť monofyletické (Hug a kol., 2016; Castelle a Banfield, 2018).

15.4.2.1 Cyanobacteria

Cyanobacteria (cyanobaktérie, sinice) sú **Gram-negatívne, fotosyntetické baktérie bez bičíkov.** Môžu byť **jednobunkové, koloniálne, prípadne vláknité. Disponujú chlorofylom *a* a zvyčajne aj fykobilizómami** obsahujúcimi farbivá **fykocyanín a fykoerytrín**. Fotosyntetické pigmenty sú zvyčajne súčasťou tylakoidov – derivátov (vnútornej) cytoplazmatickej membrány Pre sinice je obyčajne typické **modro-zelené sfarbenie**. Skupina Cyanobacteria je podrobnejšie popísaná v kapitole 19.

15.4.2.2 Chloroflexi

V roku 1987 Carl Woese zahrnul tri rody *Herpetosiphon*, *Thermomicrobium* a *Chloroflexus* do skupiny označovanej ako **„zelené nesírne baktérie a ich príbuzní“** (angl. green non-sulfur bacteria and relatives) (Woese, 1987). V súčasnosti sa tento kmeň rozšírený o mnohých ďalších členov označuje ako skupina **Chloroflexi**, prípadne **Chlorobacteria**. Chloroflexi je množným číslom názvu rodu *Chloroflexus*, ktorý je súčasťou tohto kmeňa. Zástupcovia skupiny Chloroflexi **majú síce len jednu membránu** ako Gram-pozitívne baktérie, **farbia sa však** spravidla **Gram-negatívne** (Sutcliffe, 2010). Podobne ako napr. myxobaktérie sú zástupcovia triedy Chloroflexia schopní pohybovať sa **kĺzavým pohybom** (z angl. bacterial gliding). Mnohí zástupcovia sú termofilní, prípadne hypertemofilní. Do tohto taxónu patria napr. **triedy** ako **Thermomicrobia, Anaerolineae, Chloroflexia a Dehalococcoidia**.

Fototrofní zástupcovia skupiny Chloroflexia sú prevažne **vláknité baktérie zeleného až žltozeleného sfarbenia,** ktoré sa vzhľadom na to, že v procese fotosyntézy neprodukujú kyslík, patria medzi **anoxygénne organizmy**. Sú však **fakultatívne aeróbne**. Fotosyntetický pigment (bakteriochlorofyl) je lokalizovaný v tzv. **chlorozómoch**, ktoré nachádzame aj u skupiny Chlorobi (zelené sírne baktérie, viď kapitola 15.4.3.2). Fotosyntetickí zástupcovia skupiny Chloroflexi nevedia využívať oxid uhličitý ako jediný zdroj uhlíka. **Ako zdroj uhlíka využívajú jednoduché organické látky – fotoheterotrofia**. Príkladmi fototrofných zástupcov z triedy Chloroflexia sú *Chloroflexus* (napr. *C. aurantiacus*), *Heliothrix* (napr. *H. oregonensis*), *Roseiflexus* (napr. *R. castenholzii*) a *Oscillochloris* (napr. *O. trichoides*) (Cavalier-Smith, 2002).

Heterotrofnými zástupcami skupiny Chloroflexia sú **aeróbne termofilné baktérie** (napr. rod *Thermomicrobium* z triedy Thermomicrobia), ale aj **anaeróbne baktérie**, ktoré

využívajú halogenované organické látky (napr. polychlórované bifenyly) ako akceptory elektrónov (redukujú ich), pričom donorom elektrónov môže byť napr. vodík (napr. rod *Dehalococcoides* z triedy Dehalococcoidia) (Cavalier-Smith, 2002).

15.4.2.3 „Deinoccocus-Thermus“

Skupina označovaná ako „**Deinoccocus-Thermus“ je zoskupením rodov *Deinoccocus, Thermus* a im príbuzných rodov**. Niekedy sa zvykne označovať aj ako **Thermi** (McDonald a kol., 2012; Rinke a kol., 2013), prípadne **Hadobacteria**, pričom tento názov je odvodený od mena gréckeho boha podsvetia Hadesa, podčiarkujúci schopnosť baktérií uvedenej skupiny žiť **v extrémnych podmienkach** (Cavalier-Smith, 2002). Skupina Deinococcus-Thermus zahŕňa **nefotosyntetické baktérie**, ktoré **síce majú dve membrány** ako Gram-negatívne baktérie, ale vďaka prítomnosti **hrubej bunkovej steny sa farbia spravidla Gram-pozitívne** (Sutcliffe, 2010; Gupta, 2011; Campbell a kol., 2014). Cavalier-Smith (2002, 2010) navrhol, aby sa **Hadobacteria a Chloroflexi** radili do spoločného taxónu **Eobacteria**, čo je v súčasnosti podporené aj niektorými fylogenickými analýzami.

Najznámejší zástupca rodu ***Deinococcus*** (rad Deinococcales) je **nemotilný, obligátne aeróbny chemoorganoheterotrof *D. radiodurans* kokovitého tvaru**, ktorý sa zvyčajne vyskytuje **v tetrádach** a **netvorí spóry** (Battista, 1997). Má **ružové sfarbenie** v dôsledku prítomnosti **karotenoidu deinoxantínu**. Je **rezistentný voči účinku vysokých dávok radiácie** (ionizačnému gama-žiareniu), až 1000-krát vyšších, aké sú smrteľné pre človeka. Tento druh je však schopný prežiť aj ďalšie extrémne podmienky ako vysoké dávky UV žiarenia, vákuum, extrémny chlad, kyslé prostredie, vysušenie alebo pôsobenie rôznych toxických látok. Má aj biotechnologické využitie v degradácii rádioaktívnych látok (odpadu). Rezistencia tohto mikroorganizmu voči podmienkam, v ktorých dochádza k masívnemu poškodeniu DNA, je do veľkej miery daná tým, že **gény** kódujúce proteíny **zodpovedné za opravu DNA sa vyskytujú v mnohých kópiách**. Má dva cirkulárne chromozómy (s veľkosťou 2.65 Mb a 412 kb) a dva plazmidy (177 kb a 46 kb), pričom celý genóm sa v stacionárnej fáze vyskytuje v štyroch kópiách, čo je tiež dôležité pre rekombinačné typy opráv DNA (White a kol., 1999).

Do radu **Thermales** patrí viacero rodov **termofilných baktérií** ako napr. *Thermus*, prípadne niektoré baktérie rodu *Meiothermus* (Cavalier-Smith, 2002). Príkladom druhu rodu ***Thermus*** je ***T. aquaticus*** izolovaný z horúcich prameňov v Yellowstonskom národnom parku (USA) (Brock a Freeze, 1969; Bryan, 2008). Táto chemotrofná pleomorfná termofilná baktéria môže rásť pri teplotách od 50 do 80 °C, no **optimum rastu** má pri teplote **okolo 70 °C**. Z *T. aquaticus* pochádza tzv. **Taq-polymeráza**, ktorá je najhojnejšie využívanou polymerázou **v polymerázovej reťazovej reakcii (PCR)**, jednej zo základných metód molekulovej biológie. Podstatou PCR je mnohonásobné striedanie sa troch cyklicky sa opakujúcich krokov prebiehajúcich pri vysokých teplotách. Prvým krokom je **denaturácia**, počas ktorej dochádza pri teplote cca 90 °C k oddeleniu dvoch vlákien DNA. Ďalším krokom PCR je **anelácia** – hybridizáciou oligonukleotidových primerov pri približne 50-60 °C. Posledným krokom je **polymerizácia**, kedy nastáva pri teplote 72 °C replikácia DNA. Taq-polymeráza s optimálnou účinnosťou polymerizácie DNA pri teplote 72 °C sa v súčasnosti komerčne vyrába prostredníctvom geneticky modifikovaných baktérií. Najčastejšie ide o *E. coli*, do ktorej bol vložený gén pre Taq-polymerázu z *T. aquaticus*.

15.4.2.4 Actinobacteria

Do kmeňa **Actinobacteria** patria triedy Acidimicrobiia, Coriobacteriia, Nitriliruptoria, Rubrobacteria a Thermoleophilia s relatívne malým počtom doposiaľ popísaných zástupcov a **samotná trieda Actinobacteria** s veľkým počtom popísaných zástupcov. Najpočetnejšou skupinou. Aktinobaktérie sú suchozemské prípadne vodné (Servin a kol., 2008) **prevažne aeróbne Gram-pozitívne baktérie** (Cavalier-Smith, 2002). **Mnohé druhy** majú v DNA vysoký obsah **guanínu** (G) **a cytozínu** (C), v niektorých prípadoch až 70 % (Ventura a kol., 2007), no niektoré aktinomycéty najmä z environmentálnych vzoriek majú nízky obsah GC-párov (Ghai a kol., 2012). **Mnohé aktinobaktérie formujú mycéliá** podobné vláknam húb a tvoria **vonkajšie spóry**, tzv. **exospór**, ktoré sa na rozdiel od endospór tvoria na povrchu materskej bunky (Cavalier-Smith, 2002). Niektoré však vytvárajú endospóry.

Mnohé baktérie triedy **Actinobacteria** (aktinobaktérie) vyskytujúce sa v pôdnych ekosystémoch majú ekonomický význam v oblasti poľnohospodárstva a lesov. Podobne ako huby **v pôde rozkladajú organickú hmotu** mŕtvych organizmov, čím zabezpečujú živiny pre rastliny. Príkladom sú baktérie radu **Actinomycetales tzv. aktinomycéty**, ktoré boli dlho považované za huby. Najznámejším rodmi tohto radu sú *Actinomyces* a *Streptomyces*. Zástupcovia rodu ***Actinomyces*** (čeľaď Actinomycetaceae) sú s výnimkou obligátne anaeróbnych baktérií *A. meyeri* a *A. israelii* **fakultatívne anaeróbni**. Zástupcovia tohto rodu majú schopnosť tvorby **endospór**. Individuálne sa vyskytujúce baktérie majú spravidla **tvar paličky**. **Kolónie baktérií** rodu *Actinomyces* **tvoria rozvetvené vlákna (hýfy)**. Ich ekologická funkcia spočíva v produkcii enzýmov nevyhnutných pri rozklade organického materiálu ako napr. lignínu a chitínu. Sú aj bežnou súčasťou kompostu. Niektoré druhy sú patogénne alebo patria medzi komenzály kožnej, ústnej, črevnej a vaginálnej mikrobioty (Petrova a kol., 2015) ľudí a hospodárskych zvierat. Zástupcovia rodu ***Streptomyces*** (čeľaď Streptomycetaceae) sú **aeróbne sporulujúce** baktérie. **Rozvetvené vlákna (hýfy)** týchto baktérií formujú komplexné **substrátové mycélium**, ktoré čerpá živiny z pôdy. Z mycélia môžu vyrásť **vzdušné hýfy**, ktoré **produkujú exospóry usporiadané v retiazkach** (často aj viac ako 50 spór). Len niektoré druhy, resp. kmene majú schopnosť produkovať spóry priamo zo substrátového mycélia. Rôzne druhy rodu *Streptomyces* sú zaujímavé produkciou rôznych bioaktívnych metabolitov využiteľných v medicíne. Sú to najmä látky účinné proti baktériám – **antibiotiká** (napr. streptomycín, chloramfenikol a tetracyklín), vírusom – **antivirotiká**, zrážaniu krvi – **antitrombotiká** a parazitickým hubám – **antimykotiká** (Gupte a kol., 2002). Okrem medicínsky využiteľných látok syntetizujú aj látky používané v poľnohospodárstve. Ide najmä o látky účinné proti rastlinám, resp. burine – **herbicídy**, hmyzu – **insekticídy**, parazitickým hubám rastlín – **fungicídy**, ako aj substancie podporujúce rast živočíchov a zvierat (Bressan, 2003; Atta, 2009; Kodzius a Gojobori, 2015). *Streptomyces griseus* je príkladom baktérie schopnej syntetizovať antibiotickum streptomycín (viď kapitola 17).

Ďalšími významnými filamentóznymi pôdnymi aktinobaktériami sú napr. zástupcovia rodu ***Frankia*** z radu **Frankiales**, ktoré majú **schopnosť fixovať vzdušný dusík**. Žijú **v hľúzkach koreňového systému** tzv. **aktinoríznych** rastlín (niektoré druhy z radov Cucurbitales, Fagales a Rosales). **Aktinoríza** je **symbióza**, v ktorej baktérie poskytujú rastlinnému hostiteľovi fixovaný dusík v podobe amónnych katiónov výmenou za niektoré rastlinné sacharidy.

Nemotilné anaeróbne aktinobaktérie rodu ***Bifidobacterium*** radu **Bifidobacteriales** sú **bežnou súčasťou gastrointestinálneho traktu**, vagíny (Schell a kol., 2002), ale aj úst (*B. dentium*) človeka a iných cicavcov. Bifidobaktérie ako napr. *B. bifidum* sú **zdraviu prospešné baktérie mliečneho kvasenia** a využívané ako **probiotiká** (viď kapitola 18).

Do triedy Actinobacteria patrí aj rad **Mycobacteriales** v niektorých systémoch označovaný ako **Corynebacteriales** (Tindall, 2019), kam patrí **väčšina** tzv.

acidorezistentných baktérií, ktoré po špecifickom farbení (z angl. acid fast) a následnom vymývaní etanolom alebo kyselinou ostávajú zafarbené načerveno. Do tohto taxónu patria čeľade Corynebacteriaceae, Dietziaceae, Gordoniaceae, Lawsonellaceae, Mycobacteriaceae, Nocardiaceae, Segniliparaceae a Tsukamurellaceae. Zástupcovia radu Corynebacteriales sú **aeróbne alebo fakultatívne anaeróbne chemoorganotrofné baktérie**. Mnohí zástupcovia **formujú rozvetvené substrátové mycélium**. V ich **bunkovej stene** (BS) **obsahujúcej arabinózu a galaktózu** nie je prítomný glycín (viď obr. 16.1 v kapitole 16.8). Vzhľadom na **prítomnosť arabinózy v BS** sa niekedy označujú aj ako **Arabobacteria**. Niektorí zástupcovia (napr. *Mycobacterium* spp.) disponujú biochemickými dráhami pre syntézu cholesterolu (Cavalier-Smith, 2002). Viaceré druhy rodov *Mycobacterium*, *Corynebacterium* (viď kapitola 16.8) a *Nocardia* sú patogénne.

15.4.2.5 Firmicutes

Do kmeňa Firmicutes patria prevažne typické **Gram-pozitívne baktérie s jednou membránou a hrubou bunkovou stenou. Výnimku** predstavujú zástupcovia triedy **Negativicutes**, ktorí **majú dve membrány**, a preto sa **farbia Gram-negatívne** Zaradenie skupiny Negativicutes do taxónu Firmicutes je aj napriek tomu potvrdené analýzami ich genómov a proteómov (Vesth a kol., 2013).

Na rozdiel od baktérií kmeňa Actinobacteria obsahuje **DNA** zástupcov skupiny **Firmicutes** zvyčajne **len malé percento cytozínu a guanínu**. Tvar baktérií tohto kmeňa je najmä sférický (koky) alebo paličkovitý (bacily). Mnoho zástupcov formuje v procese sporulácie **endospóry** (viď kapitola 13.2.2), ktoré sú **vysoko odolné** voči vysychaniu a iným extrémnym podmienkam. Mnoho baktérií kmeňa Firmicutes je motilných vďaka prítomnosti peritrichálne umiestnených bičíkov. Vo väčšine prípadov je však bičíkov pomerne málo.

Do kmeňa Firmicutes patria okrem atypickej triedy Negativicutes napr. aj triedy Bacilli, Clostridia, Erysipelotrichia a Thermolithobacteria. Najznámejšími skupiny sú **Bacilli a Clostridia. Baktérie týchto tried disponujú hrubou pevnou mureínovou bunkovou stenu, ktorá obsahuje kyselinu teichoovú a lipoteichoovú** (Cavalier-Smith, 2002). Zástupcovia skupiny **Clostridia** sú **obligátne anaeróbni**, zatiaľ čo baktérie z triedy **Bacilli** sú obligátne alebo fakultatívne **aeróbne**.

Do skupiny **Bacilli** patria známe rady **Bacillales a Lactobacillales**. Do taxónu **Bacillales** patria rody ako napr. ***Bacillus, Listeria* a *Staphylococcus***, ktoré zahŕňajú mnohé **patogénne druhy** spôsobujúce infekčné ochorenia (viď kapitola 16.7.1.2). Do radu **Lactobacillales** patria významné rody **baktérií mliečneho kvasenia** (angl. „lactic acid bacteria“, LAB) ako napr. ***Lactoccocus, Lactobacillus, Leuconostoc, Streptococcus* a *Enterococcus***, ktoré **sú** popri bifidobaktériách **dominantnou súčasťou mikrobioty tráviacej sústavy zdravých ľudí** (Watson a kol., 2018). Vzhľadom na to sú mnohé druhy a kmene LAB využívané ako **probiotiká** (viď kapitola 18). Do rodov *Streptococcus* a *Enterococcus* však nepatria len prospešné baktérie, ale aj niektoré známe patogény (viď kapitola 16.7.1.1).

Najznámejším rodom zo skupiny **Clostridia** je ***Clostridium*** zahŕňajúci **voľne žijúce, endobiotické, ale ja patogénne druhy** a kmene baktérií (viď kapitola 16.7.2). Ďalším príkladom zástupcu tejto skupiny je *Faecalibacterium prausnitzii* vyskytujúci sa v **zdravej črevnej mikrobiote človeka**. Hoci je **väčšina zástupcov Clostridia nefotosyntetických**, čeľaď **Heliobacteriaceae** (heliobaktérie) zahrňuje **fotoheterotrofné obligátne anaeróbne** baktérie (napr. rody *Heliobacillus* alebo *Heliobacter*) s bacteriochlorofylom *g*, ktoré sú schopné anoxygénnej fotosyntézy, ale dokážu prežiť aj bez svetla. Podobne ako ostatní

zástupcovia skupiny Clostridia môžu aj heliobaktérie vytvárať **endospóry** odolné voči vysokej teplote.

Do skupinu **Thermolithobacteria** patria tyčinkovité Gram-pozitívne baktérie. Zástupcovia sú **termofilné litotrofné** izolované zo sedimentov prameňov Yellowstonského národného parku (Sokolova a kol., 2007; Euzéby, 2007). Do triedy patria baktérie ako *Thermolithobacter ferrireducens* kmeň *JW/KA-2(T)* oxidujúci vodík a redukujúci oxid železitý na magnetit (oxid železnato-železitý Fe_3O_4) alebo *Thermolithobacter carboxydivorans* kmeň *R1(T)* oxidujúci oxid uhoľnatý (Sokolova a kol., 2007).

Podľa najnovších fylogenetických analýz je **jednou z tried taxónu Firmicutes** aj **Tenericutes** (synonymum, resp. jediná trieda Mollicutes), ktorá bola **dlho považovaná za samostatný kmeň** (Hug a kol., Castelle a Banfield 2018). Baktérie tejto skupiny sa vyznačujú **absenciou peptidoglykánovej BS**, **neschopnosťou tvorby endospór a malými rozmermi aj genómami**. Známym rodom skupiny Tenericutes, ktorý je reprezentovaný niekoľkými známymi patogénmi druhmi, je ***Mycoplasma*** (viď kapitola 16.9).

15.4.3 FCB

Superkmeň FCB získal svoje pomenovanie podľa začiatočných písmen názvov troch najznámejších skupín, ktoré sem patria – kmene ***F*ibrobacteres, *C*hlorobi a *B*acteroidetes** (Rinke a kol., 2013). V súčasnosti sa do skupiny FCB zaraďujú aj skupiny ako napr. **Ignavibacteriae, Marinimicrobia, Latescibacteria, Zixibacteria, Claoacimonetes, Gemmatimonades a Caldithrixae** (Rinke a kol., 2013; Parks a kol., 2017). Superkmeň FCB je niekedy označovaný aj ako **Sphingobacteria,** pretože mnohí zástupcovia majú v cytoplazmatickej membráne prítomné tzv. **sfingolipidy**, ktorých kostru tvorí sfingozín (Cavalier-Smith, 2002). Cavalier-Smith (2002) považoval Sphingobacteria za kmeň a radil sem triedy Fibrobacteres, Bacteroidetes, Flavobacteria (dnes najčastejšie radená medzi Bactoroidetes) a Chlorobea, dnes najčastejšie známa ako Chlorobi.

15.4.3.1 Fibrobacteres

Kmeň **Fibrobacteres** je menšou skupinou baktérií, z ktorých mnohé sú základnou **súčasťou mikrobioty bachora prežúvavcov** a **rozkladajú celulózu** obsiahnutú v rastlinnej potrave. Známym rodom patriacim do tohto taxónu je ***Fibrobacter***, ktorý bol do roku 1988 radený do rodu *Bacteroides* z kmeňa Bacteroidetes (Montgomery a kol., 1988). Príkladom zástupcu rodu *Fibrobacter* rozkladajúceho celulózu je tyčinkovitá Gram-negatívna striktne anaeróbna baktéria *F. succinogenes*.

15.4.3.2 Chlorobi

Do skupiny **Chlorobi** (Chlorobea) patria **Gram-negatívne fotolitoautotrofné** tzv. **„zelené sírne baktérie“** (Chlorobiales, Chlorobiaceae). **Zástupcovia sú anaeróbni, zvyčajne nemotilní** a vyznačujú sa **schopnosťou oxidovať sírovodík na síru** (ktorá je následne vylučovaná vo forme globulárnych útvarov na vonkajšiu stranu vonkajšej membrány), prípadne aj síru na sírany (v prípade nedostatku sulfidových aniónov). Tieto **anoxygénne organizmy** v procese fotosyntézy **neprodukujú kyslík** a **donorom elektrónov v procese**

fotosyntézy sú sulfidové anióny, vodík alebo železnaté katióny. Fotosyntetické pigmenty sú uložené v špecializovaných bunkových organelách – **chlorozómoch**, ale aj v cytoplazmatickej membráne. Obsahujú bakteriochlorofyl *a* a *c*, *d* alebo *e*. Zdrojom uhlíka je **oxid uhličitý**, ktorý **fixujú pomocou** tzv. **reverzného** (obráteného) **Krebsovho cyklu**. Typickým rodom zo skupiny Chlorobi je *Chlorobium* (Cavalier-Smith, 2002). Druh *C. tepidum* je termofilná nemotilná baktéria s bakteriochlorofylom *c*.

V niektorých systémoch sú medzi Chlorobi radení aj ich **hetrotrofní príbuzní** – **Ignavibacteriales**, Ignavibacteriaceae (napr. rod *Ignavibacterium*). V iných systémoch sú tieto baktérie považované za samostatnú podskupinu **Ignavibacteriae v rámci** skupiny FCB**.**

15.4.3.3 Bacteroidetes

Do kmeňa **Bacteroidetes** patria **Gram-negatívne nesporulujúce anaeróbne alebo aeróbne baktérie tvaru tyčinky**. Táto skupina je **blízko príbuzná skupiny Chlorobi** (spolu tvoria fylogenetické zoskupenie Chlorobi-Bacteriodetes).

Skupina Bacteroidetes zahrňuje **voľne žijúce**, **oportúnne patogénne**, ale aj mnohé **symbiotické (probiotické) druhy** baktérií vyskytujúce sa **v gastrointerstinálnom trakte** (GIT) živočíšnych hostiteľov, kde zabezpečujú metabolické premeny látok ako napr. degradáciu komplexných sacharidov (oligo- a polysacharidov) alebo proteínov. Symbiotické baktérie skupiny Bacteroidetes kolonizujú už GIT dojčiat, keďže nestráviteľné prítomné oligosacharidy v materskom mlieku podporujú ich rast (Rajilić-Stojanović a de Vos, 2014). Významnými **rodmi probiotických črevných baktérií** kmeňa Bacteroidetes sú napr. ***Bacteroidetes*** **a** ***Prevotella***. Rod *Porphyromonas* je bežnou súčasťou mikrobioty ústnej dutiny.

Prvou izolovanou baktériou (v roku 1898) zo skupiny Bacteroidetes bola *Bacteroides fragilis* (Rajilić-Stojanović a de Vos, 2014). Táto obligátne anaeróbna baktéria je síce prirodzenou súčasťou hrubého čreva ľudí (Kuwahara a kol., 2004), ale ak sa napr. vplyvom chirurgického zákroku dostane do okolitého tkaniva alebo krvného riečiska, môže spôsobiť infekciu (Levinson, 2010).

Voľne žijúce baktérie kmeňa Bacteroidetes sú rozšírené v rôznych biotopoch (Thomas a kol., 2011). Spolu so skupinami ako Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes sú významnou súčasťou rizosféry (oblasti koreňového systému rastlín) (Mendes a kol., 2013). Príkladom **pôdnych** zástupcov sú baktérie ako napr. *Pedobacter heparinus*, *Cytophaga hutchinsonii* a *Flavobacterium johnsoniae*. Okrem **pôdy** obývajú tiež **sladkovodné** ekosystémy (napr. *Flavobacterium johnsoniae* a *Spirosoma linguale*), ako aj **moria a oceány** (napr. *Croceibacter atlanticus*, *Robiginitalea biformata* a *Dokdonia doghaensis*) V morskom prostredí sú zložkou planktónu, a to najmä v pelagických zónach (oblasti s voľným, otvoreným morom) (Thomas a kol., 2011). Baktérie rodu ***Salinibacter*** obývajú **hypersalínne prostredie** (s vysokou koncentráciou solí). Tieto baktérie majú mnohé spoločné vlastnosti s halofilnými archeónmi (ako napr. rody *Halobacterium* a *Haloquadratum*) žijúcimi v rovnakých podmienkach (Oren, 2013).

15.4.4 PVC

PVC je **skupinou** (superkmeňom) **výhradne nefotosyntetických Gram-negatívnych baktérií**, pomenovanou podľa začiatočných písmen troch významných kmeňov – **Planctomycetes, Verrucomicrobia a Chlamydiae** (Wagner a Horn, 2006). V súčasnosti sa

do tejto skupiny na základe fylogenetických analýz zaraďujú aj príbuzné skupiny (kmene) ako napr. **Lentisphaerae** (Parks a kol., 2017) alebo **Omnitrophica** (Wagner a Horn, 2006; Rinke a kol., 2013). Cavalier-Smith (2002) označuje však PVC skupinu ako kmeň Planctobacteria a spomínané kmene považuje za triedy.

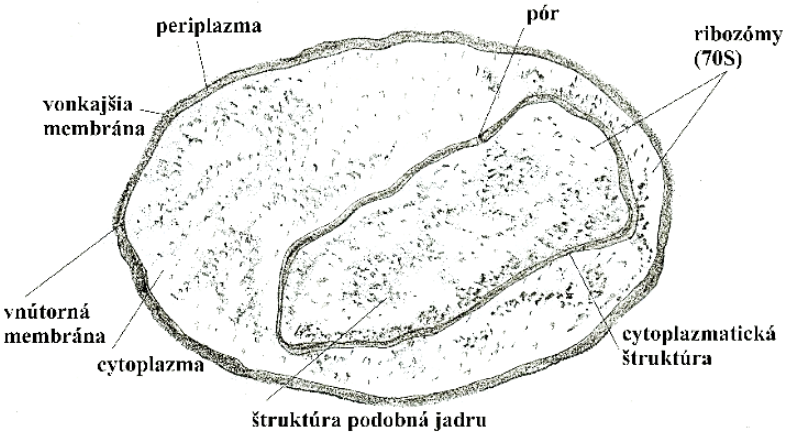
15.4.4.1 Planctomycetes

Do kmeňa Planctomycetes (planktomycéty) patria **voľne žijúce Gram-negatívne baktérie ovoidného tvaru vyskytujúce sa v braktických, morských, ale aj sladkovodných ekosystémoch**. Ich **bunky sú obalené dvomi membránami**, ale na rozdiel od ostatných Gram-negatívnych baktérií sa **bunková stena** nenachádza medzi nimi, ale **nad vonkajšou membránou**. V minulosti sa predpokladalo, že bunková stena planktomycét neobsahuje peptidoglykán, ale je proteínová, resp. glykoproteínová. Nedávne štúdie dokázali prítomnosť peptidoglykánu v bunkovej stene týchto baktérií, čím boli prechádzajúce predpoklady o absencii mureínu u planktomycét vyvrátené (Jeske a kol., 2015; van Teeseling a kol., 2015). V dôsledku toho, že bunková stena sa nenachádza medzi dvoma membránami sa vnútorná membrána planktomycét zvykla označovať ako intracytoplazmatická membrána, vonkajšia membrána ako cytoplazmatická membrána a priestor bez ribozómov medzi nimi ako paryphoplazma. S najväčšou pravdepodobnosťou je však vonkajšia membrána homologická vonkajšej membráne, vnútorná membrána cytoplazmatickej membráne a priestor medzi nimi periplazme Gram-negatívnych baktérií (Santarella-Mellwig a kol., 2013). **U viacerých zástupcov planktomycét** boli **v cytoplazme** (niekedy označovanej aj ako riboplazma – kompartment planktomycét obsahujúci ribozómy) identifikované aj **ďalšie nezvyčajné endomembránové štruktúry** (viď nižšie), ktoré sú pre prokaryoty atypické.

V životnom cykle planktomycét sa vyskytuje **sesilné reproduktívne (prisadnuté, nepohyblivé) a pohyblivé nereproduktívne štádium**. Na rozdiel od väčšiny baktérií, ktoré sa rozmnožujúcich jednoduchým delením sprevádzaným tvorbou septa (viď kapitola 13.2.1), sa planktomycéty rozmnožujú špecifickou formou nepohlavného delenia – **pučaním**. Zo **sesilných (materských) buniek sa na reproduktívnej strane tvoria pučaním** dcérske bunky, ktoré môžu pučať tiež alebo vzniknú **motilné bičíkaté (dcérske) bunky**, ktoré sa krátku dobu pohybujú a následne opäť prisadajú a začnú pučať.

Jedným z najznámejších zástupcov **planktomycét je *Gemmata obscuriglobus***, označovaná aj ako „vtákopysk mikrobiológie“ (z angl. „the platypus of microbiology“) (Devos, 2013). V motilnej fáze životného cyklu obsahuje táto baktéria viacero bičíkov. V jej cytoplazme (resp. riboplazme) sa nachádza **endomembránová organela**, ktorá svojou **štruktúrou pripomína jadro eukaryotov**. Táto membránová štruktúra **vzniká** počas neskoršej fázy pučania v dcérskych bunkách **invagináciou** ich **vnútornej** cytoplazmatickej (resp. intracytoplazmatickej) **membrány** (Lee a kol., 2009a) **a vytvára vonkajšiu a vnútornú vrstvu** (zdanlivo dve membrány), **ktoré obaľujú túto organelu obsahujúcu nukleoid** (prípadne viac nukleidov) (Fuerst, 2005; 2010; 2013; Devos, 2013, 2014a, 2014b). V miestach, kde sa vnútorná a vonkajšia membrána štruktúry podobnej jadru stretávajú, sa nachádzajú štruktúry podobné pórom jadra eukaryotov (Sagulenko a kol., 2017). Podstatný rozdiel v porovnaní s eukaryotmi však je, že **ribozómy** sa nachádzajú **nielen v cytoplazme** (resp. riboplazme), **ale aj vo vnútri štruktúry podobnej jadru** (Fuerst, 2005; 2010; 2013; Devos, 2013, 2014a, 2014b) (obr. 15.9.). Translácia na ribozómoch v cytoplazme (riboplazme) je (na rozdiel od translácie na ribozómoch nachádzajúcich sa v štruktúre pripomínajúcej jadro) fyzicky oddelená od transkripcie (Gottshall a kol., 2014) podobne ako u eukaryotov. V súčasnosti sa vedú diskusie o tom, či je membránová štruktúra podobná jadru

skutočne fyzicky oddelená od vnútornej cytoplazmatickej (resp. intracytoplazmatickej) membrány (Sagulenko a kol., 2014, 2017) alebo je s ňou fyzicky spojená (Santarella-Mellwig a kol., 2013). Ďalšou kuriozitou je, že ***G. obscuriglobus* má schopnosť prijímať väčšie molekuly z prostredia endocytózou** pomocou vezikúl (Lonhienne a kol., 2010), čo je u prokaryotov (na rozdiel od eukaryotov) pomerne zriedkavé. Schopnosť endocytózy a tvorby endomembránových štruktúr pravdepodobne úzko súvisí s **prítomnosťou sterolov v membránach**, ktoré sa u ostatných prokaryotov (na rozdiel od eukaryotov) takmer nevyskytujú a majú významnú úlohu v deformácii (priestorových ohyboch) membrán (Santarella-Mellwig a kol., 2013). S komplexnosťou baktérie *G. obscuriglobus* koreluje aj veľkosť jej genómu (cca 9 Mb, priemer pre planktomycéty je okolo 7 Mb, pričom väčšina baktérií má genómy menšie). Za zmienku stojí aj to, že *G. obscuriglobus* nemá gén kódujúci FtsZ proteín (Devos, 2013), ktorý je základom pre tvorbu septa počas delenia takmer u všetkých baktérií (viď kapitola 13.2.1).



Obr. 15.9. Gram-negatívna baktéria* Gemmata obscuriglobus *zo skupiny Planctomycetes s intracelulárnou endomembránovou štruktúrou pripomínajúcou jadro eukaryotov

Príkladom planktomycét, ktoré v cytoplazme neobsahujú štruktúru podobnú jadru sú zástupcovia rodu ***Pirellula***. **DNA** sa u tohto rodu nachádza **v priestore pod vnútornou membránou** označovanom aj ako **pirelulozóm** (no zrejme ide o cytoplazmu), v ktorom sa **nenachádzajú žiadne endomembránové organely**. Príkladom zástupcu tohto rodu je *P. staleyi*. Ide o striktne aeróbnu baktériu vyskytujúcu sa v sladkovodných ekosystémoch, v brakických vodách, ako aj v hypersalínnych jazerách. Bunky majú tvar slzy alebo hrušky. Na reproduktívnej strane disponuje v nereproduktívnom štádiu monotrichálnym bičíkom (Clum a kol., 2009).

Ďalšími zaujímavými zástupcami Planctomycetes sú ***Brocardia anammoxidans*** a ***Kuenenia stuttgartiensis***. Ich **DNA** síce **nie je obalená membránovou štruktúrou pripomínajúcou jadro**, ale zato **majú v cytoplasme** (resp. riboplazme alebo pirelulozóme) **energetické membránové organely obalené jednou membránou** označované ako **anamoxozómy** (Fuerst, 2005; van Niftrik a kol., 2010), ktoré využívajú **na anaeróbnu oxidáciu amoniaku** (z angl. anaerobic ammonium-oxidizing, anammox) **na molekulový dusík** (Chang a kol., 2017). Na rozdiel od týchto dvoch zástupcov zástupcovia ďalších rodov planktomycét ako *Planctomyces*, *Pirellula*, *Gemmata* a *Isosphaera* anamoxozómy neobsahujú a sú aeróbni chemoheterotrofi (Wang a kol., 2002).

Napriek viacerým znakom niektorých zástupcov Planctomycetes, ktoré pripomínajú eukaryoty, nemožno skupinu Planctomycetes na základe fylogenetických analýz považovať

za blízkych príbuzných eukaryotov. Tieto baktérie však predstavujú **sľubný model pre štúdium evolúcie endomembránového systému** a sú dôkazom, že endomembránové štruktúry, dokonca aj také, čo pripomínajú jadro, sa mohli v evolúcii vyvinúť **viackrát nezávisle u rôznych fylogeneticky nepríbuzných línií** (Fuerst, 2005; 2010, 2013; Forterre, 2011; McInerney, 2011; Devos, 2013, 2014a, 2014b; Baum a Baum, 2014).

15.4.4.2 Verrucomicrobia

Verrucomicrobia sú **Gram-negatívne baktérie**, ktorých zástupcovia boli izolovaní **zo sladkovodných a morských ekosystémov, pôdy, ale aj ľudských a živočíšnych čriev a fekálií**. **Vnútorná stavba bunky** je minimálne u niektorých zástupcov podobná ako **u planktomycét rodu *Pirellula* – majú dve membrány,** medzi ktorými je **medzimembránový priestor bez ribozómov**, často označovaný ako **paryphoplazma** (Lee a kol., 2009b)**,** no je možné, že ide o kompartment homologický periplazme Gram-negatívnych baktérií**. Medzimembránový priestor** môže byť v prípade niektorých zástupcov (napr. u *Verrucomicrobium spinosom*) aspoň v niektorých častiach bunky **pomerne veľký a môžu sa v ňom nachádzať aj membránami obalené vezikuly** (Lee a kol., 2009b). **Bunková stena** sa nenachádza v medzimembránovom priestore, ale **nad vonkajšou membránou.** Podobne ako planktomycéty boli považované za skupinu s absenciou peptidoglykánu v bunkovej stene. V súčasnosti je stanovenie prítomnosti mureínu v tejto povrchovej štruktúre zástupcov kmeňa Verrucomicrobia témou niekoľkých výskumov (van Niftrik a Devos, 2017). Len nedávno Rast a kol. (2017) objavil tri druhy nového rodu *Lacunisphaera* zo skupiny Verrucomicrobia disponujúce peptidoglykánovou bunkovou stenou. Priestor pod vnútornou (cytoplazmatickou, resp. intracytoplazmatickou) membránou je často označovaný ako pirelulozóm (no zrejme ide o cytoplazmu) a obsahuje kondenzovaný fibrilárny nukleoid, ktorý nie je obalený štruktúrou pripomínajúcou jadro (Lee a kol., 2009b).

Kmeň Verrucomicrobia (verrucae = bradavice) dostal svoj názov podľa **prítomnosti „výrastkov“ na ich povrchu**, označovaných aj ako prosthecae. Tieto výrastky sú obalené bunkovou stenou aj vonkajšou membránou a z vnútra obsahujú výbežok paryphoplazmy (resp. periplazmy), prípadne aj pirelulozómu (resp. riboplazmy alebo cytoplazmy) alebo môžu obsahovať vezikuly (Madigan a Martinko, 2005; Lee a kol., 2009b). Funkciou výrastkov je flotácia (fyzikálno-chemický proces separácie látok z vody). Môžu tiež slúžiť na adhéziu k povrchom, ako aj na zväčšenie povrchovej plochy baktériovej bunky, čo zabezpečuje efektívnejší príjem živín.

Kuriozitou v rámci skupiny Verrucomicrobia sú baktérie rodu *Prosthecobacter*, ktoré disponujú homológmi eukaryotických proteínov tubulínov (Jenkins a kol., 2002). Tubulíny sú u eukaryotov súčasťou bičíkov a mitotického vretienka. Ich homológ sa zriedkavo vyskytuje aj u niektorých archeónov (tzv. artubulín) (Yutin a Koonin, 2012). Rod *Prosthecobacter* však zrejme nijako neprispel k evolúcii eukaryotického cytoskeletu. Predpokladá sa, že predchodca tohto rodu získal gén(y) pre tubulín laterálnym (horizontálnym) génovým transferom z eukaryotov (Yee a kol., 2007).

Do kmeňa Verrucomicrobia patria popri voľne žijúcich zástupcoch aj viaceré významné symbiotické baktérie. Niektorí zástupcovia sú ektosymbionti prvokov, iní sú endosymbionti nematód prenášajúci sa ich gametami. Mnohí zástupcovia sú **významnou zložkou zdravej črevnej mikrobioty ľudí** (niekedy až 10% celkovej) (Fujio-Vejar a kol. 2017). Gram-negatívny, striktne anaeróbny, nesporulujúci, nemotilný zástupca *Akkermansia muciniphila* predstavuje v priemere 1-3% celkovej črevnej mikrobioty zdravých ľudských

jedincov. Ide o vysoko špecializovanú baktériu, ktorá je schopná kolonizovať GIT rôznych živočíchov a využívať mucín ako jediný zdroj uhlíka a dusíka (Derrien a kol., 2004; 2010).

15.4.4.3 Chlamydiae

Zástupcovia kmeňa Chlamydiae sú **obligátne Gram-negatívne intracelulárne parazitické baktérie bez bičíkov**, ktoré sú **odkázané na prísun ATP z hostiteľskej eukaryotickej bunky** (Cavalier-Smith, 2002). Zástupcovia sú bližšie popísaní v kapitole 16.6.

15.4.5 CPR

CPR (z angl. The ***C*andidate *P*hyla *R*adiation**) je jedna z nedávno objavených hlavných línií „Stromu života“ v rámci domény Bacteria. Do tejto **pomerne veľkej monofyletickej skupiny** patrí **viac ako 70 skupín baktérií,** z ktorých doposiaľ neboli izolovaní a kultivovaní takmer žiadni zástupcovia (Hug a kol., 2016; Solden a kol., 2016; Danczak a kol., 2017; Castelle a Banfield, 2018**).** Skupiny CPR sú vo väčšine prípadov **známe len z environmentálnych sekvencií.**

Zástupcovia CPR sa vyznačujú niekoľkými nezvyčajnými spoločnými vlastnosťami. Ich **bunky** majú len veľmi **malé rozmery** a disponujú **malými genómami** (v priemere 1 Mb) (Brown a kol., 2015). U CPR baktérií je pozoruhodná aj absencia mnohých integrálnych biosyntetických ciest. Tieto črty naznačujú, že **väčšina baktérií zo skupiny CPR** je pravdepodobne **symbiotických** a pravdepodobne zohráva významnú úlohu v mikrobiálnych komunitách. Mnohé z týchto symbiotických baktérií sa vyskytujú najmä ako **episymbionty** na povrchu buniek iných väčších mikroorganizmov (Castelle a Banfield, 2018). Problém izolácie a kultivácie baktérií zo skupiny CPR súvisí zrejme s tým, že nie sú schopné rásť a množiť sa bez svojich hostiteľov. V súčasnosti nie je známe, aký je podiel tejto skupiny na celkovej diverzite domény Bacteria (Chen a kol., 2019), ale odhaduje sa, že CPR môže predstavovať až **26-50% celkovej diverzity baktérií** (Hug a kol., 2016; Parks a kol., 2017; Schulz a kol., 2017).

Medzi najväčšie skupiny v rámci CPR patria **Parcubacteria** a **Microgenomates**, do ktorých patrí niekoľko línií. Pre zoskupenie týchto dvoch skupín a skupiny **Gracilibacteria** bol navrhnutý spoločný názov **Patescibacteria** (Rinke a kol., 2013). V súčasnosti sa do CPR zaraďujú aj viaceré ďalšie novoobjavené skupiny ako napr. Dojkabacteria, Saccharibacteria, Doudnabacteria, Peregrinibacteria, Berkelbacteria a Katanobacteria (Castelle a Banfield, 2018).

15.4.6 Spirochaetes

Do kmeňa **Spirochaetes (spirochéty)** patria **chemoheterotrofné, Gram-negatívne, prevažne anaeróbne baktérie špirálovitého tvaru** (s dĺžkou 3-500 μm a priemernou šírkou 0.1-3 μm) **s vnútornými periplazmatickými bičíkmi** (Margulis a kol., 1993), ktoré im zabezpečujú motilitu (viď kapitola 15.2.8). Do tejto skupiny patrí jediná trieda Spirochaetia zahrňujúca rady Leptospirales, Brachyspirales, Brevinematales a Spirochaetales. Väčšina zástupcov je voľne žijúcich, no napr. zástupcovia rodu *Leptospira* a druhy *Borrelia*

recurrentis, *Borrelia burgdorferi* a *Treponema pallidum* sú patogénne (viď kapitola 16.5). Niektoré publikácie uvádzajú, že spirochéty môžu spôsobovať demenciu, prípadne môžu hrať významnú úlohu v patogenéze Alzheimerovej choroby (Miklossy, 2011).

Niektorí zástupcovia zo skupiny Spirochaetes sú aj symbionti. Na povrchu prvoka *Mixotricha paradoxa* žije približne 250 000 ektosymbiotických spirochét rodu *Treponema* alebo spirochét príbuzných tomuto rodu (König a kol., 2006), ktoré svojím pohybom sprostredkujú tomuto organizmu motilitu. Štyri bičíky umiestnené v prednej časti tela prvoka slúžia len ako kormidlo jeho lokomócie.

15.4.7 Synergistetes

Do nedávno navrhnutého kmeňa **Synergistetes** patria **anaeróbne Gram-negatívne baktérie s dvomi membránami** tvaru **tyčinky**, prípadne **vibria** (Jumas-Bilak a kol., 2007, 2009). Vyskytujú sa najmä v pôde, ropných vrtoch a gastrointestinálnom trakte zvierat. Zástupcovia tejto skupiny sú u ľudí často súčasnou cýst (dutých patologických útvarov, ktoré sú od okolitého tkaniva oddelené vlastnou často atrofovanou epiteliálnou výstelkou) (napr. *Jonquetella athropi*), abscesov (ohraničených zapálených dutín vyplnených rozpadnutým odumretým tkanivom, hnisom) a môžu prispievať aj k periodontálnym ochoreniam (ochoreniam závesného systému zuba a ďasien) (Jumas-Bilak a kol., 2007). Baktérie zo skupiny Synergistetes môžu byť aj súčasťou črevnej a vaginálnej mikrobioty zdravých ľudských jedincov. Súčasťou skupiny Synergistetes sú taktiež baktérie, ktoré degradáciou kalu prispievajú k produkcii bioplynov, vďaka čomu by mohli byť potenciálnymi kandidátmi využiteľnými pri výrobe obnoviteľnej energie (Riviere a kol., 2009).

Do kmeňa patrí jediná trieda Synergistia s radom Synergistiales a čeľaďou Synergistaceae (Jumas-Bilak a kol., 2009). Príkladmi rodov sú *Aminobacterium*, *Aminivibrio*, *Dethiosulfovibrio*, *Jonquetella* a *Synergistes*. Rod *Synergistes* reprezentuje obligátne anaeróbna Gram-negatívna nemotilná baktéria tvaru tyčinky, prípadne vibria *S. jonesii*. Tento zástupca je súčasťou prirodzenej mikrobioty bachora prežúvavcov, kde zohráva úlohu pri degradácii toxických pyridíndiolov (Allison a kol., 1992).

15.4.8 Príklady niektorých ďalších skupín baktérií

Medzi ďalšie významné skupiny (kmene) baktérií patria napr. aj **Thermodesulfobacteria, Fusobacteria, Aquificea, Thermatogae, Deferribacteres, Nitrospirae, Acidobacteria**, **Poribacteria, Fusobacteria**, ale aj mnohé iné.

Thermodesulfobacteria boli v minulosti zaraďované medzi δ-proteobaktérie skupina, no výsledky novších fylogenetických analýz naznačujú, že tento taxón predstavuje amostatnú vývojovú líniu (Rinke a kol., 2013; Hug a kol., 2016). Do skupiny Thermodesulfobacteria patria **termofilné baktérie redukujúce sulfát**. Jedným z typických zástupcov je anaeróbna chemolitoautotrofná, nesporulujúca baktéria *Thermodesulfobacterium hydrogeniphilum.* Táto vysoko motilná palička sa vyskytuje v hlbokomorských hydrotermálnych ekosystémoch pri teplotách 50-80 °C (Jeanthon a kol., 2002).

Do kmeňa **Aquificae** patria **autotrofné Gram-negatívne nesporulujúce baktérie tvaru tyčinky**, ktoré sú schopné žiť v **extrémnych podmienkach** (Griffiths a Gupta, 2006; Horiike a kol., 2009). Zástupcovia sú vo väčšine prípadov motilní. Najznámejším rodom z tejto skupiny je ***Aquifex***. Názov rodu (znamená „výrobca vody“) vystihuje **schopnosť produkovať v procese oxidácie vodíka vodu** (Huber a kol., 1992). *Aquifex* spp. patria medzi

termofilov (žijú pri teplote **okolo 90 °C**), ktorí sa vyskytujú najmä v blízkosti podmorských sopiek, prípadne horúcich prameňov (Madigan a Martinko, 2005). Do tohto rodu patria napr. druhy *A. aeolicus* a *A. pyrophilus*.

Do kmeňa **Thermotogae** (synonymum Togobacteria) patria **anaeróbne**, **Gram-negatívne**, prevažne **termofilné**, prípadne **hypertermofilné baktérie** (Huber a Hanning, 2006). Periplazmatický priestor medzi vonkajšou a vnútornou membránou je pomerne veľký, no peptidoglykánová stena je len tenká a má atypickú štruktúru. Charakterisktická **vonkajšia membrána sa označuje ako „toga“**. Názov skupiny teda vychádza z jej pomenovania, ako aj z faktu, že ide o termofilné baktérie. Vďaka tomu, že tieto baktérie dokážu žiť pri vysokých teplotách, predstavujú atraktívne mikroorganizmy využiteľné v priemysele (Eriksen a kol., 2010). Najznámejším **rodom paličkovitých baktérií** zo skupiny Thermotogae je ***Thermotoga*** a druhom **chemoorganoheterotrofná termofilná baktéria *T. maritima***, ktorá má jeden bičík (Gluch a kol., 1995). Má **schopnosť redukovať elementárnu síru na sírovodík**. Množí sa **pri teplotách 55-90 °C** s optimum rastu pri 80 °C (Huber a kol. 1986). Ďalšími zástupcami sú napr. *T. naphthophila* a *T. petrophila*.

Kmeň **Deferribacteres** tvorí čeľad Deferribacteraceae, do ktorej patria **Gram-negatívne baktérie tvaru** rovnej, prípadne zahnutej **tyčinky**. Zástupcovia využívajú pri **anaeróbnej respirácii** najmä **železo, dusičnany alebo mangán**. Známym rodom tejto skupiny je ***Deferribacter***. Príkladom zástupcu rodu *Deferribacter* je **termofilná, chemolitoautotrofná baktéria *D. autotrophicus* redukujúca železo**, ktorá je vďaka jednému polárne umiestnenému bičíku motilná (Slobodkina a kol., 2009). Ďalšími zástupcami sú napr. termofilné baktérie *D. thermophilus* redukujúca železo alebo mangán a *D. desulfuricans*, ktorá redukuje síru, arzeničnany alebo dusičnany.

Kmeň **Nitrospirae** tvorí jediná trieda Nitrospira s jediným radom Nitrospirales a jedinou čeľaďou Nitrospiraceae. Rodom s najväčším počtom druhov z tejto skupiny je ***Nitrospira***. Patria sem morské, sladkovodné aj pôdne **Gram-negatívne baktérie s nezvyčajne veľkým periplazmatickým priestorom**, ktoré sa významnou mierou **podieľajú na kolobehu dusíka v prírode** (Lucker a kol., 2010). Sprostredkujú **oxidáciu dusitanov na dusičnany** v druhom kroku procesu nitrifikácie (Koch a kol., 2015), v tzv. **nitratácii** (viď kapitola 12.3.). Prvou popísanou baktériou rodu *Nitrospira* izolovanou z morského prostredia bola ***N. marina***. Je to **chemolitotrofná aeróbna** baktéria **s tvarom špirály alebo vibria** (Watson a kol., 1986). Neskôr bola objavená aj fakultatívne litoautotrofná nemotilná baktéria tvaru zahnutej paličky *Nitrospira moscoviensis* (Ehrich a kol., 1995) a ďalšie baktérie rodu *Nitrospira* ako napr. *N. calida* a *N. defluvii*.

Baktérie z kmeňa **Acidobacteria** („acidobaktérie“) sa vyznačujú vysokou **fyziologickou diverzitou** (Barns a kol., 2007; Quaiser a kol., 2003; Rappe a Giovannoni, 2003). Väčšina acidobaktérií je pravdepodobne **aeróbna** (Eichorst a kol., 2011). Vyskytujú sa takmer všade napr. v pôdach, horúcich prameňoch, jaskyniach, oceánoch, ako aj pôdach kontaminovaných kovmi. Mnohí zástupcovia sú **acidofilní**, vrátane prvého popísaného druhu acidobaktérií – ***Acidobacterium capsulatum*** (Kuske a kol., 1997). Ide o **acidofilnú** (rastie pri pH 3-6), **chemoorganotrofnú, fakultatívne anaeróbnu, nesporulujúcu Gram-negatívnu baktériu tvaru tyčinky**, ktorá je motilná vďaka **peritrichálnym bičíkom**. *A. capsulatum* je rošírená vo vodných, ale aj suchozemských ekosystémoch (Kleinsteuber a kol., 2008). Pre baktériu je typická prítomnosť **kapsuly**, vďaka čomu získala svoj druhový názov. Ďalšími zástupcami kmeňa sú napr. *Holophaga foetida* (Liesack a kol., 1994), *Geothrix fermentans* (Coates a kol., 1999), *Acanthopleuribacter pedis* (Fukunaga a kol., 2008) a *Bryobacter aggregatus* (Kulichevskaya a kol., 2010).

Poribacteria sú pomerne málo preštudovanou skupinou **Gram-negatívnych baktérií**, ktorej zástupcovia **sú symbiontami morských hubiek** (Porifera). Ich **morfológia pripomína** morfológiu **zástupcov skupiny Planctomycetes** (viď kapitola 15.4.4.1) – v bunke sú

prítomné pre prokaryoty nezvyčajné organely obalené membránou a **u mnohých sa** dokonca **DNA nachádza v organele pripomínajúcej eukaryotické jadrou** (Fieseler a kol., 2004) podobne ako u planktomycéty *G. obscuriglobus* (viď kapitola 15.4.4.1). Ich príbuznosť s planktomycétami, resp. PVC skupine je však sporná.

Fusobacteria sú skupinou **Gram-negatívnych nesporulujúcich obligátne anaeróbnych baktérií s tvarom paličiek**. Zástupcovia rodu ***Fusobacterium*** môžu spôsobovať napr. **ochorenia ústnej dutiny** alebo **kožné vredy** (Aliyu a kol., 2004).

Literatúra

ALENGHAT, F. J. – GOLAN, D. E. 2013. Membrane protein dynamics and functional implications in mammalian cells. Curr Top Membr 72, 89-120.

ALIYU, S. H. a kol. 2004. Real-time PCR investigation into the importance of *Fusobacterium necrophorum* as a cause of acute pharyngitis in general practice. J Med Microbiol 53, 1029-1035.

ALLISON, M. J. a kol. 1992. *Synergistes jonesii*, gen. nov., sp. nov.: A rumen bacterium that degrades toxic pyridinediols. Syst App Microbiol 15, 522-529.

ABHISHEK, A. a kol. 2011. Bacterial genome chimaerism and the origin of mitochondria. Can J Microbiol 57, 49-61.

ANDERSSON, S. G. a kol. 1998. The genome sequence of *Rickettsia prowazekii* and the origin of mitochondria. Nature 396, 133-140.

ATTA, M. A. 2009. Antimycin-A antibiotic biosynthesis produced by *Streptomyces* Sp. AZ-AR-262: Taxonomy, fermentation, purification and biological activities. Austral J Basic and Appl Sci 3, 126-135.

BAE, H.-S. a kol. 2007. Description of *Azospira restricta* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from groundwater. Int J Syst Evol Microbiol 57, 1521-1526.

BARNS, S. M. a kol. 2007. Acidobacteria phylum sequences in uranium-contaminated subsurface sediments greatly expand the known diversity within the phylum. Appl Environ Microbiol 73, 3113-3116.

BASSLER, B. L. 1999. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. Curr Opin Microbiol 2, 582-587.

BATTISTA, J.R 1997. Against all odds: the survival strategies of *Deinococcus radiodurans*. Annu Rev Microbiol 51, 203–224.

BATTISTUZZI, F. U. – FEIJÃO, A. – HEDGES, S. B. 2004. A genomic timescale of prokaryote evolution: insights into the origin of methanogenesis, phototrophy, and the colonization of land. BMC Evol Biol 4, 44.

BATTISTUZZI, F. U. – HEDGES, S. B. 2009. A major clade of prokaryotes with ancient adaptations to life on land. Mol Biol Evol 26, 335-343.

BAUM, D. A. – BAUM, B. 2014. An inside-out origin for the eukaryotic cell. BMC Biol 12, 76.

BAZYLINSKI, D. A. a kol. 2013. *Magnetococcus marinus* gen. nov., sp. nov., a marine, magnetotactic bacterium that represents a novel lineage (Magnetococcaceae fam. nov.; Magnetococcales ord. nov.) at the base of the Alphaproteobacteria. Int J Syst Evol Microbiol 63, 801-808.

BENNETT, P. M. 2008. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. Br J Pharmacol 1, 347-357.

BERG, H. C. – ANDERSON, R. A. 1973. Bacteria swim by rotating their flagellar filaments. Nature 245, 380-382.

BERN, M. – GOLDBERG, D. 2005. Automatic selection of representative proteins for bacterial phylogeny. BMC Evol Biol 5, 34.
BEVERIDGE, T. J. 1990. Mechanism of Gram variability in select bacteria. J Bacteriol 172, 1609-1620.
BODEN, R. 2017. Reclassification of *Halothiobacillus hydrothermalis* and *Halothiobacillus halophilus* to *Guyparkeria* gen. nov. in the Thioalkalibacteraceae fam. nov., with emended descriptions of the genus *Halothiobacillus* and family Halothiobacillaceae. Int J Syst Evol Microbiol 67, 3919-3928.
BODEN, R. – HUTT, P. – RAE, A. W. 2017. Reclassification of *Thiobacillus aquaesulis* (Wood & Kelly, 1995) as *Annwoodia aquaesulis* gen. nov., comb. nov., transfer of *Thiobacillus* (Beijerinck, 1904) from the Hydrogenophilales to the Nitrosomonadales, proposal of Hydrogenophilalia class. nov. within the "Proteobacteria", and four new families within the orders Nitrosomonadales and Rhodocyclales. Int J Syst Evol Microbiol 67, 1191-1205.
BRESSAN, W. 2003. Biological control of maize seed pathogenic fungi by use of actinomycetes. Biocontrol 48, 233-240.
BRINKHOFF, T. – GIEBEL, H. A. – SIMON, M. 2008. Diversity, ecology, and genomics of the *Roseobacter* clade: a short overview. Arch Microbiol 189, 531-539.
BROCK, T. D. – FREEZE, H. 1969. *Thermus aquaticus*, a nonsporulating extreme thermophile. J Bacteriol 98, 289-297.
BROWN, C. T. a kol. 2015. Unusual biology across a group comprising more than 15% of domain Bacteria. Nature 523, 208-211.
BROWN, S. – SANTA MARIA, J. P. – WALKER, S. 2013. Wall teichoic acids of Gram-positive bacteria. Annu Rev Microbiol 67, 313-336.
BROWN, T. A. 2010. Vectors for gene cloning. Part I: The basic principles of gene cloning and DNA analysis. In Gene cloning and DNA analysis: an introduction. 6th edition. Chichester, UK: Wiley-Blackwell.
BRYAN, T. S. 2008. Geysers of Yellowstone. 4th edition. Colorado, USA: University Press of Colorado.
CAMMACK, R. a kol. 2006. Oxford dictionary of biochemistry and molecular biology. Oxford (Oxfordshire): Oxford University Press.
CAMPBELL, C. – SUTCLIFFE, I. C. – GUPTA, R. S. 2014. Comparative proteome analysis of *Acidaminococcus intestini* supports a relationship between outer membrane biogenesis in Negativicutes and Proteobacteria. Arch Microbiol 196, 307-310.
CASTELLE, C. J. – BANFIELD, J. F. 2018. Major new microbial groups expand diversity and alter our understanding of the tree of life. Cell 172, 1181-1197.
CAVALIER-SMITH, T. 2002. The neomuran origin of archaebacteria, the negibacterial root of the universal tree and bacterial megaclassification. Int J Syst Evol Microbiol 52, 7-76.
CAVALIER-SMITH, T. 2010. Deep phylogeny, ancestral groups and the four ages of life. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 365, 111-132.
CLAESSEN, D. a kol. 2014. Bacterial solutions to multicellularity: a tale of biofilms, filaments and fruiting bodies. Nat Rev Microbiol 12, 115-124.
CLUM, A. a kol., 2009. Complete genome sequence of *Pirellula staleyi* type strain (ATCC 27377). Stand Genomic Sci 1, 308-316.
COATES, J. D. a kol. 1999. *Geothrix fermentans* gen. nov., sp. nov., a novel Fe(III)-reducing bacterium from a hydrocarbon-contaminated aquifer. Int J Syst Bacteriol 49,1615-1622.
COX, M. M. 2015. Molecular biology: Principles and practice. New York: W. H. Freeman & co.
DAFFÉ, M. – ETIENNE, G. 1999. The capsule of *Mycobacterium tuberculosis* and its implications for pathogenicity. Tuber Lung Dis 79, 153-169.

DAMMERMANN, W. – WOLLENBERG, L. – BENTZIEN, F. 2013 Toll like receptor 2 agonists lipoteichoic acid and peptidoglycan are able to enhance antigen specific IFNγ release in whole blood during recall antigen responses. J Immunol Methods 396, 107-115.

DANCZAK, R. E. a kol. 2017. Members of the Candidate Phyla Radiation are functionally differentiated by carbon- and nitrogen-cycling capabilities. Microbiome 5, 112.

DARNTON, N. C. a kol. 2007. On torque and tumbling in swimming *Escherichia coli*. J Bacteriol 189, 1756-1764.

DEGLI ESPOSTI, M. 2014. Bioenergetic evolution in proteobacteria and mitochondria. Genome Biol Evol 6, 3238-3251.

DEGLI ESPOSTI, M. a kol. 2014. Evolution of mitochondria reconstructed from the energy metabolism of living bacteria. PLoS One 9, e96566.

DERRIEN, M. a kol. 2004. Intestinal integrity and *Akkermansia muciniphila*, a mucin-degrading member of the intestinal microbiota present in infants, adults, and the elderly. Int J Syst Evol Microbiol 54, 1469-1476.

DERRIEN, M. a kol. 2010. Mucin-bacterial interactions in the human oral cavity and digestive tract. Gut Microbes 1, 254-268.

DEVOS, D. P. 2013. *Gemmata obscuriglobus*. Curr Biol 23, R705-R707.

DEVOS, D. P. 2014a. Re-interpretation of the evidence for the PVC cell plan supports a Gram-negative origin. Antonie van Leeuwenhoek 105, 271-274.

DEVOS, D. P. 2014b. PVC bacteria: variation of, but not exception to, the Gram-negative cell plan. Trends Microbiol 22, 14-20.

DIÓSZEGHY, Z. a kol. 2004. Stabilization of flagellar filaments by HAP2 capping. FEBS Lett 568, 105-109.

DOURADO, M. N. a kol. 2015. Biotechnological and agronomic potential of endophytic pink-pigmented methylotrophic *Methylobacterium* spp. Biomed Res Int 2015, 909016.

DRLICA, K. – ROUVIERE-YANIV, J. 1987. Histone-like proteins of bacteria. Microbiol Rev 51, 301-319.

DURON, O. a kol. 2008. High incidence of the maternally inherited bacterium *Cardinium* in spiders. Mol Ecol 17, 1427-1437.

DUSENBERY, D. B. 2009. Living at micro scale. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press.

DWORKIN, M. a kol. 2006. The prokaryotes, vol. 5 – Proteobacteria: Alpha and beta subclasses. New York: Springer.

EHRICH, S. a kol. 1995. A new obligately chemolithoautotrophic, nitrite-oxidizing bacterium, *Nitrospira moscoviensis* sp. nov. and its phylogenetic relationship. Arch Microbiol 164, 16-23.

EICHORST, S. A. – KUSKE, CH. R. – SCHMIDT, T. M . 2011. Influence of plant polymers on the distribution and cultivation of bacteria in the phylum *Acidobacteria*. Appl Environ Microbiol 77, 586-596.

ELSHAHED, M. S. – McINERNEY, M. J. 2001. Benzoate fermentation by the anaerobic bacterium *Syntrophus aciditrophicus* in the absence of hydrogen-using microorganisms. Appl Environ Microbiol 67, 5520-5525.

EMELYANOV, V. V. 2003. Mitochondrial connection to the origin of the eukaryotic cell. Eur J Biochem 270, 1599-1618.

ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA. 2018. Actinomycetes. Dostupné na: <https://www.britannica.com/science/actinomycete>.

ERIKSEN, N. T. a kol. 2010. H(2) synthesis from pentoses and biomass in *Thermotoga* spp. Biotechnol Lett 33, 293-300.

ESSER, C. a kol. 2004. A genome phylogeny for mitochondria among alpha-proteobacteria and a predominantly eubacterial ancestry of yeast nuclear genes. Mol Biol Evol 21, 1643-1660.

EUZÉBY, J. P. 1997. List of bacterial names with standing in nomenclature: a folder available on the internet. Int J Syst Evol Microbiol 47, 590-592.

EUZÉBY, J. 2007. Validation list No. 116: List of new names and new combinations previously effectively, but not validly, published. Int J Syst Evol Microbiol 57, 1371-1373.

EZZELL, J. W. – WELKOS, S. L. 1999. The capsule of *Bacillus antracis*, a review. J Appl Microbiol 87, 250.

FERLA, M. P. a kol. 2013. New rRNA gene-based phylogenies of the Alphaproteobacteria provide perspective on major groups, mitochondrial ancestry and phylogenetic instability. PLoS One 8, e83383.

FIESELER, L. a kol. 2004. Discovery of the novel candidate phylum "Poribacteria" in marine sponges. Appl Environ Microbiol 70, 3724-3732.

FLORES, G. E. a kol. 2011. Microbial community structure of hydrothermal deposits from geochemically different vent fields along the Mid-Atlantic Ridge. Env Microbiol 13, 2158-2171.

FORTERRE, P. 2011. A new fusion hypothesis for the origin of Eukarya: better than previous ones, but probably also wrong. Res Microbiol 162, 77-91.

FUERST, J. A. 2005. Intracellular compartmentation in Planctomycetes. Annu Rev Microbiol 59, 299-328.

FUERST, J. A. 2010. Beyond prokaryotes and eukaryotes: Planctomycetes and cell organization. Nat Educ 3, 44.

FUERST, J. A. 2013. The PVC superphylum: exceptions to the bacterial definition? Antonie van Leeuwenhoek 4, 451-466.

FUJIO-VEJAR, S. a kol. 2017. The gut microbiota of healthy Chilean subjects reveals a high abundance of the phylum Verrucomicrobia. Front Microbiol 8, 1221.

FUKUNAGA, Y. 2008. *Acanthopleuribacter pedis* gen. nov., sp. nov., a marine bacterium isolated from a chiton, and description of Acanthopleuribacteraceae fam. nov., Acanthopleuribacterales ord. nov., Holophagaceae fam. nov., Holophagales ord. nov. and Holophagae classis nov. in the phylum 'Acidobacteria'. Int J Syst Evol Microbiol 58, 2597-2601.

GALDIERO, S. a kol. 2012. Microbe-host interactions: structure and role of Gram-negative bacterial porins. Curr Protein Pept Sci 13, 843-854.

GARRIDO-OTER, R. a kol. 2018. Modular traits of the Rhizobiales root microbiota and their evolutionary relationship with symbiotic Rhizobia. Cell Host Microbe 24, 155-167.

GARRITY, G. M. a kol. 2005. Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 2: The Proteobacteria, part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria. New York: Springer.

GHAI, R. – McMAHON, K. D. – RODRIGUEZ-VALERA, F. 2012. Breaking a paradigm: cosmopolitan and abundant freshwater actinobacteria are low GC. Env Microbiol Rep 4, 29-35.

GLUCH, M. F. – TYPKE, D. – BAUMESTER, W. 1995. Motility and thermotactic responses of *Thermotoga maritima*. J Bacteriol 177, 5473-5479.

GOODACRE, S. L. a kol. 2006. *Wolbachia* and other endosymbiont infections in spiders. Mol Ecol 15, 517-527.

GOTTSHALL, E. Y. a kol. 2014. Spatially segregated transcription and translation in cells of the endomembrane-containing bacterium *Gemmata obscuriglobus*. Proc Natl Acad Sci USA 111, 11067–11072.

GRIFFITHS, E. – GUPTA, R. S. 2006. Molecular signatures in protein sequences that are characteristics of the phylum Aquificae. Int J Syst Evol Microbiol 56, 99-107.

GRISWOLD, A. 2008. Genome packaging in prokaryotes: the circular chromosome of *E. coli*. Nat Edu 1, 57.

GUNNARSSON, B. – GOODACRE, S. L. – HEWITT, G. M. 2009. Sex ratio, mating behaviour and *Wolbachia* infections in a sheetweb spider. Biol J Linn Soc 98, 181-186.

GUPTA, R. S. 2011. Origin of diderm (Gram-negative) bacteria: antibiotic selection pressure rather than endosymbiosis likely led to the evolution of bacterial cells with two membranes. Antonie van Leeuwenhoek 100, 171-182.

GUPTE, M. – KULKARNI, P. – GANGULI, B. N. 2002. Antifungal antibiotics. Appl Microbiol Biotechnol 58, 46-57.

HAHN, M. W. a kol. 2017. *Silvanigrella aquatica* gen. nov., sp. nov., isolated from a freshwater lake, description of Silvanigrellaceae fam. nov. and Silvanigrellales ord. nov., reclassification of the order Bdellovibrionales in the class Oligoflexia, reclassification of the families Bacteriovoracaceae and Halobacteriovoraceae in the new order Bacteriovoracales ord. nov., and reclassification of the family Pseudobacteriovoracaceae in the order Oligoflexales. Int J Syst Evol Microbiol 67, 2555-2568.

HARSHEY, R. M. 2003. Bacterial motility on a surface: many ways to a common goal. Annu Rev Microbiol 57, 249-273.

HAZEN, T. C. – JIMÉNEZ, L. 1988. Enumeration and identification of bacteria from environmental samples using nucleic acid probes. Microbiol Sci 5, 340-343.

HOMANN, M. a kol. 2018. Microbial life and biotechnological cycling on land 3,220 milion years ago. Nat Geo 11, 665-671.

HORIIKE, T. a kol. 2009. Phylogenetic construction of 17 bacterial phyla by new method and carefully selected orthologs. Gene 429, 59-64.

HORN, M. a kol. 2002. Obligate bacterial endosymbionts of *Acanthamoeba* spp. related to the beta-Proteobacteria: proposal of "Candidatus Procabacter acanthamoebae" gen. nov., sp. nov". Int J Syst Evol Microbiol 52, 599-605.

HUBER, R. a kol. 1986. *Thermotoga maritima* sp. nov. represents a new genus of unique extremely thermophilic eubacteria growing up to 90°C. Arch Microbiol 144, 324-333.

HUBER, R. a kol. 1992. *Aquifex pyrophilus* gen. nov. sp. nov., represents a novel group of marine hyperthermophilic hydrogen-oxidizing bacteria. Syst Appl Microbiol 15, 340-351.

HUBER, R. – HANNING, M. 2006. Thermotogales. In Dworkin M. a kol. (eds), The prokaryotes. New York: Springer.

HUBER, J. A. a kol. 2010. Isolated communities of Epsilonproteobacteria in hydrothermal vent fluids of the Mariana Arc seamounts. FEMS Microbiol Ecol 73, 538-549.

HUG, L. A. a kol. 2016. A new view of the tree of life. Nat Microbiol Lett 1, 16048.

CHANG, H. X. a kol. 2017. Metagenome-wide association study and machine learning prediction of bulk soil microbiome and crop productivity. Front Microbiol 8, 519.

CHEN, L. X. a kol. 2019. Candidate Phyla Radiation Roizmanbacteria from hot springs have novel and unexpectedly abundant CRISPR-Cas systems. Front Microbiol 10, 928.

CHILDERS, S. 2002. *Geobacter metallireducens* accesses insoluble Fe (III) oxide by chemotaxis. Nature 416, 767-769.

IMHOFF, J. F. – HIRAISHI, A. 2005. Aerobic bacteria containing bacteriochlorophyll and belonging to the Alphaproteobacteria. In Brenner, D. J. – Krieg, N. R. – Staley, J. T. (eds.), Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd edition. New York: Springer, 133-136.

IMHOFF, J. F. 2006. The phototrophic beta-proteobacteria. In Dworkin M. a kol. (eds.), The prokaryotes. New York: Springer, 593-601.

IMHOFF, J. F. – HIRAISHI, A. – SÜLING, J. 2015. Anoxygenic phototrophic purple bacteria. In Bergey`s manual of systematics of Archaea and Bacteria. John Wiley & Sons, Inc. Dostupné na: <https://doi.org/10.1002/9781118960608.bm00002>.

IMHOFF, J. F. a kol. 2018. Photosynthesis is widely distributed among proteobacteria as demonstrated by the phylogeny of PufLM reaction center proteins. Front Microbiol 8, 2679.

JAHN, T. L. – BOYEE, E. C. 1965. Movement and locomotion of microorganisms. Annu Rev Microbiol. 19, 21-58.

JEANTHON, C. a kol. 2002. *Thermodesulfobacterium hydrogeniphilum* sp. nov., a thermophilic, chemolithoautotrophic, sulfate-reducing bacterium isolated from a deep-sea hydrothermal vent at Guaymas Basin, and emendation of the genus *Thermodesulfobacterium*. Int J Syst Evol Microbiol 52, 765-772.

JENKINS, C. a kol. 2002. Genes for the cytoskeletal protein tubulin in the bacterial genus *Prosthecobacter*. Proc Natl Acad Sci USA 99, 17049-17054.

JESKE, O. a kol. 2015. Planctomycetes do possess a peptidoglycan cell wall. Nat Commun 6, 7116.

JOHNSON, J. E. – CORNELL, R. B. 1999. Amphitropic proteins: regulation by reversible membrane interactions (review). Mol Membr Biol 16, 217-235.

JUMAS-BILAK, E. a kol. 2007. *Jonquetella anthropi* gen. nov., sp. nov., the first member of the candidate phylum 'Synergistetes' isolated from man. Int Syst Evol Microbiol 57, 2743-2748.

JUMAS-BILAK, E. – ROUDIERE, L. – MARCHANDIN, H. 2009. Description of 'Synergistetes' phyl. nov. and emended description of the phylum 'Deferribacteres' and of the family Syntrophomonadaceae, phylum 'Firmicutes'. Int J Syst Evol Microbiol 59, 1028-1035.

KAČÁNIOVÁ, M. – HLEBA, L. 2011. Základy bakteriológie. 1. vyd. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita.

KAPRÁLEK, F. 1986. Fyziologie baktérií. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství.

KISKOWSKI, M. A. – JIANG, Y. – ALBER, M. S. 2004. Role of streams in myxobacteria aggregate formation. Phys Biol 1, 173-183.

KLEINSTEUBER, S. 2008. Diversity and in situ quantification of Acidobacteria subdivision 1 in an acidic mining lake. FEMS Microbiol Ecol 63, 107-117.

KOBLÍŽEK, M. a kol. 2013. Regressive evolution of photosynthesis in the Roseobacter clade. Adv Bot Res 66, 385-405.

KODACH, L. L. a kol. 2006. Violacein synergistically increases 5-fluorouracil cytotoxicity, induces apoptosis and inhibits Akt-mediated signal transduction in human colorectal cancer cells. Carcinogenesis 27, 508-516.

KODZIUS, R. – GOJOBORI, T. 2015. Marine metagenomics as a source for bioprospecting. Mar Genomics 24, 21-30.

KOCH, A. L. 2003. Bacterial wall as target for attack: past, present, and future research. Clin Microbiol Rev 16, 673-687.

KOCH, H. a kol. 2015. Expanded metabolic versatility of ubiquitous nitrite-oxidizing bacteria from the genus *Nitrospira*. Proc Natl Acad Sci 112, 11371-11376.

KOJIMA, C. – BLAIR, D. F. 2004. The bacterial flagellar motor: structure and function of a complex molecular machine. Int Rev Cytol 233, 93-134.

KOPEJTKA, K. a kol. 2017. Genomic analysis of the evolution of phototrophy among haloalkaliphilic *Rhodobacterales.* Genome Biol Evol 9,1950-1962.

KÖNIG, H. a kol. 2006. Bacterial ectosymbionts which confer motility: *Mixotricha paradoxa* from the intestine of the australian termite *Mastotermes darwiniensis*. Prog Mol Subcell Biol 41, 77-96.

KULICHEVSKAYA, I. S. a kol. 2010. *Bryobacter aggregatus* gen. nov., sp. nov., a peat-inhabiting, aerobic chemo-organotroph from subdivision 3 of the Acidobacteria. Int J Syst Evol Microbiol 60, 301-306.

KUSKE, C. R. – BARNS, S. M. – BUSCH, J. D. 1997. Diverse uncultivated bacterial groups from soils of the arid southwestern United States that are present in many geographic regions. Appl Environ Microbiol 63, 3614-3621.

KUWAHARA, T. a kol. 2004. Genomic analysis of *Bacteroides fragilis* reveals extensive DNA inversions regulating cell surface adaptation. Proc Natl Acad Sci USA 101, 14919-14924.

LEE, K.C. – WEBB, R., FUERST – J.A. 2009a. The cell cycle of the planctomycete *Gemmata obscuriglobus* with respect to compartmentation. BMC Cell Biol 10, 4.

LEE a kol., 2009b. Phylum Verrucomicrobia representatives share a compartmentalized cell plan with members of bacterial phylum Planctomycetes. BMC Microbiol 9, 5.

LEVINSON, W. 2010. Review of medical microbiology and immunology. 11th edition. New York: McGraw-Hill Medical.

LI, C. a kol. 2000. Spirochete periplasmic flagella a motility. J Mol Microbiol Biotechnol 2, 345-354.

LIESACK, W. a kol. 1994. *Holophaga foetida* gen. nov., sp. nov., a new, homoacetogenic bacterium degrading methoxylated aromatic compounds. Arch Microbiol 162, 85-90.

LODISH, H. a kol. 2013. Molecular cell biology. 7th edition. New York: W. H. Freeman & Company.

LONHIENNE, T.G. a kol. 2010. Endocytosis-like protein uptake in the bacterium *Gemmata obscuriglobus*. Proc Natl Acad Sci USA 107, 12883-12888.

LUCKER, S. a kol. 2010. A *Nitrospira* metagenome illuminates the physiology and evolution of globally important nitrite-oxidizing bacteria. Proc Natl Acad Sci 107, 13479-13484.

MACNAB, R. M. 2003. How bacteria assemble flagella. Annu Rev Microbiol 57, 77-100.

MADIGAN, M. – MARTINKO, J. 2005. Brock biology of microorganisms. 11th edition. New Jersey: Prentice Hall.

MARGULIS, L. a kol. 1993. Composite, large spirochetes from microbial mats: spirochete structure review. Proc Natl Acad Sci USA 90, 6966-6970.

MARÍN, I. 2014. Proteobacteria. In AMILS, R. a kol. (eds). Encyclopedia of astrobiology. Berlin, Heidelberg: Springer.

MARX C. J. a kol. 2012 Complete genome sequences of six strains of the genus *Methylobacterium*. J Bacteriol 194, 4746-4748.

MATSUNAMI, H. a kol. 2016. Complete structure of the bacterial flagellar hook reveals extensive set of stabilizing interactions. Nat Commun 7, 13425.

McBRIDE, M. 2001. Bacterial gliding motility: multiple mechanisms for cell movement over surfaces. Annu Rev Microbiol 55, 49-75.

McDONALD, D. a kol. 2012. An improved Greengenes taxonomy with explicit ranks for ecological and evolutionary analyses of bacteria and archaea. ISME J 6, 610-618.

McINERNEY, J. O. a kol. 2011. *Planctomycetes* and eukaryotes: a case of analogy not homology. Bioessays 33, 810-817.

MEISTER, G. L. – BERG, H. C. 1987. Rapid rotation of flagellar bundles in swimming bacteria. Nature 325, 637-640.

MENDES, R. – GARBEVA, P. – RAAIJMAKERS, J. M. 2013. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. FEMS Microbiol Rev 37, 634-663.

MIKLOSSY, J. 2011. Alzheimer's disease - a neurospirochetosis. Analysis of the evidence following Koch's and Hill's criteria. J Neuroinflammation 8, 90.

MILLER, S. I. – SALAMA, N. R. 2018. The Gram-negative bacterial periplasm: Size matters. PLoS Biol 16, e2004935.

MINDELL, D. P. 2013. The tree of life: Metaphor, model, and heuristic device. Syst Biol 62, 479-489.

MIROSHNICHENKO, M. L. a kol. 1994. *Desulfurella multipotens* sp. nov., a new sulfur-respiring thermophilic eubacterium from Raoul Island (Kermadec archipelago, New Zealand. Arch Microbiol 161, 88-93.

MIROSHNICHENKO, M. L. a kol. 1999. *Hippea maritima* gen. nov., sp. nov., a new genus of thermophilic, sulfur-reducing bacterium from submarine hot vents. Int J Syst Bacteriol 49, Pt 3, 1033-1038.

MONTGOMERY, L. – FLESHER, B. – STAHL, D. 1988. Transfer of *Bacteroides succinogenes* (Hungate) to *Fibrobacter* gen. nov. as *Fibrobacter succinogenes* comb. nov. and description of *Fibrobacter intestinalis* sp. nov. Int J Syst Bacteriol 38, 430-435.

MORAN, M. A. a kol. 2007. Ecological genomics of marine Roseobacters. Appl Environ Microbiol 73,4559-4569.

MORRIS, B. E. L. a kol. 2013. Microbial syntrophy: interaction for the common good. FEMS Microbiol Rev 37, 384-406.

MURRAY, P. R. – ROSENTHAL, K. S. – PFALLER, M. A. 2013. Medical microbiology. 7th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders.

NAKAGAWA, S. – TAKAKI, Y. 2009. Nonpathogenic epsilonproteobacteria. In Encyclopedia of life sciences (ELS). Chichester: Wiley & Sons, Ltd.

NAKAI, R. a kol. 2014. *Oligoflexus tunisiensis* gen. nov., sp. nov., a Gram-negative, aerobic, filamentous bacterium of a novel proteobacterial lineage, and description of Oligoflexaceae fam. nov., Oligoflexales ord. nov. and Oligoflexia classis nov. Int J Syst Evol Microbiol 64, 3353-3359.

NOVIKOVA, O. D. – SOLOVYEVA, T. F. 2009. Non-specific porins of the outer membrane of Gram-negative bacteria: Structure and functions. Biologicheskie Membrany 3, 3-15.

OREN, A. 2013. *Salinibacter*: an extremely halophilic bacterium with archaeal properties. FEMS Microbiol Lett 342,1-9.

PADDOCK, C. D. a kol. 2010. Isolation of *Rickettsia parkeri* and identification of a novel spotted fever group *Rickettsia* sp. from Gulf Coast ticks (*Amblyomma maculatum*) in the United States. App Environ Microbiol 76, 2689-2696.

PARKS, D. H. a kol. 2017. Recovery of nearly 8,000 metagenome-assembled genomes substantially expands the tree of life. Nat Microbiol 2, 1533-1542.

PASTORÁKOVÁ, A. – PETROVIČ, R. 2016. Molekulárne metódy aktuálne používané v klinickej medicíne. Bratislava: FMED UK.

PETROVA, M. I. a kol. 2015. *Lactobacillus* species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health. Front Physiol 6, 81.

PETROVIČOVÁ, A. – ŠIMKOVIČOVÁ, M. 2004. Všeobecná mikrobiológia 1. vyd. Bratislava: Herba.

PETTIJOHN, D. E. 1988. Histone-like proteins and bacterial chromosome structure. J Biol Chem 263, 12793-12796.

PFENNING, N. – BIEBL, H. 1976. *Desulfuromonas acetoxidans* gen. nov. and sp. nov., a new anaerobic, sulfur-reducing, acetate-oxidizing bacterium. Arch Microbiol 110, 3-12.

POEHLSGAARD, J. – DOUTHWAITE, S. 2005. The bacterial ribosome as a target for antibiotics. Nat Rev Microbiol 3, 870-881.
PONTEFRACK, R. D. – BERGERON, G. – THATCHER, F. S. 1969. Mesosomes in *Escherichia coli*. J Bacteriol 97, 367-375.
QUAISER, A. a kol. 2003. Acidobacteria form a coherent but highly diverse group within the bacterial domain: evidence from environmental genomics. Mol Microbiol 50, 563-75.
RAJILIĆ-STOJANOVIĆ, M. – DE VOS, W. M. 2014. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. FEMS Microbiol Rev 38, 996-1047.
RAPPE, M. S. – GIOVANNONI, S. J. 2003. The uncultured microbial majority. Annu Rev Microbiol 57, 369-394.
RAST, P. a kol. 2017. Three novel species with peptidoglycan cell walls form the new genus *Lacunisphaera* gen. nov. in the family Opitutaceae of the verrucomicrobial subdivision 4. Front Microbiol 8, 202.
RAY, P. a kol.2004. *Chromobacterium violaceum* septicaemia from North India. Indian J Med Res 120, 523-526.
RINKE, C. a kol. 2013. Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter. Nature 499,431-437.
RIVIERE, D. a kol. 2009. Towards the definition of a core of microorganisms involved in anaerobic digestion of sludge. ISME J 3, 700-714.
ROGERS, K. – KADNER, J. K. 2019. Bacteria. In Encyclopædia Britannica. Dostupné na: <https://www.britannica.com/science/bacteria>.
ROOST, J. V. a kol. 2017. Microbial analysis of Zetaproteobacteria and co-colonizers of iron mats in the Troll Wall Vent Field, Arctic Mid-Ocean Ringe. PLoS One 12, e0185008.
ROWLEY, S. M. – RAVEN, R. J. – McGRAW, E. A. 2004. *Wolbachia pipientis* in Australian spiders. Curr Microbiol 49, 208-214.
SADHU, K. a kol. 1989. *Gardnerella vaginalis* has a Gram-positive cell-wall ultrastructure and lacks classical cell-wall lipopolysaccharide. J Med Microbiol 29, 229-235.
SAGULENKO E a kol. 2014. Structural studies of planctomycete *Gemmata obscuriglobus* support cell compartmentalisation in a bacterium. PLOS One 9, e91344.
SAGULENKO E a kol. 2017. Nuclear pore-like structures in a compartmentalized bacterium. PLOS One 12, e0169432.
SAIER, M.H. Jr. 1994. Protein uptake into *E. coli* during *Bdellovibrio* infection. A process of reverse secretion? FEBS Lett 337, 14-17.
SANTARELLA-MELLWIG, R a kol. 2013. Three-dimensional reconstruction of bacteria with a complex endomembrane system. PLOS Biol 11, e1001565.
SERVIN, J. A. a kol. 2008. Evidence excluding the root of the tree of life from the actinobacteria. Mol Biol Evol 25, 1-4.
SHARMA, G. – SUBRAMANIAN, S. 2016. *Minicystis rosea* strain *DSM 24000*, complete genome. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/CP016211.1>.
SCHELL, M. A. a kol. 2002. The genome sequence of *Bifidobacterium longum* reflects its adaptation to the human gastrointestinal tract. Proc Natl Acad Sci U.S.A 99, 14422-14427.
SCHINK, B. 1985. Fermentation of acetylene by an obligate anaerobe, *Pelobacter acetylenicus* sp. nov. Arch Microbiol 142, 295-301.
SCHULTZ, F. a kol. 2017. Towards a balanced view of the bacterial tree of life. Microbiome 5, 140.
SICHERITZ-PONTÉN, T. – KURLAND, C. G. – ANDERSSON, S. G. 1998. A phylogenetic analysis of the cytochrome b and cytochrome c oxidase I genes supports an origin of mitochondria from within the Rickettsiaceae. Biochim Biophys Acta 1365, 545-551.

SILVERMAN, M. – SIMON, M. 1974. Flagellar rotation and the machanism of bacterial motility. Nature 249, 73-74.

SINGLETON, P. 1999. Bacteria in biology, biotechnology and medicine. 5th edition. New York: Wiley.

SLOBODKINA, G. B.a kol. 2009. *Deferribacter autotrophicus* sp. nov., an iron(III)-reducing bacterium from a deep-sea hydrothermal vent. Int J Syst Evol Microbiol 59, 1508-1512.

SLOVAK, P. M. – WADHAMS, G. H. – ARMITAGE, J. P. 2005. Localization of MreB in *Rhodobacter sphaeroides* under conditions causing changes in cell shape and membrane structure. J Bacteriol 187, 54-64.

SMITH, A. C. – HUSSEY, M. A. 2005. Gram stain protocols. Am Soc Microbiol. Dostupné na: <https://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.2886>.

SMITH, J. L. a kol. 2008. *Nautilia profundicola* sp. nov., a thermophilic, sulfur-reducing epsilonproteobacterium from deep-sea hydrothermal vents. Int J Syst Evol Microbiol 58, 1598-1602.

SOKOLOVA, T. a kol. 2007. Novel chemolithotrophic, thermophilic, anaerobic bacteria *Thermolithobacter ferrireducens* gen. nov., sp. nov. and *Thermolithobacter carboxydivorans* sp. nov. Extremophiles 11, 145-157.

SOLDEN, L. – LLOYD, K. – WRIGHTON, K. 2016. The bright side of microbial dark matter: lessons learned from the uncultivated majority. Curr Opin Microbiol 31, 217-226.

SOZINOVA O. – JIANG, Y. – KAISER, D. – ALBER, M. 2005. A three-dimensional model of myxobacterial aggregation by contact-mediated interactions. Proc Natl Acad Sci USA. 102, 11308-11312.

SUBRAMANIAN, S. – SHARMA, G. 2015. *Vulgatibacter incomptus* strain *DSM 27710*, complete genome. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/CP012332.1.>.

SUGANUMA, A. 1966. Studies on the fine structure of *Staphylococcus aureus*. J Electron Microsc (Tokyo) 15, 257-261.

SUTCLIFFE, I. C. 2010. A phylum level perspective on bacterial cell envelope architecture. Trends Microbiol 18, 464-470.

STACKEBRANDT, E. – MURRAY, R. G. E. – TRUPER, H. G. 1988. Proteobacteria classis nov., a name for the phylogenetic taxon that includes the "Purple bacteria and their Relatives". Int J Syst Bacteriol 38, 321-325.

STANISICH, V. A. 1988. Identification and analysis of plasmids at the genetic level. In Methods in microbiology, plasmid technology, 2nd edition. Grinsted, J. – Bennett, P. M. (eds). London: Academic Press, 11-47.

TANG, Y. W. a kol. 2015. Molecular medical microbiology. 2nd edition. Sails, A. (ed), London: Academic Press.

THANBICHLER, M. – WABG, S. C. – SHAPIRO, L. 2005. The bacterial nucleoid: a highly organized and dynamic structure. J Cell Biochem 96, 506-521.

THIERGART, T. a kol. 2012. An evolutionary network of genes present in the eukaryote common ancestor polls genomes on eukaryotic and mitochondrial origin. Genome Biol Evol 4, 466-485.

THOMAS, S. H. a kol. 2008. The mosaic genome of *Anaeromyxobacter dehalogenans* strain *2CP-C* suggests an aerobic common ancestor to the delta-proteobacteria. PLoS ONE 3, e2103.

THOMAS, F. a kol. 2011. Environmental and gut bacteroidetes: The food connection. Front Microbiol 2, 93.

TINDALL, B. J. 2019 On the status of the names *Corynebacteriales* Goodfellow and Jones 2015, *Mycobacteriales* Janke 1924 (Approved Lists 1980) and *Mycobacteriales* Cavalier-Smith 2002. Int J Syst Evol Microbiol 69, 3310-3312.

VAN NIFTRIK, L. a kol. 2010. Intracellular localization of membrane-bound ATPases in the compartmentalized anammox bacterium ‘Candidatus *Kuenenia stuttgartiensis*’. Mol Microbiol 77, 701-715.

VAN NIFTRIK, L. – DEVOS, D. P. 2017. Editorial: Planctomycetes-Verrucomicrobia-Chlamydiae bacterial superphylum: New model organisms for evolutionary cell biology. Front Microbiol 8, 1458.

VAN TEESELING, M. C. F. a kol. 2015. Anammox Planctomycetes have a peptidoglycan cell wall. Nat Commun 6, 6878.

VAN TEESELING, M. C. F. – DE PEDRO, M. A. – CAVA, F. 2017. Determinants of bacterial morphology: From fundamentals to possibilities for antimicrobial targeting. Front Microbiol 8, 1264.

VANTHOURNOUT, B. – SWAEGERS, J. – HENDRICKX, F. 2011. Spiders do not escape reproductive manipulations by *Wolbachia*. BMC Evol Biol 11,15.

VENTURA, M. a kol. 2007. Genomics of Actinobacteria: Tracing the evolutionary history of an ancient phylum. Microbiol Mol Biol Rev 71, 495-548.

VESTH, T. a kol. 2013. *Veillonella*, Firmicutes: Microbes disguised as Gram negatives. Stand Genomic Sci 9, 431-448.

VISCA, P. a kol. 2001 Community-acquired *Acinetobacter radioresistens* bacteremia in an HIV-positive patients. Emerg Inf Dis 7, 1032-1035.

VOLLMER, W. – BERTSCHE, U. 2008. Murein (peptidoglycan) structure, architecture and biosyntheisis in *Escherichia coli*. Biochim Biophys Acta – Biomembranes 1778, 1714-1734.

WAGNER-DÖBLER, I. – BIEBL, H. 2006. Environmental biology of the marine *Roseobacter* lineage. Annu Rev Microbiol 60, 255-280.

WAGNER, M. – HORN, M. 2006. The Planctomycetes, Verrucomicrobia, Chlamydiae and sister phyla comprise a superphylum with biotechnological and medical relevance. Curr Opin Biotechnol 17, 241-249.

WAITE, D. W. a kol. 2017. Comparative genomic analysis of the slass Epsilonproteobacteria and proposed reclassification to Epsilonbacteraeota (phyl. nov.). Front Microbiol 8, 682.

WANG, J. a kol. 2002. Isolation of *Gemmata*-like and *Isosphaera*-like planctomycete bacteria from soil and freshwater. Appl Environ Microbiol 68, 417-422.

WANG, Z-Y. a kol. 2010. Molecular detection and the phylogenetics of *Wolbachia* in Chinese spiders (Araneae). J Arachnol 38, 237-241.

WATSON, S. W. a kol. 1986. *Nitrospira marina* gen. nov. sp. nov.: a chemolithotrophic nitrite-oxidizing bacterium. Arch Microbiol 144, 1-7.

WATSON, R. R. – PREEDY, V. R. – ZIBADI, S. 2018. Polyphenols: Mechanisms of action in human health and disease. London: Academic Press.

WHITE, O. a kol. 1999. Genome sequence of the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans* R1. Science 286, 1571-1577.

WILLIAMS, K. P. – KELLY, D. P. 2013. Proposal for a new class within the phylum Proteobacteria, Acidithiobacillia classis nov., with the type order Acidithiobacillales, and emended description of the class Gammaproteobacteria. Int J Syst Evol Microbiol 63, 2901-2906.

WOESE, C. R. 1987. Bacterial evolution. Microbiol Rev 51, 221-271.

WOESE, C. R. – FOX, G. E. 1977. Phylogenetic of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. Proc Natl Acad Sci USA 74, 5088-5090.

WOESE C. R. – KANDLER, O. – WHEELIS, M. L. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proc Natl Acad Sci USA 87, 4576-4579.

XIN, L. a kol., 2014. Revisiting the mesosome as a novel site of hydrogen peroxide accumulation in *Escherichia coli*. Curr Microbiol 69, 549-553.

YANG, D. C. – BLAIR, K. M. – SALAMA, N. R. 2016. Staying in shape: the impact of cell shape on bacterial survival in diverse environments. Microbiol Mol Biol Rev 80, 187-203.

YARZA, P. a kol. 2014. Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. Nat Rev Microbiol 12, 635-645.

YEE, B. a kol. 2007. A canonical FtsZ protein in *Verrucomicrobium spinosum*, a member of the bacterial phylum Verrucomicrobia that also includes tubulin-producing *Prosthecobacter* species. BMC Evol Biol 7, 37.

YEN, M. R. a kol. 2002. Protein-translocating outer membrane porins of Gram-negative bacteria. Biochim Biophys Acta 1562, 6-31.

YURKOV, V. 2006. Aerobic phototrophic Proteobacteria. In Dworkin M. a kol. (eds.), The prokaryotes. A Handbook on the biology of bacteria. 3rd edition. New York: Springer, 562-584.

YURKOV, V. – HUGHES, E. 2017. Aerobic anoxygenic phototrophs: four decades of mystery. In Hallenbeck P. C. (ed.), Modern topics in the phototrophic prokaryotes: environmental and applied aspects. Berlín: Springer. 193-214.

YUTIN, N. – KOONIN, E. V. 2012. Archaeal origin of tubulins. Biol Direct 7, 10.

ZHANG, X. – NORRIS, D. E. – RASGON, J. L. 2011. Distribution and molecular characterization of *Wolbachia endosymbionts* and filarial nematodes in Maryland populations of the lone star tick (*Amblyomma americanum*). Microbiol Ecol 77, 50-56.

ZUBER, B. a kol. 2006. Granular layer in the periplasmic space of Gram-positive bacteria and fine structures of *Enterococcus gallinarum* and *Streptococcus gordonii* septa revealed by cryo-electron microscopy of vitreous sections. J Bacteriol 188, 6652-6660.

16 PATOGÉNNE BAKTÉRIE

Alexandra Lukáčová, Matej Vesteg

Patogény sú **organizmy schopné infikovať hostiteľa a vyvolať u neho ochorenie**, prípadne spôsobiť až jeho smrť. Patogénmi sú prakticky všetky vírusy (viď kapitola 14). Veľkú skupinu patogénov predstavujú aj mikroskopické (viď kapitoly 23-27) a makroskopické eukaryoty patriace do rôznych fylogenetických línií. Doposiaľ nebol objavený žiadny jednoznačne patogénny archeón. Medzi baktériami však nájdeme obrovské množstvo patogénov.

Patogenita je **schopnosť patogénov poškodzovať hostiteľa** (Casadevall a Pirofski, 1999). **Virulencia**, stupeň patogenity, je číselne **vyjadrená počtom prípadov infekčného ochorenia vo vzťahu k celkovému množstvu infikovaných jedincov** (Barreto a kol., 2006). Táto kvantitatívna veličina súvisí s **infekčnou dávkou**, ktorá je **definovaná počtom jednotiek infekčného agens nevyhnutných pre vyvolanie infekčného ochorenia u hostiteľa** (Barreto a kol., 2006). **Časový interval medzi efektívnym kontaktom hostiteľského organizmu s infekčným agens a nástupom príznakov, ako aj klinických symptómov infekčného ochorenia u daného hostiteľa** sa nazýva **inkubačná doba** (Barreto a kol., 2006). **Virulenciu podmieňujú** tri základné vlastnosti patogénu – **kontagiozita** (schopnosť prenosu, nákazlivosť), **invazivita** (schopnosť priľnutia na povrchy, prieniku, množenia a šírenia sa) a **toxicita** (schopnosť poškodzovania hostiteľských buniek toxínmi). **Na základe stupňa patogenity rozdeľujeme baktérie do troch základných skupín:**

1) **obligátne (primárne) patogénne baktérie** – **vyvolávajú ochorenia u zdravých jedincov s funkčným imunitným systémov** (napr. *Mycobacterium tuberculosis*, *Yersinia pestis*, viaceré druhy rodov *Chlamydia*, *Salmonella*, *Neisseria*, *Nocardia*, *Brucella*, *Mycobacterium* a *Legionella*),
2) **oportúnne (fakultatívne) patogénne baktérie** – **väčšinou nespôsobujú ochorenia**, **ale môžu ich vyvolať**, najmä **u jedincov s narušeným** (resp. oslabeným) **imunitným systémom**, tzv. imunokompromitovaných hostiteľov (u ľudí napr. *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Mycobacterium avium*),
3) **nepatogénne baktérie** – najpočetnejšia skupina baktérií, ktoré u ľudských (napr. *Actinomyces viscosus*, viaceré druhy rodu *Lactobacillus* ako napr. *L. acidophilus*, *L. iners*, *L. crispatus* a *L. jensenii*), živočíšnych a rastlinných hostiteľov (napr. *Sinorhizobium meliloti*) **nevyvolávajú ochorenia**.

K prenosu patogénnych baktérií, ale aj iných **patogénov** dochádza **priamym kontaktom infikovaných jedincov** alebo **nepriamo prostredníctvom vektora** (napr. článkonožca), **prechodného** rastlinného alebo zvieracieho **hostiteľa**, ako aj **kontaminovaným neživým prostredím** (napr. vzduchom, vodou, pôdou, potravinami alebo predmetmi) (Last, 1988). **Prenos vodou a potravinami** označujeme ako prenos tzv. **alimentárnou cestou**. **Prenos ochorenia pomocou živočíchov** môže byť **aktívny** (napr. pomocou kliešťov, bĺch alebo komárov) alebo **pasívny** (napr. pomocou múch alebo hlodavcov).

Infekcia je podmienená vstupom patogénu do hostiteľského organizmu a následným množením v hostiteľovi. Na hostiteľskom organizme sa choroba nemusí prejaviť (tzv.

inaparentný priebeh bez príznakov a symptómov) (Barreto a kol., 2006). Pokiaľ je infekcia sprevádzaná klinickými príznakmi, hovoríme o infekčnom ochorení.

Infekčné ochorenia alebo infekcie zvierat prirodzene prenosné medzi ľudmi a zvieratami (najčastejšie stavovcami) sa označujú ako **antropozoonózy**. **Prenos zo zvierat na človeka** sa označuje **ako zoonóza** a prenos **z človeka na zvieratá** ako **antroponóza** („World Health Organization" – WHO, 2005). Medzi **zoonotické infekčné ochorenia vyvolané patogénnymi baktériami** patria napr. antrax, botulizmus, brucelóza, mor, leptospiróza, riketsióza, cholera a mor (Klement a kol., 2011). Medzi infekčné ochorenia alebo infekcie prenosné výhradne medzi ľuďmi patria napr. pertussis (čierny kašeľ), dyzentéria spôsobená bacilmi, paratýfus a týfus.

Patogénne baktérie poškodzujú tkanivá hostiteľa a negatívne zasahujú do ich funkcie. V prípade priameho poškodzovania atakujú patogény hostiteľské bunky, ktoré využívajú ako zdroj energie a produkujú odpadové látky (Tortora a kol., 2016). Príkladom je *Streptococcus mutans* nachádzajúci sa v zubnom povlaku, ktorý pri štiepení cukrov produkuje kyslé odpadové produkty. Tie odvápňujú zubnú sklovinu, čo vedie k tvorbe zubných kazov (Nash a kol., 2015). Väčšina prípadov priameho poškodenia buniek hostiteľa baktériami je spôsobená účinkom baktériových toxických látok – endotoxínov a exotoxínov (Tortora a kol., 2016). Exotoxíny sú látky produkované baktériami do okolitého prostredia, prípadne sa uvoľňujú lýzou patogénnych buniek po deštrukcii baktériovej bunkovej steny. Endotoxíny sú lipidové časti lipopolysacharidov, ktoré predstavujú základnú zložku vonkajšej biologickej membrány Gram-negatívnych baktérií. Uvoľňujú sa po rozpade baktériovej bunkovej steny, čo vysvetľuje počiatočné zhoršenie symptómov infekčného ochorenia vyvolaného Gram-negatívnymi baktériami po nasadení niektorých typov antibiotík (viď kapitola 17). K nepriamemu poškodzovaniu buniek hostiteľa dochádza tiež vplyvom nadmernej neadekvátnej imunitnej odpovede infikovaného hostiteľského organizmu vyvolanej patogénnymi baktériami.

Infekčné ochorenia sa môžu vyskytovať **ojedinele** – **sporadicky** (napr. botulizmus, toxoplazmóza, infekcie vyvolané baktériou *E. coli*, meningitída, leptospiróza a antrax), prípadne **hromadne** – **epidemicky**. **Náhly hromadný výskyt infekčného ochorenia spojený s jeho rapídnym šírením v určitom čase a na určitom mieste** je označovaný ako **epidémia**. Medzi epidemické ochorenia šíriace patria napr. meningokokové infekcie, cholera alebo vírusové ochorenia ako chrípka a hepatitída A (žltačka typu A). **Epidémia, ktorá zahŕňa geograficky rozsiahle územia**, kontinenty, prípadne až celý svet sa nazýva **pandémia**. Jednou z historicky najznámejších pandémií bola pandémia moru v polovici 14. Storočia, ktorá postihla takmer celú Európu a Áziu. Na druhej strane niektoré infekčné ochorenia majú len tzv. **endemický výskyt – vyskytujú sa len na určitom mieste**. **Endémia** je typická pre ochorenia spôsobené baktériami ako napr. brušný týfus a paratýfus, ale aj vírusmi ako napr. ovčie kiahne alebo kliešťová encefalitída. Medzi časté **exotické infekčné ochorenia**, ktoré sú **viazané na oblasti trópov a subtrópov**, patria najmä hnačkové ochorenia, vírusové hepatitídy (A a E) a parazitózy (napr. schistozomiázy). Tzv. „cestovateľské" hnačky vyvolávajú baktérie (napr. enterotoxické *E. coli*, *Shigela dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. sonei*, *Campylobacter jejuni* a *Vibrio cholerae*), vírusy (napr. rotavírusy, adenovírusy a u detí astrovírusy) a prvoky (napr. *Giardia lamblia* a *Entamoeba histolytica*) (Šišková, 2006).

Jednou z najefektívnejších metód prevencie proti infekčným ochoreniam je **vakcinácia** (United States National Institute of Allergy and Infectious Diseases – NIAID, 2011). **Vakcína** (**očkovacia látka**) je biologický preparát, ktorý po aplikácii do organizmu podmieni aktívnu získanú imunitu voči konkrétnej chorobe. Očkovacia látka **spravidla obsahuje oslabenú alebo mŕtvu formu mikróbu**, **jeho toxíny v malej koncentrácii, prípadne jeden z jeho povrchových proteínov**. Vakcína podaná jedincovi počas vakcinácie (tzv. imunizácie, očkovania) nevyvolá ochorenie, ale stimuluje jeho slabú imunitnú odpoveď

bez klinických symptómov. Imunitný systém si tak cudzorodý mikroorganizmus „zapamätá“, čo pri opätovnom stretnutí s ním vedie k rýchlemu rozpoznaniu patogénu, nástupu imunitnej odpovede a likvidácii patogénu. Informácie týkajúce sa povinnej vakcinácie slovenských občanov sú každoročne zverejňované Úradom verejného zdravotníctva Slovenskej republiky (ÚVZ SR) v podobe očkovacieho kalendára. Medzi ochorenia vyvolané baktériami, proti ktorým je v súčasnosti u nás povinné očkovanie, patria différia (tzv. záškrt), tetanus, pertussis a hemofilové a pneumokokové invázne nákazy.

16.1 Patogénne α-proteobaktérie

16.1.1 Patogénne Rhizobiales

16.1.1.1 *Brucella* spp.

Gram-negatívne α-proteobaktérie rodu *Brucella* (Brucellaceae) (Ryan a Ray, 2004) sú **nemotilné** (nepohyblivé) (Ferooz a Letesson, 2012), **fakultatívne intracelulárne** (vnútrobunkové) **kokobacily bez kapsuly**. Patogénne druhy sú **pôvodcami zoonotického ochorenia brucelózy**. Rod *Brucella* bol pomenovaný po škótskom mikrobiológovi a patológovi Davidovi Bruceovi, ktorý ako prvý v roku 1887 popísal infekčné ochorenie maltskú horúčku u britských vojakov slúžiacich na ostrove Malta (Mantur a kol., 2007). **K infekcii** môže dôjsť **konzumáciou kontaminovaných potravín** (nepasterizované mliečne výrobky, tepelne neupravené mäso a pod.), **vdychovaním kontaminovaného aerosólu, kontaktom s infikovaným zvieraťom** a zriedkavo aj s chorým ľudským jedincom. Prenos patogénnych baktérií z matky na plod, prípadne pohlavným stykom je ojedinelý. **Symptómy ochorenia sú podobné príznakom chrípky** – celková slabosť, potenie, teplota, bolesť hlavy a bolesť v oblasti krížov. V prípade závažnejšieho priebehu infekcie dochádza k postihnutiu centrálneho nervového systému a srdcovo-cievneho systému (Klement a kol., 2011). Medzi **ľudské patogény rodu *Brucella*** patria ***B. melitensis*** (rezervoárom sú kozy a ovce), ***B. abortus*** (rezervoárom je dobytok, bizóny, byvoly), ***B. suis*** (rezervoárom sú ošípané) a ***B. canis*** (rezervoárom je pes) (Cosford, 2018). *B. neotomae*, patogénna baktéria hlodavcov (Cosford, 2018) a *B. ovis*, patogén oviec, u ľudí nespôsobujú infekčné ochorenia (Klement a kol., 2011). Patogénne druhy rodu *Brucella* sú zaradené federálnou agentúrou „The Centers for Disease Control and Prevention“ (CDC) medzi biologické zbrane potenciálne využiteľné teroristami (CDC, 2018).

16.1.1.2 *Bartonella* spp.

Do rodu ***Bartonella*** čeľade Bartonellaceae patria **fakultatívne intracelulárne, oportúnne patogénne Gram-negatívne α-proteobaktérie**, ktoré sú **zvyčajne prenášané** nepriamo **prostredníctvom** vektorov – kliešťov, komárov, múch a iných **článkonožcov**. Po vpichnutí baktérie infikujú endotelové bunky cicavcov, vrátane človeka, neskôr preniknú do krvi a napádajú krvné bunky, najmä erytrocyty, v ktorých sa aktívne množia. Infekčné ochorenie spôsobené patogénom rodu *Bartonella* sa nazýva **bartonelóza** (Maguiña

a Gotuzzo, 2000). Najznámmejšími patogénnymi baktériami tohto rodu sú napr. *B. bacilliformis, B. quintana, B. henselae, B. elizabethae* a *B. washoensis*.

B. bacilliformis je **pôvodcom Carrionovej choroby** (resp. horúčky Oroya) vyskytujúcej sa v tropických oblastiach Južnej Ameriky. Ochorenie sa môže vyskytovať v dvoch fázach – akútnej septickej (postihujúcej červené krvinky) a chronickej eruptívnej fáze spojenej so vznikom kožných lézií (tzv. „peruánske bradavice"). ***B. quintana***, pôvodne známa ako *Rochalimaea quintana*, prípadne *Rickettsia quintana*, je **pôvodcom** tzv. **zákopovej horúčky** (z angl. trench fever), ktorou trpeli mnohí vojaci počas 1. svetovej vojny. Rezervoárom patogénnej baktérie je voš šatová (*Pediculum humanus var. corporis*) (Klement a kol., 2011).

B. henselae, pôvodne známa ako *Rochalimaea henselae*, spôsobuje **chorobu mačacieho škrabnutia** (z angl. „cat-scratch disease", CSD). **Rezervoárom** tejto patogénnej baktérie sú **mačky**. Až približne 90% infikovaných jedincov bolo krátko pred nástupom príznakov v kontakte s mačkou. Medzi typické symptómy ochorenia patrí najmä regionálne **zväčšenie lymfatických uzlín** v oblasti podpazušia, slabín, na hlave a šiji, ako aj nepokoj, strata chuti do jedla a bolesti svalov. V zriedkavých prípadoch môže ochorenie viesť až k meningitíde (zápal blán pokrývajúcich mozog a miechu), neuroretinitíde (zápal očnej papily zrakového nervu a sietnice), encefalitíde (zápal mozgu a mozgových blán), ako aj k ďalším závažným príznakom.

Patogénna baktéria *B. elizabethae* môže byť pôvodcom endokarditídy (infekcie endokardu, vrstvy vystielajúcej srdcové predsiene a chlopne). Rezervoárom tohto patogénu je potkan. *B. washoensis*, ktorej rezervoárom je veverička, môže spôsobovať myokarditídu (zápal myokardu, srdcového svalu), ako aj ďalšie ochorenia (Jacomo a kol., 2002; Zeaiter a kol., 2002; Maco a kol., 2004).

16.1.1.3 *Agrobacterium* spp.

Patogény rodu ***Agrobacterium*** (Rhizobiaceae) sú motilné **Gram-negatívne α-proteobaktérie**, ktoré **u rastlinných hostiteľských organizmov vyvolávajú** zmenou hladiny rastlinných hormónov tvorbu **nádorového ochorenia**. O štúdium týchto mikroorganizmov sa do veľkej miery zaslúžil americký pedagóg a bakteriológ H. J. Conn, ktorý sa okrem iného venoval aj indukcii rastlinného nádorového ochorenia pomocou **horizontálneho génového transferu medzi agrobaktériou a rastlinným hostiteľom**. Počas tohto procesu je **do rastlinnej hostiteľskej bunky** konjugáciou **prenesený segment DNA** (T-DNA = transfer DNA) pochádzajúci **z tumor** (nádor) **indukujúceho** (Ti, z angl. „tumor inducing") **plazmidu** patogénnej agrobaktérie. Zabudovaním segmentu T-DNA do DNA rastliny dochádza ku tvorbe nádorov. Vzhľadom na prirodzenú schopnosť niektorých druhov rodu *Agrobacterium* prenášať genetickú informáciu našli **využitie v oblasti rastlinného génového inžinierstva**. Najčastejšie študovaným a biotechnologicky využívaným zástupcom rodu je ***A. tumefaciens***. Ďalšími významnými patogénnymi agrobaktériami sú napr. aj *A. rhizogenes, A. rubi* a *A. vitis*. Posledný menovaný druh je obmedzený prevažne na vinič. Aj napriek tomu, že patogénne agrobaktérie vyvolávajú ochorenia hlavne u rastlinných hostiteľov, môžu byť pôvodcami oportúnnych infekcií ľudských jedincov s oslabeným imunitným systémom (Dunne a kol., 1993; Hulse a kol., 1993).

16.1.2 Patogénne Rickettsiales

16.1.2.1 *Rickettsia* a *Orientia* spp.

Do rodu ***Rickettsia*** (Rickettsiaceae) patria malé **nemotilné, Gram-negatívne, pleomorfné** (s rôznorodou morfológiou, mnohotvárne) **α-proteobaktérie**, ktoré **netvoria spóry**. Rod bol pomenovaný na počesť priekopníckej práce amerického patológa Howarda Taylora Rickettsa venovanej kliešťami prenášanému ochoreniu – škvrnitej horúčke (Weiss a Strauss, 1991). Tieto baktérie patria medzi **obligátne intracelulárne (vnútrobunkové) parazity**. Ich životný cyklus je viazaný na hostiteľské, spravidla vaskulárne endotelové bunky (Walker, 1996). **Prenos** týchto patogénnych baktérií je **sprostredkovaný článkonožcami**, ako sú kliešte, blchy, vši, muchy a roztoče (Perlman a kol., 2006). Druhy rodu *Rickettsia* **môžu spôsobovať rôzne typy škvrnitej horúčky** (z angl. „the spotted fever“) **alebo symptómy podobné týfusu** (Anstead a Chilton, 2013). Niektoré druhy pôvodne radené medzi rod *Rickettsia* spôsobujúce tzv. „scrub typhus“ boli na základe fylogenetických analýz reklasifikované ako samostatný rod *Orientia* (Anstead a Chilton, 2013).

Príkladmi zástupcov rodu *Rickettsia* sú: *R. rickettsii* – pôvodca horúčky Skalistých hôr vyskytujúcej sa najmä na západnej pologuli; *R. akari* – pôvodca rikettsiových kiahní rozšírených v USA a v bývalom Sovietskom zväze; *R. conorii* – pôvodca Boutonnovej horúčky vyskytujúcej sa v krajinách v oblasti Stredozemného mora, v Afrike, Indii a juhozápadnej Ázii; *R. felis* – pôvodca škvrnitej horúčky prenosnej blchami rozšírenej v oblastiach Južnej a Severnej Ameriky, Austrálie a v južnej Európe; *R. australis* – pôvodca austrálskeho kliešťového týfusu; *R. sibirica* – pôvodca sibírskeho kliešťového týfusu na Sibíri, v Mongolsku a Číne; *R. africae* – prenášaná kliešťami, spôsobujúca africkú horúčku v oblastiach Južnej Afriky; *R. japonica* – pôvodca orientálnej škvrnitej horúčky v Japonsku; *R. typhi* – pôvodca tzv. myšieho týfusu; *R. prowazekii* – spôsobujúca epidemický týfus v oblastiach Južnej Ameriky a Afriky, prípadne sporadický týfus na území USA.

Do rodu *Orientia* patrí *O. chuto* a *R. tsutsugamushi*, v súčasnosti známa ako *Orientia tsutsugamushi*, ktoré u ľudských hostiteľov spôsobujú ochorenie podobné týfusu, tzv. „scrub typhus“ (Izzard a kol., 2010).

16.1.2.2 *Anaplazma* a *Ehrlichia* spp.

Príkladom patogénnych baktérií rodov *Ehrlichia* a *Anaplazma* skupiny, resp. čeľade Anaplasmataceae sú *E. chaffeensi*, ktorá napáda monocyty ľudského hostiteľa (ľudská monocytová ehrlichióza) (Schutze a kol., 2007), *E. ewingii* a *A. phagocytophilum* napádajúce granulocyty ľudského hostiteľa (ľudská granulocytová ehrlichióza a ľudská granulocytová anaplazmóza) (Bakken a Dumler, 2015) a *E. canis*, pôvodca ehrlichiózy prevažne u psov.

16.2 Patogénne β-proteobaktérie

16.2.1 *Neisseria* spp.

Rod ***Neisseria*** (Neisseriaceae) bol pomenovaný podľa nemeckého bakteriológa Alberta Neissera, ktorý v roku 1879 objavil patogénnu baktériu ***Neisseriu gonorrhoeae***,

známu aj pod termínom **gonokok** (O´Donnell a Gelone, 2009). Tento **nesporulujúci Gram-negatívny obligátne aeróbny diplokok** je schopný trhaného pohybu po povrchoch pomocou vláskovitých filamentov nazývaných pilusy (pili) skupiny IV**.** U ľudí vyvoláva **sexuálne prenosné ochorenie kvapavku** (Ryan a Ray, 2004). Prenos je možný vaginálnym, análnym aj orálnym sexuálnym stykom. Medzi typické symptómy patrí **u mužov hnisavý výtok z močovej trubice penisu, bolestivé a časté močenie, ako aj bolesť semenníkov**. **U žien** sú častými prejavmi ochorenia najmä **vaginálny výtok, bolesť pri močení, krvácanie mimo periódy, bolesť v podbrušku a počas pohlavného styku**. Neliečené ochorenie sa často rozširuje do vnútorných orgánov a spôsobuje zápal srdcových chlopní, kĺbov (septická artritída), ako aj vážne infekcie reprodukčných orgánov, ktoré u žien môžu viesť až k strate plodnosti (Levinson, 2014). V prípade infikovaných tehotných žien hrozí počas pôrodu vysoké riziko prenosu patogénu na dieťa (Sadowska-Przytocka a kol., 2016). Diagnostika sa realizuje napr. vyšetrením vzorky moču využitím laboratórnych metód ako kultivácia, mikrobiologické farbenie a molekulová identifikácia pomocou PCR (z angl. „polymerase chain reaction“, polymerázová reťazová reakcia) (Ng a Martin, 2005). Vhodná prevencia proti väčšine sexuálne prenosných ochorení je bariérová ochrana (napr. kondóm) a udržiavanie vzájomne monogamného vzťahu (CDC, 2017c).

Ďalším zástupcom rodu *Neisseria* je ***N. meningitidis***, známa tiež ako **meningokok**. Patrí medzi **patogénne Gram-negatívne β-proteobaktérie s tendenciou tvorby diplokokov**. **Ide výlučne o ľudského patogéna**, ktorý sa prirodzene vyskytuje v nosohltane u približne 10% dospelej populácie (Hitchcock a kol., 1993). Je pôvodcom meningitídy (zápalu mozgových blán), prípadne septikémie (viď nižšie). Na epiteliálne bunky nosohltanu hostiteľa sa prichytáva pomocou fimbrií (pilusov). Primárne **symptómy meningitídy** sú podobné ako v prípade ochorení spôsobených baktériami *Streptococcus pneumoniae* alebo *Haemophilus influenzae*, s ktorými je infekcia často zamieňaná. **Spočiatku mierne** všeobecné **symptómy** ako **únava, teplota a bolesti hlavy prechádzajú v približne 10% prípadov do kómy končiacej smrťou** infikovaného jedinca (Pollard a Maiden, 2001). **Prenos** je sprostredkovaný **dýchacími sekrétmi** vylučovanými infikovaným jedincom do ovzdušia počas kašľu, kýchania, rozprávania **a slinami**, napr. pri bozkávaní, vodou a pod. Štandardná diagnostika sa zabezpečuje odberom sterilnej telesnej tekutiny (cerebrospinálneho moku alebo krvi), z ktorej je patogén izolovaný a kultivovaný na vhodnom type živnej pôdy (čokoládový agar, Thayer-Martinov agar). Infekčné ochorenie je potvrdené v prípade rozrastenia patogénnej baktérie na zvolenom živom médiu (Ryan a Ray, 2004). Okrem kultivácie je pri diagnostike využívaná aj metóda PCR. Jednotlivé kmene (sérovary, resp. sérotypy) *N. meningitidis* sa líšia antigénmi ich povrchovej polysacharidovej kapsuly (viď. kapitola 15) (CDC, 2015a). Celosvetovo je väčšina prípadov meningitídy vyvolaná jedným zo šiestich sérovarov, resp. sérotypov (A, B, C, W-135, X a Y) z 13 dodnes identifikovaných sérotypov tejto patogénnej baktérie (Harrison, 2010). V súčasnosti je prevenciou proti meningokokovým infekciám séroskupiny A,B,C,Y a W-135 vakcinácia. Účinnosť vakcín je približne 85 až 100%, a to aspoň počas dvoch rokov (Patel a Lee, 2005).

N. meningitidis spôsobuje aj **ochorenie** nazývané **septikémia** (sepsa, septický stav, **„otrava“ krvi**, život ohrozujúci stav s poruchou funkcie orgánov, vyvolaný neprimeranou reakciou organizmu na infekciu), ktorému je však venovaná oveľa menšia pozornosť ako meningitíde, a to aj napriek tomu, že ide o infekčné ochorenie spájané s úmrtím dojčiat. Varovným príznakom infekcie krvi je **vznik purpurovej vyrážky**, ktorá nestráca sfarbenie ani po pritlačení sklom (angl. „non-blanching rush“). Približne v **polovici prípadov končí infekcia v priebehu niekoľkých hodín od nástupu smrťou jedinca** (Pollard a Maiden, 2001).

16.2.2 *Bordetella* spp.

Kokobacil ***Bordetella pertussis*** je **Gram-negatívna, striktne aeróbna β-proteobaktéria** zo skupiny (čeľade) Alcaligenaceae **kolonizujúca riasinkový epitel dýchacích ciest**. Spôsobuje zápal až nekrózu (odumieranie buniek) sliznice, čím dochádza k podráždeniu receptorov kašľu, ktorý je typickým symptómom ochorenia **pertussis**, známeho aj ako **čierny kašeľ**. Prichytenie patogénu na sliznicu priedušiek a priedušnice zabezpečujú proteíny nazývané adhezíny ako napr. „pertussis“ toxín a hemaglutinín. Vplyvom toxínu je vyvolaná zvýšená produkcia hlienu, ktorý je vykašliavaný počas paroxyzmálneho štádia (viď nižšie). Podobné symptómy s miernejším priebehom môžu byť pozorované aj pri infekčných ochoreniach vyvolaných ďalšími patogénmi rodu *Bordetella* ako *B. parapertussis*, *B. holmesii* a B. *bronchiseptica* (Mattoo a Cherry, 2005).

Klinický priebeh čierneho kašľa má štyri štádiá (Hučková a kol., 2009). **Prvé inkubačné štádium** trvá približne **6 až 20 dní**. **Nasledujúca katarálna fáza** sa prejavuje podobne ako v prípade zápalu horných dýchacích ciest **suchým dráždivým kašľom, nádchou, slzením, zvýšenou telesnou teplotou** a pod. Infikovaný jedinec, u ktorého spravidla nie je na základe uvedených symptómov diagnostikované ochorenie, predstavuje zvýšené epidemiologické riziko. Pre **tretie paroxyzmálne štádium** trvajúce približne jeden až štyri týždne je typický **dráždivý záchvatový kašeľ často sprevádzaný vykašliavaním hlienu až zvracaním**. Záchvaty sa denne opakujú, čo má za následok značné vyčerpanie postihnutého. **Posledná je rekonvalescenčná fáza**, počas ktorej **klesá intenzita a frekvencia kašľa**. Na druhej strane môže dôjsť ku komplikáciám vyskytujúcich sa najmä u mladších detí ako opakované zvracanie, pneumónie, baktériové a vírusové infekcie, kŕče a ďalšie. Prameňom nákazy je infikovaný jedinec, pričom **ochorenie sa prenáša infekčným aerosólom** (Hučková a kol., 2009). Laboratórna diagnostika ochorenia môže byť realizovaná kultiváciou, avšak ide o metódu málo citlivú pre staršie deti, mladistvých, dospelých liečených antibiotikami, prípadne pre infikovaných jedincov s kašľom pretrvávajúcim viac ako tri týždne. V súčasnosti je pri identifikácii patogénu využívaná aj metóda PCR a sérologické vyšetrenia prostredníctvom analytickej metódy ELISA (z angl. „Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay“), ktoré spočíva v kvantitatívnom stanovení antigénov alebo protilátok v testovanej vzorke. **Na Slovensku je vakcinácia proti pertussis povinná**. Od roku 2006 je používaná acelulárna (nebunková) vakcína obsahujúca čistené časti inaktívnych baktérií. Očkovacia látka sa aplikuje intramuskulárne (do svalu).

16.3 Patogénne γ-proteobaktérie

16.3.1 Patogénne Enterobacteriales

16.3.1.1 *Shigella* spp.

Baktérie rodu ***Shigella*** boli prvýkrát úspešne izolované a identifikované v roku 1989 japonským mikrobiológom Kiyoshi Shigom (Yabuuchi, 2002). Ide o **fakultatívne aeróbne, Gram-negatívne, nepohyblivé, tyčinkovité γ-proteobaktérie**, geneticky príbuzné modelovej baktérii *Escherichia coli*, ktoré **netvoria spóry**. Zaraďujú sa do skupiny (resp. čeľade) Enterobacteriaceae. Druhy rodu *Shigella* sa rozdeľujú do skupín – A, B, C a D. Do skupiny A patrí *S. dysenteriae* s 15 rôznymi sérotypmi (Ansaruzzaman a kol., 1995), skupinu

B reprezentuje *S. flexneri* so 6 sérotypmi, skupinu C *S. boydii* s 19 sérotypmi (Yang a kol., 1990) a skupinu D *S. sonnei* s jedným známym sérotypom. Zástupcovia skupiny A, B a C sú fyziologicky podobní (Hale a Keusch, 1996). Patogénne druhy rodu *Shigella* patria do skupín A, B a D.

S. flexneri je v rozvojových krajinách najčastejším **pôvodcom infekčných ochorení – šigelóz**, ktoré sa prejavujú **hnačkami s prímesou hlienu alebo krvi** sprevádzanými najmä **bolesťami brucha, horúčkami, zvracaním, tenezmami** (bolestivým nutkaním na stolicu) a inými symptómami. V rozvinutých krajinách je ich pôvodcom spravidla ***S. sonnei*** (WHO, 2006).

S. dysenteriae je patogénna baktéria **spôsobujúca hnačky a epidémie vysoko nákazlivého infekčného ochorenia** – **dyzentérie** (tzv. **bacilárnej úplavice**). Dyzentéria známa aj ako „choroba špinavých rúk“ – **je prenášaná fekálno-orálnou cestou, priamym kontaktom s chorým jedincom, rekonvalescentným nosičom alebo kontaminovaným predmetom**. Nízka infekčná dávka umožňuje rýchle a efektívne šírenie pôvodcu nákazy. Patogény sa replikujú **v epitelových bunkách kolonizovaného hrubého čreva hostiteľa**, čo vedie k **postupnej deštrukcii slizničného tkaniva** a typickému patologickému prejavu ochorenia (Suzuki a Sasakawa, 2001). Medzi symptómy patria **teploty, bolesti brucha, vodnatá stolica s prítomnosťou krvi a hlienu**, ako aj **vracanie a tenezmy**. Infekcia môže prebiehať aj bez klinických príznakov, len s miernou kolitídou (zápal hrubého čreva).

Niektoré kmene druhov rodu *Shigella* **produkujú enterotoxíny** (črevné toxíny) – **Shiga toxíny**, ktoré prispievajú k rozvoju ochorenia pri infekcii. Najčastejším zdrojom enterotoxínov sú baktérie *S. dysenteriae* a niektoré sérovary *E. coli* ako O157:H7 a O104:H4 (Spears a kol., 2006; Kaper a O'Brien, 2014). Kmene *S. flexneri* produkujú enterotoxíny nazývané ShET1 a ShET2 (Hale a Keusch, 1996).

16.3.1.2 *Salmonella* spp.

Medzi zástupcov rodu ***Salmonella*** patria **tyčinkovité, fakultatívne anaeróbne, Gram-negatívne, prevažne pohyblivé γ-proteobaktérie** s peritrichálnymi bičíkmi (Fàbrega a Vila, 2013), ktoré sú geneticky príbuzné baktérii *Escherichia coli*. Prvýkrát bol patogén taxónu *Salmonella* izolovaný v roku 1880 Karlom Eberthom zo slezín pacientov infikovaných týfusom. Tieto baktérie zo skupiny (čeľade) Enterobacteriaceae (Eberth, 1880) sú prevažne **intracelulárne** patogény (Jantsch a kol., 2011). **Nevytvárajú spóry** a ich optimálna teplota rastu je 37 °C. Patogénne baktérie je možné zahubiť sterilizáciou UV žiarením, ale aj zahrievaním pri teplote 55 ˚C počas 90 minút, prípadne pri 60 ˚C približne 12 minút (Goodfellow a Brown, 1978). Odporúčaná prevencia pred infekciou je tepelná úprava potravín pri teplote 75 ˚C minimálne po dobu 10 minút.

Rod *Salmonella* reprezentujú dva druhy – ***Salmonella bongori***, ktorej **hostiteľmi** sú spravidla studenokrvné živočíchy, **najmä plazy** (Tortora a kol., 2016) a ***Salmonella enterica*** vyskytujúca sa **voľne v prostredí a u teplokrvných živočíchov**. *S. enterica* sa rozdeľuje na šesť poddruhov (Su a Chiu, 2007) – *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *houtenae*, *S. enterica* subsp. *indica*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *salamae* a *S. enterica* subsp. *arizonae* (Brenner a kol., 2000; Gillespie a Hawkey, 2006). Poddruhy zahŕňajú až vyše 2600 rôznych sérovarov (Gal-Mor a kol., 2014).

Niektoré sérovary salmonel ***Salmonella enterica* subsp. *enterica*** sú striktne adaptované na konkrétneho hostiteľa ako napr. ***S. enterica* subsp. *enterica* sérovary (sérotypy) Typhi a Paratyphi na ľudského jedinca**, *S. enterica* subsp. *enterica* sérovar Suis (skrátene *Salmonella* Suis) na ošípané, *Salmonella* Dublin na dobytok alebo *Salmonella*

Gallinarum na hydinu. **Sérovary** môžeme všeobecne rozdeliť do dvoch hlavných skupín – **tyfoidné a netyfoidné**. Častejšie vyskytujúce sa **zoonotické netyfoidné sérovary vyvolávajú u ľudí a zvierat predovšetkým gastrointestinálne infekčné ochorenie – salmonelózu**.

Tyfoidné sérovary *S. enterica* subsp. *enterica* sú u ľudí a vyšších primátov pôvodcami infekčných ochorení – **brušný týfus** (*Salmonella* Typhi) **a paratýfus** (*Salmonella* Paratyphi A, B, C*)*. K väčšine infekcií dochádza **skonzumovaním patogénnych baktérií nachádzajúcich sa v potravinách kontaminovaných ľudskými alebo zvieracími výkalmi**.

Brušný týfus je **smrteľné črevné ochorenie človeka** spôsobené patogénnou **baktériou *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Typhi** (CDC, 2013b). V systémovej forme infekcie prechádzajú patogény **cez lymfatický systém čreva do krvi**, ktorou sa šíria **do rôznych orgánov** (obličky, slezina, pečeň), kde v rámci septickej formy infekcie tvoria **sekundárne ložiská**. Baktériové **endotoxíny** negatívne pôsobia na cievny a nervový systém postihnutého hostiteľa, čo spôsobuje **pokles tonusu** (napätia) **a permeability** (priepustnosti) **ciev**, ako aj **poruchy termoregulácie organizmu, zvracanie a hnačku**. V ťažkej forme ochorenia dochádza k stratám telesných tekutín a elektrolytov, narušeniu cirkulácie krvi, poklesu tlaku v cievach a vzniku hypovolemického šoku (stavu, ktorý je dôsledkom nedostatočného objemu krvi v krvnom riečisku) alebo septického šoku (stavu, ktorý je odpoveďou organizmu na ťažkú infekciu a sepsu vedúci k rozšíreniu periférnych ciev s následným náhlym poklesom tlaku). K infikovaniu hostiteľa patogénom dochádza fekálno-orálnou cestou požitím kontaminovaných potravín, ako aj pitnej vody. Inkubačná doba sa pohybuje v intervale 1- 3 týždne. Prameňom pôvodcu ochorenia sú chorí ľudskí jedinci a bacilonosiči (Eng a kol., 2015).

***Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Paratyphi A, B alebo C** je pôvodcom infekčného ochorenia **brušný paratýfus**. Na rozdiel od brušného týfusu má kratší inkubačný čas a miernejší priebeh. Patogénne **baktérie kolonizujú črevá a krv** hostiteľa. K infikovaniu spravidla dochádza **po požití kontaminovaných potravín a vody**. Zriedkavo môžu byť baktérie šírené aj pohlavným stykom. Základnými symptómami paratýfusu sú celková slabosť, nechutenstvo, bolesti hlavy, prípadne niekedy aj kožná vyrážka s ružovými škvrnami. Doposiaľ je k dispozícii iba vakcína proti týfusu. Nevyhnutnou prevenciou proti ochoreniu je pitie čistej vody a dodržiavanie správnej hygieny, najmä umývania rúk.

Zdrojom infekčného ochorenia **salmonelózy** sú predovšetkým **sliepky a iná hydina**. Ochorenie sa prenáša kontaminovanými živočíšnymi potravinami ako napr. **vajcia a mäsové výrobky**. Množstvo patogénnych baktérií, ktoré sa dostalo do gastrointestinálneho traktu, je v žalúdku usmrtených pôsobením kyseliny chlorovodíkovej. Na druhej strane istý stupeň adaptácie patogénov na prostredie s nižším stupňom pH umožňuje niektorým mikroorganizmom kyslé podmienky prežiť (Garcia-del Portillo a kol., 1993). **Prvé príznaky** infekčného ochorenia sa prejavia spravidla medzi **12 až 36 h** od kontaktu hostiteľa s patogénom (WHO, 2018a). Ide o **nevoľnosť, zvracanie, teplotu, kŕčovité bolesti v oblasti brucha a prudkú vodnatú,** často **zelenkastú stolicu**, ktoré pretrvávajú od 2-7 dní (WHO, 2018a). Odporúčanou prevenciou je dodržiavanie hygieny, požívanie čerstvých potravín a vody, správna tepelná úprava jedál a vhodné uskladňovanie potravín.

16.3.1.3 *Klebsiella* spp.

Najvýznamnejšou patogénnou baktériou rodu ***Klebsiella*** (Enterobacteriaceae) je ***K. pneumoniae***. Ide o **nepohyblivú, Gram-negatívnu, fakultatívne anaeróbnu γ-proteobaktériu tvaru tyčinky s kapsulou**. Napriek tomu, že je normálnou súčasťou mikrobioty čriev, úst a kože (Ryan a Ray, 2004), po jej vdýchnutí môže dôjsť

k deštruktívnym zmenám pľúc u zvierat a ľudí, čo vedie **k tvorbe krvavého hlienu**. V ľudských klinických vzorkách boli identifikované aj blízko príbuzné druhy *K. xytoca* a *K. rhinoscleromatis*. V posledných rokoch sú patogénne druhy rodu *Klebsiella* čoraz viac spájané s nozokomiálnymi infekciami (infekciami, ktorých vznik súvisí s pobytom osôb v zdravotníckych zariadeniach, ako sú nemocnice).

16.3.1.4 *Escherichia* spp.

Do rod ***Escherichia*** (*Enterobacteriaceae*) patria **Gram-negatívne, nesporulujúce, fakultatívne anaeróbne γ-proteobaktérie s tvarom tyčinky** (Madigan a Martinko, 2005). Taxón bol pomenovaný podľa objaviteľa modelovej baktérie *Escherichia coli* (*E. coli*) Theodora Eschericha. Motilné kmene *E. coli* majú peritrichálne usporiadanie bičíkov (Darnton a kol., 2007). **Väčšina kmeňov *E. coli*** je **nepatogénna**. Baktérie *E. coli* (napr. *E. coli* kmeň Nissle 1917, sérotyp O6:K5:H1) kolonizujú gastrointestinálny trakt (GIT) hostiteľov teplokrvných živočíchov, kde sa podieľajú na syntéze vitamínov ako B12, K1 a K2 a produkujú látky (napr. mikrocíny a kolicíny), ktoré bránia premnoženiu patogénnych mikroorganizmov. K osídleniu GIT baktériami dochádza už v prvých hodinách života novorodenca.

V priebehu evolúcie sa vyvinulo niekoľko patogénnych kmeňov baktérie *E. coli*. Ochorenia vyvolané patogénnymi *E. coli* môžu mať dve formy – intestinálnu (Intestinal Pathogenic *E. coli*, IPEC) a extraintestinálnu (Extraintestinal Pathogenic *E. coli*, ExPEC) (Lindstedt a kol., 2018). Ochorenia črevnej formy IPEC sa prejavujú hnačkami s rôznym priebehom a príznakmi určitého poškodenia brušných orgánov. K extraintestinálnym ochoreniam ExPEC patria najmä infekcie močových ciest, meningitída novorodencov a hnisavé zápaly niektorých orgánov ako napr. peritonitída (zápal pobrušnice), prípadne cholecystitída (zápal žlčníka).

Do skupiny IPEC patria okrem iných aj sérovary *E. coli* produkujúce Shiga toxín (STEC) podobný toxínu syntetizovaného baktériou *Shigella dysenteriae*. V *E. coli* sa bežne môže vyskytovať bakteriofág (resp. kryptický profág integrovaný do genómu *E. coli*) nesúci gén pre tento toxín, ktorý môže byť aktivovaný vplyvom stresových situácií (napr. podávanie antibiotík infikovanému jedincovi). K známym sérovarom STEC patria napr. O55:H7, O111:H8, O157:H7, O26, O103 a ďalšie.

Okrem *E. coli* môžu spôsobovať rôzne infekčné ochorenia aj iné druhy rodu *Escherichia* ako napr. *E. albertii*, *E. fegusonii* a *E. vulneris* (Pien a kol., 1985; Chaudhury a kol., 1999).

16.3.1.5 *Erwinia* spp.

Prevažne patogénne γ-proteobaktérie rodu ***Erwinia*** spôsobujú **ochorenia rastlín.** Rod *Erwinia* čeľade Enterobacteriaceae nesie názov po známom rastlinnom patológovi Erwinovi Frink Smithovi. Medzi patogénne druhy baktérií tohto rodu patria napr. ***E. amylovora***, pôvodca **šarlachu** jabĺk, hrušiek a iných **plodov druhov rastlín z čeľade Rosaceae** (ružovité) a ***E. tracheiphila***, spôsobujúca **vädnutie uhoriek**, ale aj ***E. aphidicola***, ktorá do roku 2003, kedy v Španielsku zapríčinila približne 50% stratu úrody plodov fazule, nevykazovala žiadne známky patogenity (Marín a kol., 2011).

Viaceré druhy rodu *Erwinia* boli presunuté do rodov *Dickeya*, *Pectobacterium* a *Brenneria* (Toth a kol., 2003). Príkladom je významná patogénna baktéria ***E. carotovora***,

v súčasnosti známa ako *Pectobacterium carotovorum*, pôvodca baktériovej mäkkej hniloby. Postihnutými rastlinami sú najmä cukrová repa, zemiaky a iná zelenina, ako aj rôzne druhy drevín. Patogénna baktéria produkuje pektolytické enzýmy, ktorých účinkom dochádza k hydrolýze polysacharidov pektínov lokalizovaných v bunkových stenách a medzibunkových priestoroch všetkých suchozemských rastlín.

16.3.1.6 *Yersinia pestis*

Yersinia pestis, v minulosti známa ako *Pasteurella pestis*, je jednou z najnebezpečnejších zoonotických patogénnych baktérií rodu *Yersinia* čeľade Yersiniaceae. Tento **nepohyblivý, Gram-negatívny, fakultatívne anaeróbny kokobacil** (Ryan a Ray, 2004), ktorý **neprodukuje spóry**, objavili v roku 1894 nezávisle od seba bakteriológovia K. Shibasaburō a A. Yersin počas morovej epidémie v Hong Kongu (Bockemühl, 1994).

Ochorenie **mor** tzv. „čierna smrť" sa vyskytuje **v troch formách – bubonickej, pľúcnej a črevnej**. **Zdrojom** pôvodcu ochorenia sú **infikované hlodavce, najmä potkany**, ale **v prípade pľúcneho morového ochorenia aj infikovaní ľudskí jedinci**. *Y. pestis* **prežíva v mŕtvolách ľudí a zvierat niekoľko týždňov až mesiacov**. **Prenos** tejto patogénnej baktérie môže byť **priamy** napr. **vdýchnutím infikovaného aerosólu, manipuláciou s infikovanými telami mŕtvych a chorých jedincov**, prípadne **nepriamy prostredníctvom bĺch**, ktoré po vpichu do ranky v koži vyvrhnú obsah žalúdka s infikovanou krvou hlodavca alebo človeka.

Príznaky bubonickej formy moru sú najmä **náhle teploty** a **zdurenie lymfatických uzlín** (tzv. **bubóny**) **v podpazuší a na slabinách**, ktoré neskôr vytvárajú bolestivé hnisajúce vredy. Úmrtnosť je pri tomto type moru vysoká. **Črevná forma** sa okrem **vysokých teplôt** vyznačuje aj **silnými hnačkami**. **Pľúcna forma** sa začína rovnako náhle ako **zápal pľúc spojený s vykašliavaním hlienu s obsahom krvi**. Úmrtnosť je pri tomto type až okolo 80 % (Mikas, 2017).

Y. pestis je vďaka relatívne nízkej infekčnej dávke vo forme aerosólu, krátkemu inkubačnému času, vysokej kontagiozite (nákazlivosti) a letalite potenciálne využiteľná ako biologická zbraň (Klement a kol., 2011; CDC, 2018). Mor sa zriedkavo sporadicky vyskytuje aj v súčasnosti. Od roku 2010 do roku 2015 bolo celosvetovo zaznamenaných 3248 prípad nakazenia sa morom, pričom 584 smrteľných (WHO, 2017a). Infekčné ochorenie je možné liečiť antibiotikami, avšak úspešnosť vyliečenia je viazaná na skorú diagnostiku a terapiu.

16.3.2 Patogénne Legionellales

16.3.2.1 *Legionella* spp.

Primárne ľudským patogénom rodu ***Legionella*** z čeľade Legionellacea je **aeróbna, Gram-negatívna, nesporulujúca γ-proteobaktéria *Legionella pneumophila* s jediným polárne umiestneným bičíkom** (Madigan a Martinko, 2005). Tento **bacil** (resp. kokobacil) **bez kapsuly** je **pôvodcom ochorenia** nazývaným **legionelóza**, ktoré môže mať **dve formy**: **pontiacka legionelóza** (horúčka) (angl. pontiac fever) – ochorenie s podobnými symptómami **ako chrípka** a **legionárska legionelóza** – ochorenie s podobnými symptómami **ako pneumónia** (zápal pľúc) (WHO, 2007). Patogenita baktérií je vo veľkej miere daná ich

schopnosťou adherovať (priľnúť) na povrch alveolárnych makrofágov, ktoré ich pohltia fagocytózou. **V makrofágoch** následne **dochádza k ich deleniu**. *L. pneumophila* je schopná napádať aj nefagocytujúce bunky hostiteľa, pričom mechanizmus infekcie je predmetom výskumu viacerých štúdií. V posledných rokoch sa dosiahol značný pokrok v identifikácii baktériových faktorov, ktoré podporujú virulenciu a nástup intracelulárnej infekcie.

Zástupcovia rodu *Legionella* sa v prostredí prirodzene vyskytujú v meňavkách (amébach) ako *Vermamoeba vermiformis, Acanthamoeba* spp. (obe zo skupiny Amoebozoa) a *Naegleria* spp. (Heterolobosoa, Excavata), ale aj v iných prvokoch ako napr. *Tetrahymena pyriformis* (Ciliata, Alveolata, SAR) (Swanson a Hammer, 2000), v ktorých sú schopné rozmnožovania. Vzhľadom na to môžu hostiteľské **améby**, označované aj ako tzv. „trójske kone“, slúžiť ako **zdroj nákazy legionelózou**.

Legionárska legionelóza je **formou atypickej pneumónie** spôsobenej baktériou *L. pneumophila*. Ochorenie sa u infikovaného jedinca prejavuje **kašľom, dýchavičnosťou, teplotou, bolesťou hlavy a svalov** (CDC, 2016a,b). Inými príznakmi sú aj **nevoľnosť, vracanie a hnačka** (Cunha a kol., 2016). Prvé symptómy nastupujú približne do 2 až 10 dní od infikovania patogénom (CDC, 2016a,b). Patogénna baktéria sa prirodzene vyskytuje vo vodnom prostredí a **môže kontaminovať zásobníky teplej vody, vodovodné siete**, ako aj chladiace veže veľkých klimatizačných jednotiek. K nákaze jedinca dochádza napr. vdychovaním kontaminovaného aerosólu. Priame šírenie infekcie medzi ľuďmi nie je bežné. U väčšiny jedincov vystavených patogénu neboli pozorované žiadne príznaky (CDC, 2016a,b). Rizikovú skupinu tvoria najmä starší ľudia, fajčiari, jedinci s chronickým ochorením pľúc a slabým imunitným systémom (CDC, 2016a,b). Ochorenie sa diagnostikuje antigénovým testom vzorky moču. Baktérií možno izolovať a identifikovať aj z hlienu produkovanom pľúcami a inými časťami dýchacej sústavy (CDC, 2016c). V súčasnosti nie je proti ochoreniu možná vakcinácia. Prevencia je viazaná na údržbu vodných systémov (CDC, 2016d).

Pontiacku legionelózu spôsobujú okrem *L. pneumophila* aj ďalšie patogénne druhy baktérií rodu *Legionella* ako *L. feeleii, L. longbeachae, L. micdadei* a *L. anisa* (Phin a kol., 2014). **Príznaky** ochorenia sú nešpecifické, **podobné chrípke** ako napr. **triaška, teploty, bolesti hlavy a celková slabosť**. Zdrojom patogénov je záhradkárska zemina a vodné systémy. K infikovaniu dochádza najmä inhaláciou kontaminovaného aerosólu, prípadne zeminy obsahujúcej baktérie (Lauri a Laurel, 2011). Toto ochorenie s krátkou inkubačnou dobou (jeden až tri dni) odznie spontánne bez liečby (Špaleková, 2010).

16.3.2.2 *Coxiella burnetii*

Významnou **obligátne intracelulárnou patogénnou baktériou** rodu ***Coxiella*** zo skupiny (čeľade) Coxiellaceae je ***C. burnetii***. Ide o **Gram-negatívneho kokobacila** vyznačujúceho sa vysokou rezistenciou voči environmentálnym stresovým faktorom ako UV žiarenie, vysoká teplota a osmotický tlak. *C. burnetii* je **pôvodcom celosvetovo rozšíreného infekčného zoonotické ochorenia – Q-horúčky** (Beare a kol., 2006). Infekcia touto baktériou len zriedkavo prebieha pomocou vektora – kliešťa (CDC, 2017d). Častejšie je infekcia výsledkom **inhalácie patogénov pochádzajúcich z výkalov, moču, mlieka a telesnými tekutinami infikovaných zvierat, ale aj konzumácie nepasterizovaných mliečnych produktov**. Zriedkavo k infikovaniu dochádza prenosom patogénu z tehotnej ženy na plod, transfúziou krvi a pohlavným stykom. Približne polovica osôb vystavených *C. burnetti* infekcii podľahne a dochádza k infekčnému ochoreniu. **Symptómy** zahŕňajú **bolesti svalov, hlavy, brucha, hrude, teplotu, celkovú slabosť, nevoľnosť, hnačku, zvracanie, neproduktívny kašeľ** (dráždivý kašeľ, pri ktorom nie je produkovaný hlien) a

stratu váhy. Ťažká forma ochorenia sa môže prejaviť aj pneumóniou a hepatitídou. Na diagnostiku je využívané napr. sérologické vyšetrenie a metóda PCR. Vysoko infekčná *C. burnetti* je potenciálne využiteľná ako biologická zbraň (Seshadri a kol., 2003; CDC, 2018).

16.3.3 Ďalšie príklady patogénnych γ-proteobaktérií

16.3.3.1 *Vibrio* spp.

Do rodu ***Vibrio*** (rad Vibrionales, čeľaď Vibrionaceae) patria **Gram-negatívne, motilné, nesporulujúce, fakultatívne anaeróbne γ-proteobaktérie** (Madigan a Martinko, 2005) **tvaru zahnutej tyčinky** (rožteka) (Ryan a Ray, 2004; Thompson a kol., 2005; Faruque a Nair, 2008), ktoré **sa vyskytujú najmä v slaných vodách**. Niektoré druhy spôsobujú infekcie spájané s konzumáciou nespracovaných morských plodov. Zástupcovia rodu *Vibrio* majú **na rozdiel od väčšiny baktérií až dva chromozómy**, pričom každý má odlišný a nezávislý počiatok replikácie (Rasmussen a kol., 2007). Medzi patogénne druhy rodu *Vibrio* patria *V. cholerae*, *V. vulnificus* a *V. parahaemolyticus*.

Pôvodcom cholery, infekčného ochorenia tenkého čreva, sú niektoré patogénne kmene baktérie ***Vibrio cholerae*** prirodzene sa vyskytujúcej v slaných a brakických vodách. **Na jednom póle bunky** tejto baktérie sa nachádza **motilný bičík a pily**. Patogén bol prvýkrát izolovaný v roku 1854 anatómom Filippom Pacinim, avšak do povedomia verejnosti sa dostal až o 30 rokov neskôr vďaka štúdiám Roberta Kocha (Howard-Jones, 1984). Výskumníci odhadujú, že táto patogénna baktéria svetovo ročne vyvolá 1,3 až 4 milióny prípadov akútneho hnačkového ochorenia cholery, pričom okolo 21 000 až 143 000 je smrteľných (WHO, 2019). Prameňom patogénu je chorý jedinec, prípadne bacilonosič, u ktorého sa príznaky ochorenia neprejavujú. **Prenos** je **sprostredkovaný** spravidla **pitnou vodou** (Faruque a Nair, 2008), ale aj **potravinami kontaminovanými ľudskými fekáliami obsahujúcimi patogénne baktérie** (WHO, 2018b). Primárne symptómy sa u infikovaných jedincov objavujú v časovom rozmedzí 12 h až 5 dní. V endemických oblastiach je spravidla väčšina prípadov asymptomatických (bez príznakov). Ak sa **príznaky** prejavia, sú prevažne mierne až stredne závažné (Howard-Jones, 1984). Len v 2% až 5% prípadov sa infekcia prejaví **bolesťami brucha, vracaním a akútnou vodnatou hnačkou** spôsobenou enterotoxínom bielkovinovej povahy, tzv. choleragénom (CTX, Ctx alebo CT), produkovaným týmto patogénom (Faruque a Nair, 2008; CDC, 2013a). V roku 2017 sa začal realizovať globálny program na kontrolu cholery s cieľom znížiť úmrtnosť o 90% (WHO, 2019). Kľúčom k úspechu by mala byť kontrola kvality vôd, sanitácie (zabezpečenia hygienických podmienok) a sledovanie procesu liečby a vakcinácie v krajinách s endemickým výskytom tohto ochorenia. Očkovacie látky proti cholere sú podávané orálne a poskytujú ochranu po dobu šiestich mesiacov (WHO, 2018c). Okrem toho zabezpečujú prevenciu aj voči iným typom hnačkových ochorení spôsobených patogénnymi kmeňmi baktérie *Escherichia coli* (WHO, 2018c). Baktéria *V. cholerae* je patogén potenciálne využiteľný ako biologická zbraň (CDC, 2018).

16.3.3.2 *Haemophilus influenzae*

Významnou patogénnou **γ-proteobaktériou** rodu ***Haemophilus*** (Pasteurellales, Pasteurellaceae) je ***H. influenzae***. Tento **Gram-negatívny, fakultatívne anaeróbny**

kokobacil bez bičíka bol prvýkrát identifikovaný v roku 1892 nemeckým lekárom a bakteriológom Richardom Pfeifferom počas pandémie chrípky (Kuhnert a Christensen, 2008). Baktéria bola považovaná za pôvodcu chrípky až do roku 1933, kedy došlo k objavu jej vírusovej podstaty. Už v roku 1930 boli známe **kmene *H. influenzae*** klasifikované do dvoch kategórií – **s kapsulou (puzdrom) a bez kapsuly** (viď kapitola 15). Na základe odlišných antigénov kapsuly bolo identifikovaných šesť kmeňov s puzdrom – a, b, c, d, e a f (Ryan a Ray, 2004). Kmene bez puzdra sa vyznačujú väčšou genetickou diverzitou ako kmene s kapsulou.

Väčšina kmeňov *H. influenzae* patrí medzi **oportúnne patogénny človeka**. Kmene **bez kapsuly** sú pôvodcami **sinusitídy** (zápalu sliznice prínosových dutín) u detí, **infekcií uší** (napr. zápal stredného ucha) a **očných infekcií** ako napr. **konjunktivitída** známa aj ako ružové oko (zápal spojoviek). *H. influenzae* **typ b (Hib) s kapsulou** je u dojčiat a detí príčinou **pneumónie** (zápalu pľúc), **epiglotitídy** (zápalu hrtanovej príklopky), **bakterémie** (prítomnosti baktérií v krvi), **meningitídy** a príležitostne aj **infekčnej artritídy** (infekčným zápalom kĺbov), prípadne **osteomyelitídy** (zápalového ochorenia kosti). Vhodnou prevenciou proti týmto ochoreniam je vakcinácia očkovacou látkou proti Hib. Vakcína neposkytuje ochranu voči iným sérovarom *H. influenzae* s kapsulou ako Hia, Hic, Hid, Hie alebo Hif (Jin a kol., 2007) ani kmeňom bez kapsuly (Slack, 1998). Na diagnostiku je využívaná kultivácia, ale najmä metóda PCR. (Kennedy a kol., 2007).

16.3.3.3 *Pseudomonas* spp.

Do rodu ***Pseudomonas*** (rad Pseudomonadales, čeľaď Pseudomonadaceae) patria **Gram-negatívne, aeróbne, nesporulujúce γ-proteobaktérie**, ktorých motilitu zabezpečuje **jeden, prípadne niekoľko bičíkov umiestnených na jednom z pólov bunky** (Krieg, 1984). **Tvar** baktérií je **paličkovitý** (tyčinkovitý). Baktérie rodu *Pseudomonas* možno pomerne jednoducho kultivovať *in vitro* (v laboratórnych podmienkach).

Medzi najlepšie preštudované druhy rodu *Pseudomonas* patrí ***P. aeruginosa***. Táto patogénna baktéria **spôsobuje ochorenia rastlín, zvierat aj ľudí**. *P. aeruginosa* produkuje niekoľko extracelulárnych virulentných faktorov – hemolyzín, elastázu, alkalickú proteázu, exotoxín S, fosfolipázu C a iné. Väčšina kmeňov izolovaných z klinických vzoriek produkuje exotoxín A, ktorý v hostiteľských bunkách blokuje proteosyntézu (Prokšová a Cíchová, 2012). Baktéria je rozšírená v nemocničnom prostredí, kde u hospitalizovaných pacientov vyvoláva nozokomiálne infekcie (Hardie a kol., 2009). Liečba ochorení je náročná, keďže ide o druh vyznačujúci sa nízkou citlivosťou na antibiotiká. Ďalšími patogénnymi baktériami zvierat a ľudí sú napr. *P. oryzihabitans* a *P. plecoglossicida.*

Známym **rastlinným patogénom** je ***P. syringae***, ktorý sa vyskytuje vo viac ako 50 patovaroch (bakteriálny kmeň resp. skupina bakteriálnych kmeňov s rovnakými alebo podobnými charakteristikami, ktoré sa od iných kmeňov rovnakého druhu prípadne poddruhu líšia patogenitou vo vzťahu k jednému, prípadne viacerým hostiteľským organizmom). Mnohé patovary *P. syringae* sú viazané len na určitý druh rastlinného hostiteľa napr. *P. syringae* patovar *dysoxylis* na *Dysoxylum spectabile* (kohekohe), *P. syringae* patovar *pisi* na *Pisum sativum* (hrach siaty), *P. syringae* patovar *aesculi* na *Aesculus hippocastanum* (pagaštan konský) alebo *P. syringae* patovar *actinidiae* na *Actinia deliciosa* (kiwi) (Di Lallo a kol., 2014). Druhový názov patogénu *P. syringae* bol odvodený od hostiteľskej rastliny, orgovánu *Syringa vulgaris*, z ktorého bol prvýkrát izolovaný (Krieg, 1984). Niektoré druhy rodu *Pseudomonas* sú **patogénmi húb**, napr. ***P. agarici*** napáda lupene húb (Young, 1970) a ***P. tolaasii*** spôsobuje hnitie komerčne pestovaných húb (Brodey a kol., 1991).

16.3.3.4 *Francisella* spp.

Do rodu ***Francisella*** (rad Thiotrichales, čeľaď Francisellaceae) patria malé **Gram-negatívne, nemotilné, nesporulujúce γ-proteobaktérie**. Tieto **kokobacily**, prípadne **bacily** sú **intracelulárne fakultatívne parazity makrofágov** (Allen, 2003). Kolónie týchto patogénnych baktérií sú **striktne aeróbne** a vyznačujú sa morfologickou podobnosťou s baktériami rodu *Brucella* (Ryan a Ray, 2004). Na základe výsledkov kompletného genómového sekvenovania sa druhy rodu *Francisella* rozdeľujú do dvoch skupín. Prvú tvorí *F. philomiragia* spolu s *F. noatunensis* a druhú *F. novicida*, *F. hispaniensis* a *F. tularensis* (Sjödin a kol., 2012).

Rod *Francisella* bol pomenovaný podľa amerického bakteriológa Edwarda Francisa, ktorý ako prvý v roku 1922 identifikoval ***F. tularensis***, v tom čase známu ako *Bacterium tularensis*, **pôvodcu antropozoonotického ochorenia tularémie** (tzv. králičej horúčky) (Francis, 1921). Ochorenie bolo pomenované podľa oblasti Tulare County v Kalifornii, kde bolo v roku 1911 prvýkrát zaznamenané (Timoney a kol., 1998). V súčasnosti je tularémia rozšírená najmä na území Severnej Ameriky a Eurázie (Klement a kol., 2011). **Prírodným rezervoárom** týchto patogénnych baktérií sú menšie cicavce – **potkany, myši, hraboše, zajace a králiky**. **Prenos patogénov sprostredkujú článkonožce ako komáre, bodavé muchy a kliešte**. K infikovaniu dochádza aj vdýchnutím infekčného aerosólu, požitím kontaminovanej potravy a vody, prípadne kontaktom s kontaminovanou pôdou a infikovanými zvieratami. K priamemu prenosu medzi ľuďmi nedochádza (CDC, 2015c). **Príznakmi ochorenia** môžu byť **zväčšenie lymfatických uzlín, kožnej lézie, teplota, ale aj pneumónia a infekcie hrdla** (CDC, 2015b). Výskyt uvedených, ako aj ďalších symptómov závisí od konkrétnej varianty ochorenia. *F. tularensis* možno diagnostikovať napr. laboratórnym dôkazom *F. tularensis* v krvi, prípadne v primárnych léziách (prvotných poraneniach a poškodeniach). Čoraz viac sa používajú predovšetkým molekulovo-biologické metódy ako PCR a real-time PCR.

F. tularensis (Klement a kol., 2011) je považovaná za potenciálnu biologickú zbraň využiteľnú teroristami (CDC, 2018). V minulosti s jej využitím počítali bojové programy Sovietskeho zväzu, Japonska a USA (Dennis a kol., 2001).

Medzi ďalšie patogénne baktérie rodu *Francisella* patria aj *F. novicida* a *F. philomiragia*, pôvodne *Yersinia philomiragia*.

16.3.3.5 *Xanthomonas* spp.

Do rodu ***Xanthomonas*** (Xantomonadales, Xanthomonaceae) patria mnohé patogénne druhy **γ-proteobaktérií** spôsobujúce **ochorenia** postihujúce listy, stonky a plody **širokej škály rastlinných druhov** (Boch a Bonas, 2010). Sú to **bacily s jedným polárnym bičíkom**, ktoré vstupujú do rastlín cez rany, prípadne cez prirodzené rastlinné otvory (napr. prieduchy). V hostiteľských rastlinných bunkách produkujú efektorové proteíny, ktoré sú schopné viazať sa na sekvencie promótorov niektorých génov hostiteľskej rastliny a iniciovať proces ich expresie, čo vedie k rozvoju baktériovej infekcie. Pre patogény rodu *Xanthomonas* je typická vysoká miera hostiteľskej špecifity. Príkladom je ***X. citri***, **pôvodca rakoviny rôznych druhov citrusov** ako limetka, pomaranč, citrón alebo pomelo (Rodriguez a kol., 2012) alebo ***X. oryzae***, **pôvodca ochorenia ryže**, ktoré sa vyskytuje na celom svete, pričom obzvlášť veľké škody spôsobuje v oblastiach Ázie, kde je jej pestovanie značne rozšírené

a hospodársky významné (Mew a kol., 1993). Medzi ďalšie známe patogénne baktérie patria aj *X. perforans, X. euvesicatoria, X. gardneri, X. vesictoria, X. campestris* pv. *punicae* a *X. hyacinthi*. Rod *Xanthomonas* produkuje aj polysacharid nazývaný **xantánová guma**, ktorý má rozsiahle využitie v priemysle, potravinárstve a kozmetike.

16.4 Patogénne ε-proteobaktérie rodu *Helicobacter*

Najznámejším patogénnym druhom z radu Campylobacterales a z čeľade Helicobacteriaceae je **mikroaerofilná, nesporulujúca, Gram-negatívna ε-proteobaktéria *Helicobacter pylori***, pôvodne známa ako *Campylobacter pylori*, vyskytujúca sa v jamkách povrchových vrstiev hlienu sliznice žalúdka. Je pôvodcom širokého spektra **gastrointestinálnych chorôb**, ako aj iných ochorení. **Bičíky umiestnené na jednom póle bunky** umožňujú baktérii kolonizovať žalúdočnú sliznicu a vyvolať **zápalové ochorenie žalúdka** – **gastritídu**, ktorá môže viesť až k vzniku **žalúdočných vredov**. Chronická forma tohto ochorenia zvyšuje aj riziko vzniku rakoviny žalúdka (Sauerbaum a Michetti, 2002). *H. pylori* **prenášajú chorí ľudia alebo zvieratá** (napr. mačky a psy) **fekálno-orálnou cestou**. Prítomnosť baktérie v sliznici žalúdka sa dá zistiť invazívne – vyšetrením vzoriek získaných biopsiou (odberom vzorky tkaniva určenej na histologické prípadne cytologické vyšetrenie) alebo neinvazívne – dychovým testom, pri ktorom sa po požití prípravku obsahujúceho močovinu deteguje prítomnosť oxidu uhličitého uvoľneného po rozklade močoviny enzýmom produkovaným baktériou, sérologickým dôkazom protilátok (imunoglobulínov IgG, IgM a IgA) alebo testovaním stolice na prítomnosť antigénu *H. pylori* (MZ SR, 2010). Vzhľadom na to, že viac ako 85% infikovaných jedincov nevykazuje žiadne symptómy a komplikácie (Bytzer a kol., 2011), predpokladá sa, že táto baktéria môže byť v niektorých prípadoch v žalúdočnom prostredí dokonca aj užitočná (napr. môže byť zodpovedná za ústup astmy alebo niektorých alergických reakcií) (Blaser, 2006; Talebi Bezmin Abadi, 2014). Na kyslé prostredie žalúdka človeka a zvierat sú adaptované aj ďalšie baktérie rodu *Helicobacter* ako *H. salmonis, H. nemestrinae*, prípadne patogénne *H. acinonyx* a *H. felis* (Sýkora, 2006), ktorá sa môže vyskytovať aj u ľudských jedincov.

16.5 Patogénne spirochéty

16.5.1 *Treponema* spp.

Najznámejšou ľudskou patogénnou baktériou rodu ***Treponema*** skupiny (čeľade) Spirochaetaceae je ***T. pallidum***. Ide o **chemoorganotrofnú** (energiu získava rozkladom látok organického pôvodu získaných z prostredia) **Gram-negatívnu baktériu tvaru špirály s pravidelnými závitmi. Vysokú pohyblivosť** tohto patogénu zabezpečujú **axiálne vlákna - vnútorné periplazmatické bičíky** typické pre spirochéty (viď kapitola 15.2.8). Známe sú tri poddruhy tejto patogénnej baktérie – *T. pallidum* subsp. *pertenue*, pôvodca tropickej infekcie kože, kostí a kĺbov (angl. yaws), *T. pallidum* subsp. *endemicum*, pôvodca endemického syfilisu (tzv. bejel), ktorý nie je prenášaný pohlavným stykom, ale priamym dotykom rúk s poranenou kožou infikovaného jedinca a ***T. pallidum* subsp. *pallidum***, ktorá **u človeka ako jediného hostiteľa** vyvoláva **sexuálne prenosné infekčné ochorenie syfilis** (Marks a kol., 2014).

Syfilis má tri štádiá. V prvom **primárnom štádiu** sa v intervale 3 až 90 dní (v priemere 21 dní) od expozície jedinca patogénu tvorí v mieste kontaktu, prevažne **v oblasti**

genitálií, **tvrdý vred** (angl. chancre). Kožných lézií sa môže v niektorým prípadoch vyskytnúť aj viac (Kent a Romanelli, 2008). 7 až 10 dní od tvorby lézie dochádza k lokálnemu zväčšeniu lymfatických uzlín (Eccleston a kol., 2008). Štyri až desať týždňov od primárnej infekcie nastupuje **sekundárne štádium** ochorenia (Kent a Romanelli, 2008), ktoré sa môže prejavovať rôznymi príznakmi spravidla na koži, lymfatických uzlinách a slizniciach (Mullooly a Higgins, 2010). V oblasti trupu a na končatinách, vrátane dlaní a chodidiel sa môžu formovať **červeno-ružové symetrické nesvrbivé vyrážky** (Kent a Romanelli, 2008; Dylewski a Duong, 2007). Tieto lézie **obsahujú baktérie a sú vysoko infekčné**. Medzi ďalšie pozorované symptómy štádia patrí **teplota, nevoľnosť, bolesť hlavy a v krku, vypadávanie vlasov, strata hmotnosti**, ale zriedkavo aj ochorenie obličiek, zápal pečene, kĺbov, očného nervu, okostice (tzv. periostitída), dúhovky (tzv. uveititída) a rohovky (intersticiálna keratitída) (Kent a Romanelli, 2008). Akútne symptómy sa spravidla vytratia po troch až šiestich týždňoch (Bhatti, 2007), pričom u približne 25% infikovaných osôb dochádza k recidíve sekundárnych príznakov. K **terciárnemu štádiu** dochádza približne **po 3 až 15 rokoch** od infikovania patogénnou baktériou. Odhadom tretina neliečených infikovaných osôb dosiahne tretie štádium ochorenia (Bhatti, 2007), v ktorom **už nie sú infekční** (Kent a Romanelli, 2008).

Ďalšími patogénnymi baktériami rodu *Treponema* sú napr. *T. carateum*, pôvodca tropickej treponematózy, kožného ochorenia ľudských jedincov známeho pod názvom „pinta“ (Antal a kol., 2002) a *T. paraluiscuniculi* spôsobujúca syfilis u zajacov (Harper a kol., 2008).

16.5.2 *Borrelia* spp.

Najznámejším predstaviteľom rodu rodu ***Borrelia*** (čeľaď Spirochaetaceae) je ***B. burgdorferi***. Ide o **špirálovitú,** 5-20 μm dlhú (Motaleb a kol., 2015)**, Gram-negatívnu, mikroaerofilnú, pomaly rastúcu, patogénnu baktériu**, ktorej motilitu zabezpečuje **7-11 vnútorných periplazmatických bičíkov** (Motaleb a kol., 2000). **Patogén** je **pôvodcom zoonotického ochorenia – lymskej boreliózy**. Borelióza získala prívlastok „**lymská**“ na základe miesta jej prvého výskytu – Lyme v štáte Connecticut v USA (Kačániová a Hleba, 2011). V prírode sú **hostiteľmi** týchto patogénnych baktérií najmä **vtáky, hlodavce** a iné menšie cicavce. Na človeka sa môže preniesť prostredníctvom **prenášača**, ktorým je **kliešť** (rod *Ixodes*) (Radolf a kol., 2012).

Primárnym príznakom infikovania objavujúcim sa **po 3 dňoch až 1 mesiaci** od vpichu je **červená vyrážka v oblasti miesta vpichu, okolo ktorej sa zvyčajne formuje veľký červený kruh** (tzv. erythema chronicum migrans alebo angl. „bull's-eye rash“), ktorý môže mať v priemere až 15 cm. Neskôr sa objavujú **symptómy podobné chrípke – zväčšenie lymfatických uzlín, bolesti hlavy, svalov, kĺbov, únava a ďalšie**. Ak sa choroba nelieči, baktéria preniká krvou do rôznych orgánov a môže postihovať srdce, kosti, svaly alebo nervovú sústavu. **V poslednom štádiu** postihnutý trpí **encefalitídou, menigitídou a poškodením kĺbov**, najmä kolien.

Borelióza je liečená antibiotikami – doxycyklínom u dospelých a amoxicilínom v prípade detí. Proti ochoreniu je dostupná rekombinantná vakcína (vyrábaná prostredníctvom geneticky modifikovaných baktérií) založená na povrchovom proteíne A (OspA) baktérie *B. burgdorferi*. Klinické testy preukázali, že očkovacie látka poskytuje účinnú imunitu dospelým (cca 76%) a najmä deťom (cca 100%). Vedľajšie účinky vakcinácie sú prechodné, len mierne až stredné závažné (Overzier a kol., 2013).

Ochorenie môžu vyvolať aj iné patogénne baktérie rodu *Borrelia* ako *B. mayonii*, *B. garinii*, a *B. afzeii* (Shapiro, 2014).

16.5.3 *Leptospira* spp.

Do rodu ***Leptospira*** z čeľade Leptospiracea patria **špirálovité, aeróbne, patogénne, oportúnne patogénne a nepatogénne Gram-negatívne spirochéty s dvomi vnútornými periplazmatickými bičíkmi** zabezpečujúcimi motilitu (Picardeau a kol., 2001). Prvá patogénna baktéria tohto rodu bola izolovaná v roku 1907 z obličky jedinca s **infekčným zoonotickým ochorením leptospirózou**. Vtedajšie záznamy uvádzajú, že obeť podľahla tzv. žltej horúčke (Stimson, 1907). Inkubačná doba ochorenia sa pohybuje spravidla v intervale 7-12 dní (Picardeau a kol., 2014). Leptospiróza sa prejavuje v dvoch fázach. Prvá, akútna, prípadne septická fáza končí v 3. až 7. deň ochorenia (Picardeau a kol., 2014). Druhá, imunitná fáza sa prejavuje zmiernením príznakov a objavením sa protilátok (Lane a Dore, 2016). Príznaky ochorenia môžu byť relatívne mierne ako napr. **horúčka so zimnicou, bolesti svalov, brucha a hlavy** a v niektorých prípadoch aj kožná vyrážka (Levett, 2001) až po pomerne vážne ako napr. **poškodenia orgánov**, najmä obličiek, pečene, pľúc a mozgu. Ďalším charakteristickým príznakom je **zožltnutie alebo sčervenanie očných bielok**. Ak sa infekcia prejaví zožltnutím kože, došlo u pacienta k zlyhaniu obličiek.

V rámci rodu *Leptospira* bolo doposiaľ identifikovaných 21 druhov („The Center for Food Security and Public Health“ – CFSPH, 2013), pričom 13 z nich spôsobuje infekčné ochorenie u ľudských jedincov (Cerqueira a Picardeau, 2009; CFSPH, 2013). Najznámejšími druhmi, ktoré spôsobujú leptospirózu sú *L. borgpetersenii*, *L. interrogans*, prípadne *L. santarosai* (Evangelista a Coburn, 2010). **Primárnymi hostiteľmi** týchto patogénov sú **krty a hlodavce** ako myši, potkany, prípadne hraboše. Aj napriek tomu, že baktérie boli nájdené aj u vtákov a plazov, **len cicavce ako sekundárni hostitelia** (napr. ošípané, psy, králiky, jelene, kravy, ovce a niektoré morské cicavce) **sú schopné prenášať infekčné ochorenie na iné zvieratá a ľudských jedincov** (Guerra, 2009).

16.6 Patogénne chlamýdie

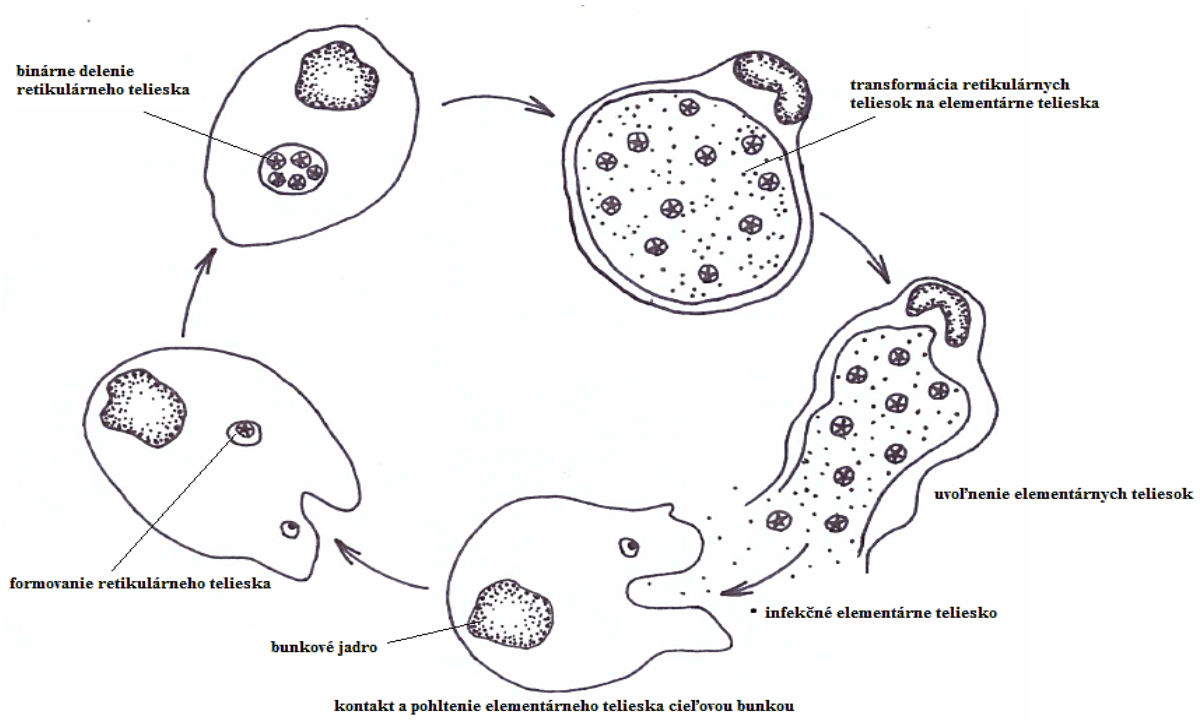
Chlamýdie (**Chlamydiae** zo skupiny PVC – viď kapitola 15.4.4.) sú **obligátne intracelulárne parazity eukaryotov** spôsobujúce široké spektrum infekčných ochorení. Sú to **malé Gram-negatívne baktérie ovoidného tvaru**, ktoré **nemajú bičíky a namiesto typickej peptidoglykánovej bunkovej steny disponujú bunkovou stenou tvorenou prevažne proteínmi** (Cavalier-Smith, 2002). Nedávne štúdie však naznačili, že chlamýdie malé množstvo peptidoglykánu obsahujú a že táto zložka zohráva dôležitú úlohu pri bunkovom delení týchto baktérií. Pochopenie mechanizmu bunkového delenia chlamýdií je rozhodujúce pre vývoj nových antibiotík účinných proti chronickým infekciám vyvolaných týmito patogénnymi baktériami (Jacquier a kol., 2015).

Ľudskými patogénmi zo skupiny **Chlamydiae** rodu ***Chlamydia*** čeľade *Chlamydiaceae* sú najmä ***C. abortus, C. psittaci***, ***C. pneumoniae*** a ***C. trachomatis*** (Joseph a kol., 2015) popísaná ako prvá v roku 1907 Halbestaedterom a Prowazekom. ***C. suis*** je výlučným patogénom ošípaných a ***C. muridarum*** hlodavcov – myší a škrečkov. K patogénnym baktériám zvierat sa zaraďujú aj ***C. avium*** spôsobujúca infekcie holubov a papagájov, ***C. gallinacea*** postihujúca kury, perličky a morky, ako aj ***C. felis*** pôvodca rinitídy (zápal sliznice nosovej dutiny, „nádcha“), respiračných ochorení a konjuktivitídy (zápalu spojoviek) u domestikovaných mačiek.

Životný cyklus chlamýdií (obr. 16.1) je pre baktérie netypický. Počas cyklu sa chlamýdie vyskytujú **v dvoch formách – ako elementárne teliesko** (z angl. „elementary body“, ďalej **EB**) **a retikulárne teliesko** (z angl. „reticulate body“, ďalej **RB**). **EB** je

metabolicky takmer **inaktívna, nereplikujúca sa infekčná častica**. **Uvoľňuje sa z infikovanej bunky hostiteľa**, čím je zabezpečená **schopnosť šírenia** sa infekcie medzi ľudskými jedincami. Pri **kontakte EB s cieľovou bunkou dochádza k jeho fagocytóze**. V hostiteľskej bunke je EB umiestnené vo fagozóme (bunkovej organele, ktorá vzniká po obalení častice cytoplazmatickou membránou fagocytu) (Jarčuška a kol., 2009). Fagocytované chlamýdie môžu byť zneškodnené splynutím fagozómu s lyzozómami. Ak sa tak nestane, dochádza k modifikácii EB na neinfekčnú formu RB. **Metabolicky aktívne RB sa následne intenzívne binárne delí** (Jarčuška a kol., 2009). Vzniknuté častice sa opäť diferencujú na infekčné EB (Hafner a kol., 2008). **Namnožené infekčné častice EB sa z hostiteľskej bunky najčastejšie uvoľňujú** po jej lýze a infikujú ďalšie bunky. Ďalšou možnosťou uvoľnenia EB z bunky hostiteľa môže byť aj exocytóza. (Jacquier a kol., 2015; obr. 16.1).

Baktéria ***Chlamydia*** (resp. ***Chlamydiophila***) ***psittaci*** je pôvodcom ochorenia **psitakóza** (resp. **ornitóza**) (Jarčuška a kol., 2009). Hostiteľmi tohto druhu sú najmä voľne žijúce vtáky, hovädzí dobytok, kone, ovce ošípané a domestikované vtáky (najmä hydina). Patogén je prenášaný požitím, vdýchnutím, prípadne kontaktom s infikovaným jedincom. Zoonotické ochorenie psikatóza sa **u vtákov a ľudských hostiteľov** často prejavuje **ako chrípkové ochorenie**, ktoré môže neskôr prejsť do životne nebezpečnej pneumónie.



Obr. 16.1. Zjednodušený model životného cyklu chlamýdií

Chlamydia (resp. ***Chlamydiophila***) ***pneumoniae*** je pomerne častým pôvodcom infekčných ochorení (Pospíšil a kol., 2003). Ide predovšetkým o **infekcie** horných **dýchacích ciest** ako tonzilitída (zápal mandlí), dolných dýchacích ciest ako bronchitída (zápal priedušiek) a atypická pneumónia (atypický zápal pľúc) alebo faryngitída (zápal hltana) (Jarčuška a kol., 2009). Pravdepodobne prvým prípadom zdokumentovanej infekcie baktériou *C. pneumoniae* bol zápal spojoviek (tzv. konjunktivitída) zaznamenaný v roku 1950 na Taiwane. Patogén bol donedávna známy pod skratkou TWAR (tzv. Taiwan acute respriratory agens), ktorá vznikla z označení dvoch pôvodných izolátov – Taiwan (TW-183) a akútny

respiračný izolát (AR-39) (Wyka a kol., 2011). Od roku 1999 je známa kompletná genómová sekvencia *C. pneumoniae* (Kalman a kol., 1999). Okrem ľudí je patogénna baktéria pôvodcom respiračných infekcií aj u koál, chameleónov, korytnačiek, leguánov a ďalších zvierat.

K významným intracelulárnym parazitom patrí aj ***Chlamydia trachomatis***. V minulosti bola táto baktéria najmä vďaka malým rozmerom, ktoré jej umožňovali prejsť cez baktériové filtre, považovaná za vírus (Nunes a Gomes, 2014). Patogénna baktéria má niekoľko sérotypov (sérovarov) – sérotypy A, B, Ba, C; sérotypy D – K; a sérotypy LGV 1, 2 a 3. **Sérotypy LGV 1, 2 a 3** spôsobujú **sexuálne prenosné ochorenie** známe pod názvom **lymphogranuloma venereum** (Burton, 2007). Primárnym príznakom ochorenia je **tvorba genitálneho vredu**, ktorý je často prehliadnutý. Neskôr genitálny vred mizne a dochádza k **zväčšeniu lymfatických uzlín v oblasti genitálií, prípadne konečníka** u jedincov praktizujúcich análny sex. Infekčné ochorenie môžu sprevádzať aj ďalšie symptómy ako napr. nechutenstvo, horúčky a opuch lymfatických uzlín v iných častiach tela (Williams a Churchill, 2006). **Sérotypy D-K** sú pôvodcami najmä **urogenitálnych infekcií** (O'Connell a Ferone, 2016). **Sérotypy A, B, Ba a C** spôsobujú **ochorenie trachóm** (Burton, 2007), ktoré môže u infikovaných jedincov viesť k slepote. Je rozšírené najmä v rozvojových krajinách v oblasti trópov a subtrópov. Zásadným klinickým príznakom sú **stvrdnuté viečka z vnútornej strany a očné riasy otočené smerom do oka**, ktoré ho neustále dráždia.

16.7 Patogénne Firmicutes

16.7.1 Patogénne Bacilli

16.7.1.1 Patogénne Lactobacillales

16.7.1.1.1 *Streptococcus* spp.

Zástupcovia rodu ***Streptococcus*** (čeľaď Streptococcaceae) **sú nepohyblivé, Gram-pozitívne,** spravidla **fakultatívne anaeróbne baktérie sférického alebo ovoidného tvaru vyskytujúce sa v pároch** (diplokoky) a/alebo **tvoria retiazkach** (streptokoky). Streptokoky sú **chemoorganotrofné nesporulujúce** baktérie. **Oportúnne patogénne** streptokoky sú **prirodzenou súčasťou mikrobioty ľudského tela**, najmä čriev, úst, kože a horných dýchacích ciest (Lorenc, 2014). V roku 1984 boli viaceré baktérie pôvodne radené do rodu *Streptoccocus* vyčlenené do iných samostatných rodov ako *Enterococcus* a *Lactococcus* (Facklam, 2002).

Baktérie rodu *Streptococcus* možno na základe ich hemolytických vlastností (schopnosti rozkladať hemoglobín) klasifikovať do dvoch skupín – α-hemolytické a β-hemolytické. Tieto dva typy streptokokov je možné rozlíšiť kultiváciou na krvnom agare (Buxton, 2005), ktorý tvorí zmes krvi (ovčej, prípadne konskej) a živného agaru. α-hemolytické streptokoky (tzv. „viridans streptococci" alebo *S. pneumoniae* za aeróbnych podmienok) majú schopnosť len čiastočnej hemolýzy (čiastočného rozkladu hemoglobínu) (Ryan a Ray, 2004), čo sa prejaví hnedým, prípadne zeleným sfarbením. Toto sfarbenie je typické pre produkt rozkladu hemoglobínu, tzv. biliverdín. β-hemolytické druhy (napr. *S. pyogenes* alebo *S. pneumoniae* za anaeróbnych podmienok) vedie k úplnej hemolýze, čo sa prejaví vyčírením (t. j. žltým sfarbením) krvného agaru v zónach rozrastenej kolónie (Buxton, 2005).

Mnohé streptokoky sú patogénne, spôsobujúce infekčné ochorenia ľudí a zvierat. Medzi najznámejšie patogény patria najmä ***S. pneumoniae***, ***S. agalactiae***, ***S. pyogenes*** **a** ***S. anginosus***.

S. pneumoniae (tzv. **pneumokok**) je najčastejšie pôvodcom **zápalu pľúc** (pneumónie). Ide o frekventovane sa vyskytujúce ochorenie dolných dýchacích ciest. Prameňom pôvodcu ochorenia je spravidla nakazený jedinec. Patogény sa **prenášajú vzduchom v podobe kvapôčok slín pri rozprávaní, kýchaní a kašľaní**. Ochorenie spôsobuje **naplnenie pľúcnych alveol** (mechúrikov) **tekutinou alebo hnisom**. Medzi základné symptómy patria **kašeľ s hlienom, teplota, zimnica a ťažkosti s dýchaním**. Závažnosť infekcie závisí od niekoľkých faktorov ako napr. vek a celkový zdravotný stav. Vážnejší priebeh je pozorovaný najmä u detí mladších ako päť rokov, dospelých starších ako 65 rokov, jedincov s niektorými ochoreniami (napr. cukrovkou) a slabým imunitným systémom („National Heart, Lung, and Blood Institute" – NHLBI, 2018). *S. pneumoniae* však môže spôsobovať aj ďalšie ochorenia dýchacej sústavy ako napr. rinitída (zápal sliznice nosovej dutiny, „nádcha"), bronchitída (zápal priedušiek), prípadne iné ochorenia ako napr. pneumokoková meningitída (zápal blán pokrývajúcich mozog a miechu) a endokarditída (zápal vnútornej vrstvy srdca – endokardu).

Nevyhnutnou prevenciou proti pneumokokovým inváznym ochoreniam je očkovanie. Na Slovensku sa očkuje registrovanou očkovacou látkou v rámci pravidelného povinného očkovania. Základná vakcinácia sa realizuje troma dávkami očkovacej látky v 3., 11. a 15. mesiaci života dieťaťa.

Infekčné ochorenia spôsobuje aj ***S. pyogenes***. Najčastejšie ide o bolestivý **zápal hltana (faryngitídu)**. Hlavnými príznakmi sú **bolesť hrdla a teplota** (Hildreth a kol., 2015). Medzi ďalšie sprievodné symptómy patria zväčšené podčeľustné uzliny, **výtok z nosa, kašeľ, bolesť hlavy a chrapľavý hlas** (Rutter a Newby, 2015), ale často aj pocit nechutenstva, nevoľnosti a bolesť brucha. Symptómy pretrvávajú približne tri až päť dní (Hildreth a kol., 2015).

Ďalším významným ochorením vyvolaným baktériou ***S. pyogenes*** je **šarlach** (tzv. scalatina, angl. „scarlet fever"). Toto infekčné ochorenie sa v dôsledku produkcie tzv. baktériového **erytrogénneho toxínu** prejavuje tvorbou drobného folikulárneho **exantému (vyrážky) na koži na rôznych častiach tela s výnimkou tváre, kde sa vytvára erytém** (červené sfarbenie, prípadne červené škvrny na koži vyvolané akútnym zápalom) **blednúci v okolí úst**. **V ústnej dutine** chorého jedinca sa objavuje **enantém** (vyrážka na slizniaciach, najmä na sliznici ústnej dutiny), ako aj petechie (drobné krvné výrony) na podnebí a **typický „malinový"** (resp. „jahodový") jazyk (angl. „strawberry tongue") – jazyk s bielym povlakom a červenými bodkami. Ďalšími príznakmi šarlachu sú **bolesti hrdla a hlavy, vysoké teploty a zväčšenie lymfatických uzlín**. Vážnejšími symptómami šarlachu môže byť aj glomerulonefritída (zápal obličkových glomerulov) a reumatická horúčka. Nákaza sa šíri vzduchom a kontaktom s chorými jedincami. Ochorenie s podobnými symptómami však môžu vyvolať aj stafylokoky produkujúce erytrogénny toxín (tzv. „stafylokokový šarlach") (Martinásková a Vorčáková, 2014).

S. pyogenes je tiež pôvodcom kožných infekcií (napr. impetigo, sladké chrasty – infekčné kožné ochorenie), bakterémie (prítomnosť baktérií v krvi), meningitídy (zápalu blán pokrývajúcich mozog a miechu), pneumónie (zápalu pľúc), sepsy (septikémie; septického stavu; „otravy" krvi; života ohrozujúceho stavu s poruchou funkcie orgánov, vyvolaného neprimeranou reakciou organizmu na infekciu), ako aj ďalších ochorení.

16.7.1.1.2 *Enterococcus* spp.

Do rodu ***Enterococcus*** (čeľaď Enterococcaceae, rad Lactobacillales) patria **nesporulujúce, fakultatívne anaeróbne Gram-pozitívne koky** vyskytujúce sa **vo dvojiciach** (diplokoky), **prípadne v retiazkach** (streptokoky). Baktérie tohto rodu znášajú pomerne širokú škálu teplôt (10-45 °C) a pH (4,5-10), ako aj vysokú koncentráciu chloridu sodného v prostredí (Fisher a Phillips, 2009). Baktérie patriace do tohto rodu sa do roku 1984 radili do rodu *Streptococcus*, od ktorého sú na základe vonkajších charakteristík len veľmi ťažko odlíšiteľné (Gilmore a Clewell, 2002). Molekulové analýzy však naznačili, že by malo ísť o samostatný rod (Schleifer a Kilpper-Balz, 1984). Rod *Enterococcus* na rozdiel od väčšiny zástupcov rodu *Streptococcus* nie je schopný rozkladať hemoglobín (je γ-hemolytický).

Bežnou súčasťou ľudskej črevnej mikrobioty sú najmä dva druhy tohto rodu – ***E. faecium*** a ***E. faecalis***, ktoré **môžu byť aj pôvodcami** rôznych **infekčných ochorení**. Medzi najčastejšie infekčné ochorenia vyvolané patogénmi rodu *Enterococcus* sú napr. infekcia močových ciest, endokarditída (infekcia endokardu, vrstvy vystielajúcej srdcové predsiene a chlopne), meningitída a bakterémia (Ryan a Ray, 2004; Fisher a Phillips, 2009).

16.7.1.2 Patogénne Bacillales

16.7.1.2.1 *Staphylococcus* spp.

Do rodu ***Staphylococcus*** (čeľaď Staphylococcaceae) patria **fakultatívne anaeróbne, Gram-pozitívne, kokovité baktérie**, ktoré **nevytvárajú spóry**. Jednotlivé **koky vytvárajú mnohobunkové kolónie pripomínajúce strapce hrozna (stafylokoky)**.

Najznámejším zástupcom tohto rodu je ***S. aureus***, známy tiež ako **zlatý stafylokok**, ktorý bol vzhľadom na absenciu bičíka (Jarrell a McBride, 2008) ešte donedávna považovaný za nemotilnú baktériu. Nedávne výskumy preukázali, že *S. aureus* je schopný pohybovať sa po povrchu agaru pasívne, ba dokonca celé kolónie sa môžu pohybovať aktívne tzv. kĺzaním (z angl. „gliding motility“) (Pollitt a kol., 2015). Odhaduje sa, že približne 20% až 30% jedincov ľudskej populácie patrí medzi dlhodobých nosičov tejto baktérie (Kluytmans a kol., 1997; Tong a kol., 2015). Tá je v ľudskom tele **prirodzenou súčasťou mikrobioty kože, nosovej sliznice** (Kluytmans a kol., 1997; Cole a kol., 2001) a reprodukčného traktu žien (Senok a kol., 2009; Hoffman a kol., 2012). Ako **príležitostný patogén** môže spôsobovať **infekcie kostí a kĺbov, kože, ale zriedkavo aj pneumóniu**.

S. aureus produkuje v závislosti od kmeňa niekoľko rôznych **exotoxínov** spájaných s konkrétnymi ochoreniami (Dinges a kol., 2000). Tie sú klasifikované do troch skupín – superantigény schopné vyvolať aktiváciu veľkého množstva lymfocytov, exfoliátívne toxíny a toxíny iného typu ako napr. toxín Panton-Valentine leukocidín (PVL) spájaný s ťažkou nekrotizujúcou pneumóniou detí, ktorý je kódovaný bakteriofágom (resp. profágom) Φ-PVL napádajúcim *S. aureus* (Lina a kol., 1999; Gillet a kol., 2002). Do skupiny superantigénov patria toxíny TSST-1 a enterotoxín typu B (spájaný s používaním tampónov počas menštruácie), ktoré sú zodpovedné za **toxický šokový syndróm** (z angl. „toxic shock syndrome“, TSS) (Fries a Varshney, 2013). Symptómami TSS sú horúčka, červená vyrážka, šok, odlupovanie kože a zlyhanie viacerých orgánov. Exfoliatívne toxínov A a B spôsobujú tzv. **stafylokokový syndróm obarenej kože** (z angl. „staphylococcal scalded skin syndrome“, SSSS) (Saida a kol., 2015).

S. aureus môže syntetizovať aj **enterotoxíny** (črevné exotoxíny), ktoré sú príčinou **otravy jedlom u ľudí.** Jedným zo základných preventívnych opatrení je dodržiavanie hygienických zásad počas prípravy jedla, ako aj jeho správne uskladňovanie. Jedlo sa uskladňuje pri teplote pod 5 °C prípadne nad 63 °C (Woodson, 2016).

V súčasnosti predstavuje celosvetový problém výskyt kmeňov *S. aureus* vyznačujúcich sa vysokou rezistenciou na antibiotiká. Tento patogén je jedným z najčastejších pôvodcov nozokomiálnych nákaz (infekcií, ktorých vznik súvisí s pobytom osôb v zdravotníckych zariadeniach, ako sú nemocnice), pričom často infikuje rany pacientov počas operácií. Napriek mnohým výskumov zatiaľ nebola schválená oficiálna vakcína.

Ďalšími patogénnymi baktériami rodu *Staphylococcus* sú napr. *S. epidermidis* a *S. saprophyticus*.

16.7.1.2.2 *Bacillus anthracis*

Obligátnym patogén ***Bacillus anthracis*** (Bacillaceae) je **nepohyblivá, Gram-pozitívna baktéria tyčinkovitého tvaru s proteínovou kapsulou,** ktorá je schopná rásť za **aeróbnych aj anaeróbnych podmienok** (Koehler, 2009). Je to **jediný obligátne patogénny druh rodu *Bacillus*.** Táto baktéria často **tvorí mnohobunkové retiazky.** Za nepriaznivých podmienok, ako sú napr. extrémne teploty a nedostatok výživy, baktéria formuje **centrálne umiestnené endospóry** (Holt a kol., 1994; Spencer, 2003). **Vysoko odolné spóry** *B. anthracis* **prežívajú** v mŕtvych telách, pôde, prípadne v truse **aj niekoľko desiatok rokov** (Théodoridès, 1966).

B. anthracis má kompletne osekvenovaný kruhový chromozóm dlhý 5 227 293 bp (Read a kol., 2003). Okrem toho sa v bunke nachádzajú dva cirkulárne dvojvláknové DNA plazmidy – pXO1, pXO2, ktoré sú nevyhnutné pre plnú virulenciu (Kolstø a kol., 2009).

***B. anthracis* je pôvodcom zoonotického infekčného ochorenia slezinová sneť**, tzv. **antrax**. Ochorenie sa často vyskytuje v s oblastiach s nízkou úrovňou hygieny a zdravotných služieb. Ľudskí jedinci sa môžu nakaziť pri manipulácií s infikovanými zvieratami (najmä dobytok) a kontaminovanými potravinami, prípadne ich požitím.

V súčasnosti je známa je **kožná, gastrointestinálna a inhalačná (pľúcna) forma antraxu** (Glomski a kol., 2007). V niektorých publikáciách sa uvádza aj orálno-glandulárna a cerebrálne forma (Poljak, 2001). Najbežnejším typom je **kožný antrax**, ktorý je zároveň najmenej nebezpečný. U liečených jedincov je úmrtnosť minimálna (CDC, 2014a). Kľúčovým symptómom infekcie je **tvorba kožnej lézie** (CDC, 2014c), ktorá neskôr **prechádza do vredu s čiernym stredom** (tzv. eschar). K nákaze dochádza prostredníctvom spór, ktoré sa dostanú do rán v koži (napr. pri manipulácii s nakazenými zvieratami). Ochorenie je diagnostikované mikrobiologickým vyšetrením vzorky tekutiny z pľuzgierov, nekrotického (odumretého) tkaniva alebo krvi.

Pri **gastrointestinálnom type antraxu** (najzriedkavejšia forma) sa baktérie, prípadne ich spóry dostanú do tráviacej sústavy **zvyčajne konzumáciou mäsa z nakazených zvierat** (najmä dobytok). Následne sa **množia v tráviacom trakte** infikovaného jedinca, čo vedie k vzniku **vredov na sliznici čreva**, prípadne aj v ústach alebo v hrdle. Symptómy zahŕňajú **bolesti tráviaceho traktu, hnačky**, **nechutenstvo**, ale aj **krv v stolici a zvratkoch** (CDC, 2013c). Invazívne sú patogény šírené do lymfatických uzlín a krvi. Prítomnosť baktérií v krvi spôsobuje celkovú slabosť (nevoľnosť, únava). Po krátkom zlepšení symptómov ochorenia sa dostavuje respiračné zlyhanie, hypotermia (podchladenie), šok až smrť. Vzorky na diagnostiku patogénnych baktérií sú získavané najmä zo stolice, zvratkov a krvi.

Inhalačná forme antraxu sa prejavuje po vdýchnutí spór *B. anthracis* hostiteľským organizmom. Vdýchnuté spóry môžu preniknúť až k pľúcnym mechúrikom (alveolám) dýchacích ciest, kde sú pohltené makrofágmi a transportované do **lymfatických uzlín v oblasti hrudníka**. V lymfatických uzlinách hrudníka **spóry germinujú** (klíčia, menia sa vegetatívne formy), **množia sa a lyzujú makrofágy**. V tomto štádiu **príznaky ochorenia pripomínajú chrípku** alebo prechladnutie sprevádzané horúčkou, nevoľnosťou, neproduktívnym kašľom, bolesťou hlavy a svalov (CDC, 2014c). V prípade, že sa **infekcia rozšíri do krvi a pľúc,** faktory virulencie, ktoré sú kódované na plazmidoch pXO1 (polyglutamylové púzdro inhibujúce fagocytózu makrofágmi) a pXO2 (antrax toxín zložený z troch zložiek – protektívny antigén, letálny a edémový faktor), spôsobia **toxémiu** (otravu krvi v dôsledku prítomnosti toxínov produkovaných touto baktériou), **cyanózu** (modré až tmavomodré sfarbenie kože a slizníc, ktoré je výsledkom vzostupu odkysličeného hemoglobínu), **respiračné zlyhanie a smrť** (Poljak, 2001). Tieto patogénne baktérie sa diagnostikujú z výterov sliznice nosa alebo vzoriek získaných bronchoalveolárnou lavážou (výplachom priedušiek pri bronchoskopii – endoskopickom vyšetrení dýchacích ciest). Na identifikáciu tohto patogénu sú používané napr. kultivačné postupy, PCR, sérologické testy alebo imunofluorescenčná mikroskopia (Klement a kol., 2011).

V súčasnosti sa na účely očkovania ľudských jedincov používa niekoľko druhov vakcín, ktoré sa líšia najmä spôsobom prípravy. Ruské očkovacie látky obsahujú oslabené živé kultúry vakcinačného toxigénneho kmeňa STI. Čínska vakcína má podobný charakter. Obsahuje viabilné spóry atenuovaného (oslabeného) kmeňa A16R. Očkovacia látka Anthrax Vaccine Adsorbed (AVA) pochádzajúca z USA pozostáva z bezbunkových filtrátov toxigénneho kmeňa *B. anthracis* V770-NP1-R. Podobná je britská vakcína, v ktorej sú použité bezbunkové filtráty kmeňa Stern. Dostupnosť očkovacích látok je limitovaná. Vakcinácia môže spôsobiť lokálne a systémové vedľajšie účinky (Klement a kol., 2011).

Baktéria *B. anthracis* (resp. jej spóry) je považovaná za potenciálne veľmi účinnú biologickú zbraň (CDC, 2018).

16.7.1.2.3 *Listeria* spp.

Do rodu ***Listeria*** (čeľaď Listeriaceae) patria **fakultatívne anaeróbne, Gram-pozitívne, nesporulujúce baktérie s tvarom tyčinky** (Singleton, 1999). Zástupcovia rodu sú zvyčajne motilní v teplotnom intervale 20-28 °C. Pohyb zabezpečuje jeden až päť peritrichálnych bičíkov (Allerberger, 2003). Rod bol pomenovaný podľa britského lekára Josepha Listera známeho zavedením dezinfekcie do chirurgickej praxe. Do roku 1992 bolo do rodu *Listeria* zaraďovaných len desať druhov (Boerlin a kol., 1992; Jones, 1992). V súčasnosti je do tohto rodu zaraďovaných 20 prevažne nepatogénnych druhov (Leclercq a kol., 2019).

Známym patogénom rodu *Listeria* je ***L. monocytogenes***, ktorá je schopná rásť aj pri 0 °C, a teda aj v chladničke. Pri teplote 37 °C nemá bičíky, v hostiteľských bunkách sa však pohybuje za pomoci hostiteľského aktínového cytoskeletu. Táto baktéria napáda prevažne domáce zvieratá, najmä prežúvavce, v zriedkavejších prípadoch však aj človeka. **K infikovaniu** dochádza spravidla **konzumáciou kontaminovaných potravín**, napr. mliečnych výrobkov a mäsa (CDC, 2016e). **Invazívna infekcia** (infekcia šíriaca sa v tele krvným riečiskom) vyvolaná touto patogénnou baktériou vedie k ochoreniu – **listerióze**. Prejavy listeriózy zahŕňajú **sepsu,** meningitídu alebo **meningoencefalitídu** (Gray a Killinger, 1966), encefalitídu (Armstrong a Fung, 1993), pneumóniu (Whitelock-Jones a kol., 1989), rohovkový vred (Holland a kol., 1987) a **vnútromaternicové alebo cervikálne infekcie**

(infekcie krčka maternice), ktoré môžu byť príčinou spontánneho potratu tehotných žien, prípadne narodenia mŕtveho dieťaťa. Symptómy ochorenia závisia od stavu hostiteľského organizmu. Ochorenie sa u rizikových jedincov ako napr. starších osôb, osôb s oslabeným imunitným systémom, tehotných žien a novorodencov prejavuje horúčkou, bolesťou svalov a hlavy, kŕčmi, stratou rovnováhy a zmätenosťou. U menej rizikových jedincov je infekcia spravidla **neinvazívna** a prejavuje sa ako **horúčkovitá gastroenteritída** – infekčná hnačka sprevádzaná nevoľnosťou, horúčkou a zvracaním.

Ďalšou patogénnou baktériou rodu *Listeria* je napr. *L. ivanovii* postihujúca najmä prežúvavce, obzvlášť ovce. Tento patogén len zriedkavo vyvoláva listeriózu u ľudí (Guillet a kol., 2010).

16.7.2 *Clostridium* spp.

Do rodu ***Clostridium*** (trieda Clostridia, rad Clostridiales, čeľaď Clostridiaceae,) patria **Gram-pozitívne, obligátne anaeróbne baktérie paličkovitého tvaru.** Tieto baktérie **sú schopné vytvárať (sub)terminálne endospóry –** pri sporulácii sa palička na jednom konci výrazne zväčší, čím **pripomína útvar podobný bubeníckej paličke** (alebo tenisovej rakete) (Ryan a Ray, 2004). Zástupcovia rodov *Clostridium*, *Butyrivibrio* a *Bacillus* sú však často označovaní aj ako Gram-variabilné baktérie. Počas kultivácie, pri ktorej narastá počet baktériových buniek, dochádza k poklesu hrúbky ich peptidoglykánovej bunkovej steny, čo má za následok, že sa počas Gramovho farbenia javia ako Gram-negatívne. Významným faktorom ovplyvňujúcim výsledky Gramovo farbenia je vek kultúry týchto baktérií (Beveridge, 1990).

Do rodu ***Clostridium*** patrí viac ako 100 druhov **bežných, voľne žijúcich baktérií, ako aj významných patogénov**. Vyskytujú sa **v pôdnom substráte a tráviacom trakte živočíchov, vrátane ľudí**. U žien sú normálnou **súčasťou** mikrobioty **zdravej vagíny** (Hoffman a kol., 2012). Infekčné ochorenia u ľudí vyvolávajú najmä druhy *C. botulinum*, *C. difficile*, *C. perfringens*, *C. tetani* a *C. sordelii* (Baron, 1996).

Patogénna baktéria ***C. botulinum*** bola prvýkrát identifikovaná a izolovaná v roku 1895 Émilem van Ermengemom z domácej šunky ako podozrivej potraviny v prípade rozšírenia ochorenia **botulizmu** (van Ermengem, 1897). Tento **pohyblivý, striktne anaeróbny patogén s tvarom tyčinky**, ktorý **môže vytvárať (sub)terminálne endospóry** odolné voči vysokým teplotám, **produkuje neurotoxín botulín** označovaný tiež ako **botulotoxín** alebo „klobásový“ toxín (z lat. „botulus“ = klobása) (Peck, 2009). V súčasnosti je na základe antigénnych vlastností neurotoxínu známych osem typov botulínov (A-H) (CIDRAP, 2015). Botulotoxín typu A, B, E, F a H spôsobujú ochorenia človeka, pričom E je spájaný aj s rybími produktmi. Botulotoxín typu C spôsobuje ochorenia u vtákov, D u cicavcov a botulotoxín typu G nie je doposiaľ spájaný so žiadnym ochorením. Botulotoxín H je pravdepodobne najúčinnejším jedom na svete, keďže injekcia 2 ng tejto látky môže zabiť dospelého človeka. Botulotoxíny A a B majú využitie v medicíne na uvoľnenie nežiaducej kontrakcie svalov a v kozmetike (pod názvom Botox) na odstraňovanie vrások (Center for Infectious Disease Research and Policy – CIDRAP, 2015).

Na základe spôsobu prenosu neurotoxínu rozlišujeme päť foriem botulizmu – inhalačný botulizmus, detský botulizmus (prípadne intestinálna toxémia dospelých), ranový botulizmus, iatrogénny botulizmus a intoxikácia potravinami. V prípade **ranového, detského botulizmu a intestinálnej toxémie dospelých je jedinec infikovaný endospórami baktérie**, ktoré neskôr za ideálnych podmienok (napr. dostatok vody, vhodná teplota, dostupnosť nutričných faktorov) **v procese germinácie prechádzajú do vegetatívneho štádia, rozmnožujú sa a produkujú toxické látky**. **Intoxikácia potravinami** je spôsobená **požitím**

toxínu spolu s kontaminovaným jedlom. Pri iatrogénnom (vzniknutom poškodením pacienta zdravotným pracovníkom) type botulizmu ide prevažne o neoprávnené terapeutické použitie botulotoxínu (napr. odstránenie vrások Botoxom). Inhalačný botulizmus sa nevyskytuje prirodzene. V roku 1962 boli popísané tri prípady ochorenia u pracovníkov laboratória, ktorí manipulovali s aerosólom botulotoxínu (Nováková, 2017).

Symptómy botulizmu sú **rozmazané videnie, únava, svalová slabosť v oblasti tváre** (strata výrazu, pokles očných viečok), **hrude,** ako aj vznik **prerušení v autonómnom nervovom systéme** (WHO, 2017b). Disrupcie nervov sa prejavujú **suchotou v ústach a krku v dôsledku poklesu tvorby slín**, **ortostatickou hypotenziou** (pokles krvného tlaku v stoji) alebo **zápchou** zapríčinenou znížením peristaltickej činnosti čreva (pohybu vnútorných stien čreva). Niektoré botulotoxíny (napr. typ B a E) spôsobujú u infikovaného jedinca nevoľnosť, vracanie a rečové problémy. Slabosť sa následne ďalej šíri do rúk a nôh. U osôb s ťažkým botulizmom boli pozorované **problémy s dýchaním** v dôsledku poklesu aktivity dýchacích svalov (Sobel, 2005).

Očkovanie proti botulizmu je možné, ale prináša významne negatívne vedľajšie účinky (WHO, 2017b). Od roku 2013 je vynakladané úsilie na vývoj vhodnejšej vakcíny (Webb a Smith, 2013). *C. botulinum* patrí medzi potenciálne biologické zbrane (CDC, 2018).

Ďalšou významnou patogénnou baktériou rodu *Clostridium* je **striktne anaeróbny** pôvodca ochorenia **tetanus** – ***C. tetani***. Väčšina kmeňov *C. tetani* je motilných vďaka peritrichálnym bičíkom. Baktéria má **tyčinkovitý tvar**, no **pri sporulácii** pripomína útvar podobný bubeníckej paličke – tzv. **(sub)terminálna endospóra** podobná endospóre *C. botulinum* (Ryan a Ray, 2004). **Spóry** *C. tetani* sú mimoriadne stabilné a okrem **pôdneho substrátu** sa vyskytujú aj **v gastrointestinálnom trakte zvierat**. Ochorenie **tetanus** vyvolané patogénom vzniká **po vstupe** baktérie **z pôdy** do tela hostiteľa **spravidla prostredníctvom rany**. Tu sa tieto mikroorganizmy rozmnožujú a produkujú **neurotoxíny** – tetanolyzín a **tetanospazmín**, ktorý sa šíri dostredivými nervovými dráhami do centrálnej nervovej sústavy (CNS) a krvou k nervom periférnej nervovej sústavy. **Primárnymi symptómami** ochorenia sú **kŕče žuvacích svalov** a **poruchy príjmu**, prípadne transportu **potravy** z ústnej dutiny do žalúdka (dysfágia). V priebehu infekcie je **postihnuté mimické svalstvo**, ale aj **svaly šije, brucha, chrbtice a** proximálne svalové skupiny **končatín**. S rozvojom ochorenia sa frekvencia tonických (dlhšie trvajúcich) kŕčov zvyšuje a trvanie ich priebehu predlžuje. Inkubačná doba sa najčastejšie pohybuje v intervale 7 až 14 dní, ale v najťažších prípadoch je to len 3 až 7 dní (Motyčka, 2002). V súčasnosti sa proti ochoreniu tetanus **vakcinujú deti** po celom svete. Očkovacia látka pozostáva z tetanospazmínu inaktivovaného formaldehydom – tetanický toxoid (Roper a kol., 2013).

16.8 Patogénne Actinobacteria

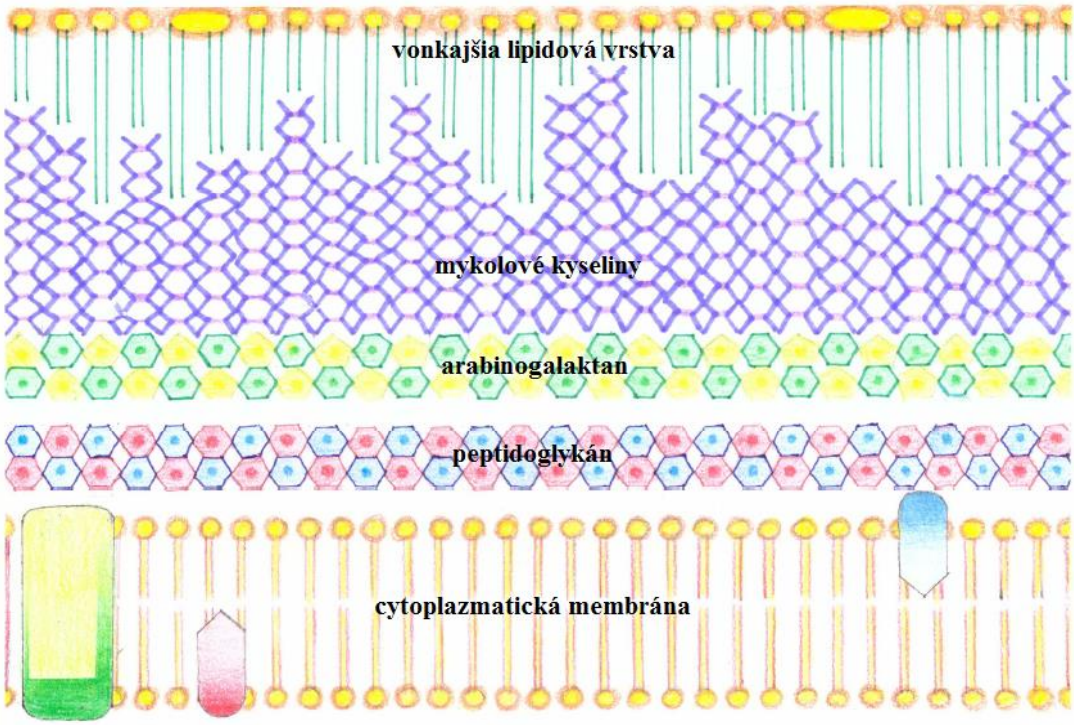
16.8.1 *Mycobacterium* spp.

Rod ***Mycobacterium*** (rad Mycobacteriales, v niektorých systémoch rad Corynebacteriales, prípadne Actinomycetales, čeľaď Mycobacteriaceae) zahrňuje viac ako 190 doposiaľ identifikovaných druhov (King a kol., 2017). Sú to **acidorezistentné aeróbne baktérie rovného alebo mierne zahnutého tyčinkovitého tvaru**. S výnimkou *M. marinum* ide o **nemotilné** druhy. *Mycobacterium* spp. (mykobaktérie) sa vyznačujú **špecifickým typom bunkovej steny** (Obr. 16.2), čo je aj dôvod prečo sa **nefarbia Gramovým farbením**, hoci **aktinobaktérie sú vo všeobecnosti Gram-pozitívne**. V laboratórnej praxi sa často realizuje **Ziehlovo-Neelsenovo farbenie**, ktoré sa používa ako **dôkaz acidorezistentných**

(z angl. „acid-fast“) **baktérií**, ako sú mykobaktérie, nokardie a niektoré ďalšie aktinomycéty. Metóda je založená na schopnosti baktérií prijímať zahriate koncentrované červené farbivo (karbolfuchsín). V prípade acidorezistentných baktérií zostáva farbivo zabudované v ich bunkovej steny aj po následnom vymývaní farbiva kyslým alkoholom (etanol s prídavkom HCl). Výsledkom farbenia mykobaktérií sú baktériové bunky sfarbené na červeno. V prípade neacidorezistentných baktérií sa pri vymývaní farbivo vyplaví, a preto ostanú bezfarebné.

Vonkajšiu vrstvu bunkovej steny mykobaktérií tvoria **lipidy a im podobné zlúčeniny** (napr. glykolipidy, sulfolipidy, lipooligosacharidy a fenolické glykolipidy), pod ktorými sa nachádzajú **mykolové kyseliny** – lineárne mastné kyseliny s cyklopropánový jadrom a ďalšími funkčnými skupinami. Pod vrstvou mykolových kyselín (alfa-, methoxy- a ketomykolových kyselín) sa nachádza polysacharidová vrstva **arabinogalaktanu**, ktorá nasadá na vrstvu **peptidoglykánu** uloženú nad cytoplazmatickou membránou. Arabinogalaktan slúži na prepojenie mykolových kyselín s peptidoglykánom (Alderwick a kol., 2015). Popísaná stavba bunkovej steny (obr. 16.2) významne prispieva k odolnosti mykobaktérií.

Medzi najznámejšie infekčné ochorenia človeka spôsobené patogénnymi mykobaktériami patrí **lepra**, ktorej pôvodcom je ***M. leprae,*** prípadne ***M. lepromatosis***, a **tuberkulóza (TBC)** vyvolaná patogénnymi baktériami ***M. tuberculosis, M. bovis, M. africanum*** **a** ***M. microti*** (Ryan a Ray, 2004).



16.2. Bunková stena mykobaktérií. *Táto štruktúra uložená nad cytoplazmatickou membránou sa skladá z vrstiev peptidoglygánu, arabinogalaktanu, mykolových kyselín a vonkajšej lipidovej vrstvy.*

Lepra (Hansenova choroba, „malomocenstvo“) je infekčné ochorenie vyvolané intracelulárnym pleomorfným (s rôznorodou morfológiou, mnohotvárnym) (McMurray, 1996) patogénom ***M. leprae***, ktorý sa vyskytuje najmä **v tropických krajinách**. Baktéria bola objavená v roku 1873 nórskym lekárom Gerhardom Armauer Hansenom. Infekcia **postihuje**

najmä **kožu, periférne nervy, sliznicu horných dýchacích ciest a oči** jedincov každej vekovej kategórie. Tieto patogénne baktérie rastú veľmi pomaly, preto sa prvé príznaky ochorenia môžu prejaviť až po niekoľkých mesiacoch, prípadne aj rokoch. Presný mechanizmus prenosu nie je známy. Najčastejšie je zastávaný názor, že patogén sa šíri **blízkym kontaktom medzi infikovaným a zdravým jedincom najmä respiračnou cestou** (Eichelmann a kol., 2013).

Rozlišujeme dve formy lepry – tuberkuloidnú a lepromatóznu. Pri **tuberkuloidnej lepre** sa patogén dostáva do kože, na ktorej sa tvoria **kožné lézie**. **Postihnuté sú aj periférne nervy**. Pod kožou v oblasti postihnutých nervov sú hmatateľné malé hrbolčeky (lat. „tuberkulum"). Patogénne baktérie stimulujú v hostiteľskom organizme imunitnú odpoveď, čo vedie k zneškodneniu patogénu bielymi krvinkami a postupnému vyliečeniu infikovaného jedinca. **Pri lepromatóznej lepre** patogénne baktérie prechádzajú až do tkanív okrajových častí tela postihnutého, kde sa vytvárajú hrbolčeky postihnutých nervov, ktoré splývajú do veľkých hrbolov. **Kožné lézie sa vyskytujú po celom tele.** Na tvári sú pozorované výrazné prejavy ochorenia tzv. levia tvár (facies leonina). Infikovanému jedincovi sa **postupne prepadáva nos a mizne obočie**. **Postihnuté sú aj viečka očí**, čo vedie k slepote. Rovnako sú zasiahnuté **prsty na končatinách**, ktoré sa postihnutému časom **deformujú a postupne skracujú** (Kulkami, 2008). *M. leprae* sa diagnostikuje na základe výsledkov biopsie kože a/alebo detekciou DNA patogénu použitím PCR metódy (Suzuki a kol., 2012). Okrem *M. leprae* je pôvodcom tzv. difúznej lepromatóznej lepry v Mexiku a karibskej oblasti aj mykobaktéria *M. lepromatosis*.

Najčastejšiu príčinou infekčného ochorenia **tuberkulóza (TBC)** je ***M. tuberculosis*** (Ryan a Ray, 2004). Baktéria bola identifikovaná v ľudských pozostatkoch pochádzajúcich z východného Stredomoria z obdobia 7000 rokov p.n.l., ako aj v egyptských múmiách z obdobia 3000 až 2400 rokov p.n.l. (Barreiro a kol., 2012). O jej objav sa v roku 1882 zaslúžil Robert Koch, vďaka čomu je často označovaná aj ako „Kochov" bacil. Genóm *M. tuberculosis* bol kompletne osekvenovaný už roku 1998 (Cole a kol., 1998; Camus a kol., 2002). **Tuberkulóza** (TBC) je vo všeobecnosti známa ako **choroba pľúc (pľúcna TBC)**, ale môže postihnúť aj iné časti tela (mimopľúcna TBC) (WHO, 2015). V prípade, že u infikovaného jedinca nie sú pozorované príznaky TBC, hovoríme o latentnej tuberkulóze. V približne 10% prípadov prechádza na aktívnu formu, ktorá sa prejavuje najmä **chronickým kašľom produkujúcim hlien s krvou, teplotou, nočným potením a viditeľnou stratou hmotnosti** (WHO, 2015). Infekcia iných orgánov sa prejavuje širokou škálou symptómov. Ochorenie sa **šíri** z infikovaných jedincov **vzduchom**, napr. pri rozprávaní, kašľaní a kýchaní. Zriedkavo dochádza k infikovaniu potravou. Diagnostika aktívnej formy ochorenia je založená na výsledkoch RTG (röntgenu) hrudníka, tuberkulínovej reakcii (reakcia založená na oneskorenej alergickej reakcii po injikovaní purifikovaného proteínového derivátu pripraveného extrakciou *M. tuberculosis* do kože), kultivácii baktérii zo vzoriek biologického materiálu (najčastejšie hlienu) a iných metódach (Konstantinos, 2010). Od roku 1953 je u nás nariadené povinné očkovanie vakcínou Bacillus Calmette-Guérin (BCG), ktorá u detí znižuje riziko infekcie približne o 20% a riziko prechodu latentnej TBC na aktívnu formu takmer o 60% (Roy a kol., 2014). Ide o svetovo najpoužívanejšiu vakcínu, pričom až okolo 90% detí je v súčasnosti očkovaných (Lawn a Zumla, 2011).

16.8.2 *Corynebacterium* spp.

Corynebacterium diptheriae (rad Corynebacteriales, v niektorých systémoch rad Mycobacteriales, prípadne Actinomycetales, čeľaď Corynebacteriaceae) je pôvodcom ochorenia **difténia (záškrt)** (Hoskisson, 2018). Táto baktéria je známa tiež ako Klebs-

Löfflerov bacil na počesť nemeckých bakteriológov Edwina Klebsa a Friedricha Löfflera, ktorí ju v roku 1884 objavili. Ide o **Gram-pozitívnu, pleomorfnú** (s rôznorodou morfológiou, mnohotvárna), **nemotilnú** baktériu **tyčinkovitého tvaru**, ktorá **nevytvára spóry** (CDC, 2017a,b). Známe sú štyri poddruhy druhu *C. diptheriae* – *C. diptheriae* subsp. *mitis*, *C. diptheriae* subsp. *intermedius*, *C. diptheriae* subsp. *belfanti* a *C. diptheriae* subsp. *gravis*. Líšia sa najmä morfológiou kolónií a biochemickými vlastnosťami ako napr. schopnosťou metabolizovať niektoré živiny. Všetky poddruhy môžu vyvolávať difteriu.

Toxické kmene *C. diptheriae* **produkujú difterický toxín**. Gén pre syntézu tohto toxínu tieto kmene získali v procese horizontálneho génového transferu od baktériofágov v procese transdukcie. Bakteriofág je v týchto kmeňoch inzertovaný do genomickej DNA ako tzv. profág. Difterický toxín je exotoxín (vylučovaný z tohto patogénu do vonkajšieho prostredia), ktorý má dve podjednotky A a B viažuce sa disulfidickými väzbami. Zložka B slúži na naviazanie na povrch eukaryotickej bunky a umožní preniknutie komplexu A-B do bunky endocytózou. Podjednotka A v cytoplazme inaktivuje eukaryotický translačný elongačný faktor eEF-2, čím dochádza k pozastaveniu proteosyntézy hostiteľskej bunky transdukcie (Wagner a Waldor, 2002).

Symptómy difterie nastupujú obyčajne do piatich dní od infikovania (Atkinson, 2012). Zahŕňajú najmä **teplotu, zimnicu, únavu, cyanózu (**modrasté až tmavomodré sfarbenie sliznic a kože)**, bolesti v krku, chrapot, kašeľ a ťažkosti s prehĺtaním a**/alebo **dýchaním,** prípadne opuchnutý krk v dôsledku zväčšenia lymfatických uzlín. V priebehu dvoch až troch dní môže patogén zničiť zdravé tkanivo dýchacej sústavy. Mŕtve tkanivo, **hustý šedý povlak**, tvorí tzv. „pseudomembránu“, ktorá **pokrýva mandle, nos, hlasivky a hrdlo**, čo komplikuje dýchanie a prehĺtanie. Symptómy v niektorých prípadoch zahŕňajú aj srdcovú arytmiu, myokarditídu (zápal srdcového svalu), ako aj stratu alebo zníženú funkcia kraniálnych (hlavových) a periférnych nervov. **Infekcia sa** najčastejšie **šíri vzduchom** a tekutinami produkovanými postihnutým pri kašľaní, kýchaní a rozprávaní (CDC, 2014b). Zoonotický prenos patogénu nie je doposiaľ exaktne vedecky podložený. Táto možnosť je však podporená nálezom baktérie *Corynebacterium ulceran* v telách niektorých zvierat (Hogg a kol., 2009). Ako prevencia proti ochoreniu je používaná tzv. pentavalentná vakcína Quinwaxem, ktorá je kombináciou piatich individuálnych vakcín. Poskytuje ochranu nielen pred záškrtom, ale aj pred baktériou *Haemophilus influenzae* typu b, pred tetanom, pertussis (čiernemu kašľu) a žltačkou typu B.

16.9 Patogénne Tenericutes rodu *Mycoplasma*

Do rodu ***Mycoplasma*** (trieda Mollicutes, rad Mycoplasmatales, čeľaď Mycoplasmataceae) patria **malé** (0,15-0,3 μm) baktérie (Nikfarjam a Farzaneh, 2012), ktoré sa vyznačujú **absenciou bunkovej steny** (Ryan a Ray, 2004), čo do veľkej časti zodpovedá za ich **polymorfnú** (mnohotvárnu) **morfológiu**, ako aj za **prirodzenú rezistenciu voči antibiotikám atakujúcim baktériovú bunkovú stenu** ako penicilíny a iné betalaktámové antibiotiká (viď kapitola 17). Mykoplazmy sú síce blízko **príbuzné Gram-pozitívnym baktériám zo skupiny Firmicutes** (resp. sú podľa najnovších štúdií priamo ich súčasťou – viď kapitola 15.4.2.5), ale vzhľadom na neprítomnosť bunkovej steny ich **nie je možné farbiť Gramovým farbením**. Niektoré druhy sú saprofytické, iné parazitické. Primárnym **faktorom virulencie** patogénnych baktérií rodu *Mycoplasma* je **P1 antigén**, **membránový proteín**, ktorý **umožňuje adhéziu** patogénu **k epiteliálnym bunkám hostiteľa**.

Mykoplazmy rodov *Mycoplasma* a *Ureaplasma* nie sú prirodzenou súčasťou vaginálnej mikrobioty žien. ***M. genitalium*** bola izolovaná z infikovaných žien s baktériovou **vaginózou** (zápal vagíny spôsobený baktériami) a môžu **byť prenosné pohlavným stykom**

(Larsen a Hwang, 2010; Ljubin-Sternak a Meštrović, 2014; Wiesenfeld a Manhart, 2017). *M. hominis* tiež spôsobuje zápaly genitálií u ľudí, prípadne sterilitu u mužov.

Významným pôvodcom mykoplazmovej pneumónie, formy **atypickej baktériovej pneumónie** a iných respiračných ochorení je ***M. pneumoniae***. Baktéria *M. pneumoniae* bola prvýkrát izolovaná Nocardom a Rouxom už v roku 1898. K jej popísaniu došlo po opätovnej izolácií patogénu z pacienta s atypickou pneumóniou v roku 1944 (Waites a Talkington, 2004). Kompletne osekvenovaný genóm tohto patogénu je k dispozícii od roku 1996. Jeho veľkosť je len 816 394 bp (Himmelreich a kol., 1996), obsahuje 687 génov, pričom približne 56.6% kóduje esenciálne metabolické enzýmy (napr. nevyhnutné pre glykolýzu a fermentáciu organických kyselín) (Weisburg a kol., 1989; Romero-Arroyo a kol., 1999; Waites a Talkington, 2004; Wodke a kol., 2013). Medzi ďalšie druhy mykoplaziem, ktoré sú pôvodcami infekčných ochorení ľudí, patria napr. *M. orale, M. primatum, M. penetrans* a *M. lipophilum*.

Literatúra

ALDERWICK, L. J. a kol. 2015. The mycobacterial cell wall – Peptidoglycan and arabinogalactan. Cold Spring Harb Perspect Med 5, a021113.

ALLEN, L. A. 2003. Mechanisms of pathogenesis: evasion of killing by polymorphonuclear leukocytes. Microbes Infect 5, 1329-1335.

ALLERBERGER, F. 2003. *Listeria*: growth, phenotypic differentiation and molecular microbiology. FEMS Immunol Med Microbiol 35, 183-189.

ANSARUZZAMAN, M. a kol. 1995. Detection of provisional serovars of *Shigella dysenteriae* and designation as *S. dysenteriae* serotypes *14* and *15*. J Clin Microbiol 33, 1423-1425.

ANSTEAD, C. A. – CHILTON, N. B. 2013. A novel *Rickettsia* species detected in vole ticks (*Ixodes angustus*) from western Canada. Appl Environ Microbiol 79, 7583-7589.

ANTAL, G. M. – LUKEHART, S. A. – MEHEUS, A. Z. 2002. The endemic treponematoses. Microbes Infect 4, 83-94.

ARMSTRONG, R. W. – FUNG, P. C. 1993. Brainstem encephalitis (rhombencephalitis) due to *Listeria monocytogenes*: case report and review. Clin Infect Dis 16, 689-702.

ATKINSON, W a kol. 2012. Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. 12th edition. Washington DC: Public Health Fundation.

BAKKEN, J. S. – DUMLER, J. S. 2015. Human granulocytic anaplasmosis. Infect Dis Clin North Am 29, 341-355.

BARON, S. 1996. Medical microbiology. 4th edition. Galveston, TX: University of Texas Medical Branch.

BARREIRO, L. B. a kol. 2012. Deciphering the genetic architecture of variation in the immune response to *Mycobacterium tuberculosis* infection. Proc Natl Acad Sci USA 109, 1204-1209.

BARRETO, M. L. – TEIXEIRA, M. G. – CARMO, E. H. 2006. Infectious diseases epidemiology. J Epidemiol Community Health 60, 192-195.

BEARE, P. A. a kol. 2006. Genetic diversity of the Q Fever agent, *Coxiella burnetii*, assessed by microarray-based whole-genome comparisons. J Bacteriol 188, 2309-2324.

BEVERIDGE, T. J. 1990. Mechanism of gram variability in select bacteria. J Bacteriol 172, 1609-1620.

BHATTI, M. T. 2007. Optic neuropathy from viruses and spirochetes. Int Ophthalmol Clin 47, 37-66.

BLASER, M. J. 2006. Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. EMBO Rep 7, 956-960.
BOCKEMÜHL, J. 1994. 100 years after the discovery of the plague-causing agent – Importance and veneration of Alexandre Yersin in Vietnam today. Immun Infekt 22, 72-75.
BOCH, J. – BONAS, U. 2010. *Xanthomonas* AvrBs3 family-type III effectors: Discovery and function. Annu Rev Phytopatol 48, 419-436.
BOERLIN a kol. 1992. *L. ivanovii* subsp. *londoniensis* subsp. *novi*. Int J Syst Bacteriol 42, 69-73.
BRENNER, F. W. a kol. 2000. *Salmonella* nomenclature. J Clin Microbiol 38, 2465-2467.
BRODEY, C. L. a kol. 1991. Bacterial blotch disease of the cultivated mushroom is caused by an ion channel forming lipodepsipetide toxin. Mol Plant-Microbe Inter 4, 407-411.
BURTON, M. J. 2007. Trachoma: an overview. Br Med Bull 84, 99-116.
BUXTON, R. 2005. Blood agar plates and hemolysis protocols. American Society for Microbiology. Dostupné na: <https://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.2885>.
BYTZER, P. a kol. 2011. Diagnosis and treatment of *Helicobacter pylori* infection. Dan Med Bull 58, C4271.
CAMUS, J. C. a kol. 2002. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Microbiol 148 (Pt 10), 2967-2973.
CASADEVALL, A. – PIROFSKI, L. A. 1999. Host-pathogen interactions: redefining the basic concepts of virulence and pathogenicity. Infect Immun 8, 3703-3713.
CAVALIER-SMITH, T. 2002. The neomuran origin of archaebacteria, the negibacterial root of the universal tree and bacterial megaclassification. Int J Syst Evol Microbiol 52, 7-76.
CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2013a. Laboratory methods for the diagnosis of *Vibrio cholerae*. Dostupné na: <www.cdc.gov>.
CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2013b. Typhoid fever information for health professionals. Dostupné na: <www.cdc.gov>.
CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). 2013c. Gastrointestinal Anthrax. Dostupne na: <https://www.cdc.gov/anthrax/basics/types/gastrointestinal.html>.
CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2014a. Cutaneous anthrax. Dostupné na: <www.cdc.gov>.
CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2014b. Diphtheria causes and transmission. Dostupné na: <www.cdc.gov>.
CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2014c. Anthrax. Symptoms. Dostupné na: <www.cdc.gov>.
CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2015a. Meningococcal disease, epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. Dostupné na: <www.cdc.gov>.
CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2015b. Signs and symptoms. Tularemia. Dostupné na: <www.cdc.gov>.
CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2015c. Transmission. Tularemia. Dostupné na: <www.cdc.gov>.
CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2016a. *Legionella* (Legionnaires' disease and Pontiac fever). Causes and transmission. Dostupné na: <www.cdc.gov>.
CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2016b. *Legionella* (Legionnaires' disease and Pontiac fever). People at risk. Dostupné na: <www.cdc.gov>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2016c. *Legionella* (Legionnaires' disease and Pontiac fever). Diagnostic testing. Dostupné na: <www.cdc.gov>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2016d. *Legionella* (Legionnaires' disease and Pontiac fever). Prevention. Dostupné na: <www.cdc.gov>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. (CDC) 2016e. Listeriosis. Dostupné na: <www.cdc.gov>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2017a. Diphtheria. symptoms. Dostupné na: <www.cdc.gov>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2017b. Diphtheria infection. Dostupné na: <www.cdc.gov>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2017c. Detailed STD facts – Gonorrhea. Dostupné na: <www.cdc.gov>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2017d. Q fever. Dostupné na: <www.cdc.gov>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2018. Emergency preparedness and response. Bioterrorism agents/disease. Dostupné na: <www.cdc.gov>.

CENTER FOR INFECTIOUS DISEASE RESEARCH AND POLICY (CIDRAP) 2015. Study: Novel botulinum toxin less dangerous than thought. Dostupné na: <http://www.cidrap.umn.edu/news-perspective/2015/06/study-novel-botulinum-toxin-less-dangerous-thought>.

CERQUEIRA, G. M. – PICARDEAU, M. 2009. A century of *Leptospira* strain typing. Inf Gen Evol 9, 760-768.

CHAUDHURY, A. a kol. 1999. Enteropathogenicity and antimicrobial susceptibility of new *Escherichia* spp. J Diarrhoeal Dis Res 17, 85-87.

COLE, S. T. a kol. 1998. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. Nature 393, 537-544.

COLE, A. M. a kol. 2001. Determinants of *Staphylococcus aureus* nasal carriage. Clin Diagn Lab Immunol 6, 1064-1069.

COSFORD, K. L. 2018. *Brucella canis*: An update on research and clinical management. Can Vet J 59, 74-81.

CUNHA, B. A. – BURILLO, A. – BOUZA, E. 2016. Legionnaires' disease. Lancet 387, 376-385.

DARNTON, N. C. a kol. 2007. On torque and tumbling in swimming *Escherichia coli*. J Bacteriol 189, 1756-1764.

De HAAN, L. – HIRST, T. R. 2004. Cholera toxin: a paradigm for multi-functional engagement of cellular mechanisms (Review). Mol Membr Biol 21, 77-92.

DENNIS, D. T. a kol. 2001. Tularemia as a biological weapon: medical and public health management. JAMA 285, 2763-2773.

DI LALLO, G. a kol. 2014. Isolation and partial characterization of bacteriophages infecting *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, causal agent of kiwifruit bacterial cancer. J Basic Microbiol 54, 1210-1221.

DINGES M. M. – ORWIN, P. M. – SCHLIEVERT, P. M. 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev 13, 16-34.

DUNNE, W. M. – TILLMAN, J. – MURRAY, J. C. 1993. Recovery of a strain of *Agrobacterium radiobacter* with a mucoid phenotype from an immunocompromised child with bacteremia. J Clin Microbiol 31, 2541-2543.

DYLEWSKI, J. – DUONG, M. 2007. The rash of secondary syphilis. CMAJ 176, 33-35.

EBERTH, C. J. 1880. Die Organismen in den Organen bei *Typhus abdominalis*. Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin (in German) 1, 58-74.

ECCLESTON, K. – COLLINS, L. – HIGGINS, S. P. 2008. Primary syphilis. Int J STD AIDS19, 145-151.
EICHELMANN, K. a kol. 2013. Leprosy. An Update: Definition, pathogenesis, classification, diagnosis, and treatment. Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition) 104, 554-563.
ENG, S. K. a kol. 2015. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. Taylor & Francis Online 3, 284-293.
EVANGELISTA, K. V. – COBURN, J. 2010. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. Future Microbiol 5, 1413-1425.
FÁBREGA, A. – VILA, J. 2013. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium skills to succeed in the host: virulence and regulation. Clin Microbiol Rev 26, 308-341.
FACKLAM, R. 2002. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. Clin Microbiol Rev 15, 613-630.
FARUQUE, S. M. – NAIR, G. B. 2008. *Vibrio cholerae*: Genomics and molecular biology. Norfolk (UK): Caister Academic Press.
FEROOZ, J. – LETESSON, J. J. 2010. Morphological analysis of the sheathed flagellum of *Brucella melitensis*. BMC Res Notes 3, 333.
FISHER, K. – PHILLIPS, C. 2009. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. Microbiol 6, 1749-1757.
FRANCIS, E. 1921. Tularemia. I. The occurrence of tularemia in nature as a disease of man. Public Health Rep 36, 1731-1753.
FRIES, B. C. – VARSHNEY, A. K. 2013. Bacterial toxins – Staphylococcal Enterotoxin B. Microbiol Spectr 1, 10.
GAL-MOR, O. – BOYLE, E. C. – GRASSL, G. A. 2014. Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars differ. Front Microbiol 155, 391.
GARCIA-del PORTILLO, F. – FOSTER, J. W. – FINLAY, B. B. 1993. Role of acid tolerance response genes in *Salmonella typhimurium* virulence. Infect Immun 61, 4489-4492.
GILLESPIE, S. H. – HAWKEY, P. M. 2006. Principles and practice of clinical bacteriology. 2nd edition. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.
GILLET, Y. a kol. 2002. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. Lancet 359, 753-759.
GILMORE, M. S. – CLEWELL, D. B. 2002. The Enterococci: Pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance. Washington, D.C.: ASM Press.
GLOMSKI, I. J. a kol. 2007. Primary involvement of pharynx and peyer's patch in inhalational and intestinal anthrax. PLoS Pathog 3, e76.
GOODFELLOW, S. J. – BROWN, W. L. 1978. Fate of *Salmonella* inoculated into beef for cooking. J Food Prot 41, 598-605.
GRAY, M. L. – KILLINGER, A. H. 1966. *Listeria monocytogenes* and listeric infections. Bacteriol Rev 30, 309-382.
GUERRA, M. A. 2009. Leptospirosis. J Am Vet Med Assoc 234, 472-478.
GUILLET, C. a kol. 2010. Human listeriosis caused by *Listeria ivanovii*. Emerg Infect Dis 16, 136-138.
HAFNER, L. – BEAGLEY, K. – TIMMS, P. 2008. *Chlamydia trachomatis* infection: host immune responses and potential vaccines. Mucosal Immunol 1, 116-130.
HALE, T. L. – KEUSCH, G. T. 1996. *Shigella*. In Baron, S. (ed.), Medical microbiology. 4th edition. Galveston, TX: University of Texas Medical Branch.
HARDIE, K. R. – POMMIER, S. – WILHELM, S. 2009. The secreted proteins of *Pseudomonas aeruginosa*: Their export machineries, and how they contribute to

pathogenesis. In Woolridge, K. (ed.), Bacterial secreted proteins: secretory mechanisms and role in pathogenesis. Caister Academic Press.
HARPER, K. N. a kol. 2008. The sequence of the acidic repeat protein (arp) gene differentiates venereal from nonvenereal *Treponema pallidum* subspecies, and the gene has evolved under strong positive selection in the subspecies that causes syphilis. FEMS Immunol Med Microbiol 53, 322-332.
HARRISON, L. H. 2010. Epidemiological profile of meningococcal disease in the United States. Clin Infect Dis 50, Suppl 2, S37-S44.
HILDRETH, A. F. a kol. 2015. Evidence-based evaluation and management of patients with pharyngitis in the emergency department. Emerg Med Pract 17, 1-16.
HIMMELREICH, R. a kol. 1996. Complete sequence analysis of the genome of the bacterium *Mycoplasma pneumoniae*. Nucleic Acids Res 24, 4420-4449.
HITCHCOCK, P. J. – ROBINSON, E. N. – McGEE, Z. A. 1993. Neisseriae: Gonococcus and Meningococcus. In Schaechter, M. – Medoff, G. – Eisenstein, B.I. (eds), Mechanisms of microbial disease, 2nd edition. Baltimore: Williams & Wilkins.
HOFFMAN, B. L. a kol. 2012. Williams gynecology, 2nd edition. New York: McGraw-Hill Medical.
HOGG, R. A. a kol. 2009. Possible zoonotic transmission of toxigenic *Corynebacterium ulcerans* from companion animals in a human case of fatal diphtheria. Vet Rec 165, 691-692.
HOLLAND, S. a kol. 1987. Corneal ulcer due to *Listeria monocytogenes*. Cornea 6, 144-146.
HOLT, J. G. a kol. 1994. Group 17: gram-positive cocci. In Hensyl, W. R. (ed.), Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th edition. Baltimore, Md: Williams and Wilkins, 527-558.
HOSKISSON, P. A. 2018. Microbe profile: *Corynebacterium diphtheriae* – an old foe always ready to seize opportunity. Microbiol 164, 865-867.
HOWARD-JONES, N. 1984. Robert Koch and the cholera vibrio: a centenary. Br Med J 288, 379-381.
HUČKOVÁ, D. a kol. 2009. Možnosti včasnej diagnostiky pertussis. Pediatrická prax 4, 180-183.
HULSE, M. – JOHNSON, S. – FERRIERI, P. 1993. *Agrobacterium* infections in humans: experience at one hospital a review. Clin Infect Dis 16, 112-117.
CHAUDHURY, A. a kol. 1999. Enteropathogenicity and antimicrobial susceptibility of new *Escherichia* spp. J Diarrhoeal Dis Res 17, 85-87.
IZZARD, L. a kol. 2010. Isolation of a novel *Orientia* species (*O. chuto sp. nov.*) from a patient infected in Dubai. J Clin Microbiol 48, 4404-4409.
JACOMO, V. – KELLY, P. J. – RAOULT, D. 2002. Natural history of *Bartonella* in infections (an exceptiom to Koch's postulate). Clin Diagn Lab Immunol 9, 8-18.
JACQUIER, N. – VIOLLIER, P. H. – GREUB, G. 2015. The role of peptidoglycan in chlamydial cell division: towards resolving the chlamydial anomaly. FEMS Microbiol Rev 39, 262-275.
JANTSCH, J. – CHIKKABALLI, D. – HENSEL, M. 2011. Cellular aspects of immunity to intracellular *Salmonella enterica*. Immunol Rev 240, 185-195.
JARČUŠKA, P. a kol. 2009. Infekcie vyvolané chlamýdiami. Via pract 4, 147-152.
JARRELL, K. F. – McBRIDE, M. J. 2008. The surprisingly diverse ways that prokaryotes move. Nat Rev Microbiol 6, 466-476.
JIN, Z. a kol. 2007. *Haemophilus influenzae* type an infection and its prevention. Infect Immun 75, 2650-2654.
JONES, D. 1992. Current classification of the genus *Listeria*. *Listeria* 1992. Abstracts of ISOPOL XI, Copenhagen, Denmark. 7-8.

JOSEPH, S. J. a kol. 2015. Chlamydiaceae genomics reveals interspecies admixture and the recent evolution of *Chlamydia abortus* infecting lower mammalian species and humans. Genome Biol Evol 7, 3070-3084.

KAČÁNIOVÁ, M. – HLEBA, L. 2011. Základy bakteriológie. 1. vyd. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita.

KALMAN, S. a kol. 1999. Comparative genomes of *Chlamydia pneumoniae* and *C. trachomatis*. Nature Genet 21, 385-389.

KAPER, J. B. – O'BRIEN, A. D. 2014. Overview and historical perspectives. Microbiol Spectr 2, 3-13.

KENNEDY, W. A. a kol. 2007. Incidence of bacterial meningitis in Asia using enhanced CSF testing polymerase chain reaction, latex aglutination and culture. Epidemiol Infect 135, 1217-1226.

KENT, M. E. – ROMANELLI, F. 2008. Reexamining syphilis: an update on epidemiology, clinical manifestations, and management. Ann Pharmacother 42, 226-236.

KING, H. C. a kol. 2017. Environmental reservoirs of pathogenic mycobacteria across the Ethiopian biogeographical landscape. PLoS One 12, e0173811.

KLEMENT, C. a kol. 2011. Niektoré ochorenia spôsobené biologickými agensami, prichádzajúce do úvahy pri mimoriadnych situáciách vo verejnom zdravotníctve. Mimoriadne udalosti vo verejnom zdravotníctve. 1. vyd. Banská Bystrica: PRO.

KLUYTMANS, J. – VAN BELKUM, A. – VERBRUGH, H. 1997. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol Rev 10, 505-520.

KOEHLER, T. M. 2009. *Bacillus anthracis* physiology and genetics. Mol Aspects Med 30, 386-396.

KOLSTØ, A. B. – TOURASSE, N. J. – ØKSTAD, O. A. 2009. What sets *Bacillus anthracis* apart from other *Bacillus* species? Annu Rev Microbiol 63, 451-476.

KONSTANTINOS, A. 2010. Testing for tuberculosis. Aust Prescr 33, 12-18.

KRIEG, N. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol 1. Baltimore: Williams & Wilkins.

KUHNERT, P. – CHRISTENSEN, H. 2008. Pasteurellaceae: Biology, genomics and molecular aspects. Norfolk (UK): Caister Academic Press.

KULKAMI, G. S. 2008. Textbook of orthopedics and trauma. 2nd edition. New Delhi: Jaypee Brothers Publishers.

LANE, A. B. – DORE, M. M. 2016. Leptospirosis: A clinical review of evidence based diagnosis, treatment and prevention. World J Clin Infect Dis 6, 61-66.

LARSEN, B. – HWANG, J. 2010. *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, and adverse pregnancy outcomes: A fresh look. Infec Dis Obstet Gynecol 2010, 521921.

LAST, J. M. 1998. A dictionary of epidemiology. 4th edition. New York: Oxford University Press.

LAURI, A. H. – LAUREL, E. G. 2011. Legionellosis (Legionnaires' disease & Pontiac fever) - Chapter 3 - 2012 Yellow Book - Travelers' Health - CDC.

LAWN, S. D. – ZUMLA, A. I. 2011. Tuberculosis. Lancet 378, 57-72.

LECLERCQ, A. a kol. 2019. *Listeria thailandensis* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 69, 74-81.

LEVETT, P. N. 2001. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 14, 296-326.

LEVINSON, W. 2014. Review of medical microbiology and immunology. 13th edition. New York.

LINA, G. a kol. 1999. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing Staphylococcus aureus in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis 29, 1128-1132.

LINDSTEDT, B. A. a kol. 2018. High frequency of hybrid *Escherichia coli* strains with combined Intestinal Pathogenic *Escherichia coli* (IPEC) and Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) virulence factors isolated from human faecal samples. BMC Infect Dis 18, 544.

LJUBIN-STERNAK, S. – MEŠTROVIĆ, T. 2014. *Chlamydia trachonmatis* and genital mycoplasmas: Pathogens with an impact on human reproductive health. J Pathog 2014, 183167.

LORENC, B. 2014. Streptokokové infekcie z pohľadu otorinolaryngológa. InVitro 1, 71-74.

MACO, V. a kol. 2004. Carrion's disease (*Bartonellosis bacilliformis*) confirmed by histopathology in the High Forest of Peru. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 46, 171-174.

MADIGAN, M. – MARTINKO, J. 2005. Brock biology of microorganisms. 11th edition. New Jersey: Prentice Hall.

MAGUIÑA, C. – GOTUZZO, E. 2000. Bartonellosis. New and old. Infect Dis Clin North Am 14, 1-22.

MANTUR, B. G. – AMARNATH, S. K. – SHINDE, R. S. 2007. Review of clinical and laboratory features of human brucellosis. Indian J Med Microbiol 25, 188-202.

MARKS M. – SOLOMON, A. W. – MABEY, D. C. 2014. Endemic treponemal diseases. Trans R Soc Trop Med Hygiene 108, 601-607.

MARÍN, F. a kol. 2011. *Erwinia aphidicola* isolated from commercial bean seeds (*Phaseolum vulgaris*). Phytoparasitica 39, 483.

MARTINÁSKOVÁ, K. – VORČÁKOVÁ, K. 2014. Infekčné ochorenia sprevádzané exantémom. Pediatr prax 15, 18-23.

MATTOO, S. – CHERRY, J. D. 2005. Molecular pathogenesis, epidemiology and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. Clin Microbiol 18, 326-382.

McMURRAY, D. N. 1996. *Mycobacteria* and *Nocardia*. In Baron S. (ed), Medical microbiology. 4th edition. Galveston, TX: University of Texas Medical Branch.

MEW, T. W. a kol. 1993. Focus on bacterial blight of rice. Plant Dis 77, 5-13.

MIKAS, J. 2017. Tlačové správy. ÚVZ SR: Odporúčania v súvislosti s prevenciou a znížením rizika nákazy salmonelózou. Dostupné na: <http://www.uvzsr.sk/index.php?option=com_content&view=article&id=3108:uvz-sr-odporuania-v-suvislosti-s-prevenciou-a-znienim-rizika-nakazy-salmonelozou&catid=56:tlaove-spravy&Itemid=627>.

MOTALEB, M. a kol. 2000. *Borrelia burgdorferi* periplasmic flagella have both skeletal and motility functions. Proc Natl Acad Sci USA 97,10899-10904.

MOTALEB, M. A. a kol. 2015. Spirochetal motility and chemotaxis in the natural enzootic cycle and development of Lyme disease. Curr Opin Microbiol 28, 106-113.

MOTYČKA, V. 2002. Doporučené postupy pro praktické lékaře. Česká lékařská společnosť Jana Evangelisty Purkyně. Projekt MZ ČR zpracovaný ČLS JEP za podpory grantu IGA MZ ČR 5390-3.

MULLOOLY, C. – HIGGINS, S. P. 2010. Secondary syphilis: the classical triad of skin rash, mucosal ulceration and lymphadenopathy. Int J STD AIDS 21, 537-545.

MZ SR (Ministerstvo zdravotníctva SR). 2010. Vestník 58, 1-3. Dostupné na: <http://www.health.gov.sk/?vestniky-mz-sr>.

NASH, A. 2015. Mims´ pathogenesis of infectious disease. 6th edition. London: Academic Press.

NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE (NHLBI). 2018. Pneumonia. Workshop on pulmonary complications of pediatric hematopoietic stem cell

transplantation – Executive summary. Dostupné na: <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/pneumonia>.
NG, L.-K. – MARTIN, I. E 2005. The laboratory diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae*. Can J Infect Dis Med Microbiol 16, 15-25.
NIKFARJAM, L. – FARZANEH, P. 2012. Prevention and detection of *Mycoplasma* contamination in cell culture. Cell J 13, 203-212.
NOVÁKOVÁ, E. 2017. *Clostridium botulinum*. REVUE medicíny v praxi 3, 1-4.
NUNES, A. – GOMES, J. P. 2014. Evolution, phylogeny, and molecular epidemiology of *Chlamydia*. Inf Genet Evol 23, 49-64.
O'CONNELL, C. M. – FERONE, M. E. 2016. *Chlamydia trachomatis* Genital infection. Microb Cell 3, 390-403.
O'DONNELL, J. A. – GELONE, S. P. 2009. Pelvic inflammatory disease. Infobase Publishing.
OVERZIER, E. a kol. 2013. Detection of tick-borne pathogens in roe deer (*Capreolus capreolus*), in questing ticks (*Ixodes ricinus*), and in ticks infesting roe deer in southern Germany. Ticks Tick Borne Dis 4, 320-328.
PATEL, M. – LEE, C. K. 2005. Polysaccharide vaccines for preventing serogroup A meningococcal meningitis. Cochrane Databasa Syst Rev 1, CD001093.
PECK, M. W. 2009. Biology and genomic analysis of *Clostridium botulinum*. Adv Microb Physiol 55, 183-265.
PERLMAN, S. J. – HUNTER, M. S. – ZCHORI-FEIN, E. 2006. The emerging diversity of '*Rickettsia*'. Proc Biol Sci 273, 2097-2106.
PHIN, N. a kol., 2014. Epidemiology and clinical management of Legionnaires' disease. Lan Inf Dis 14, 1011-1021.
PICARDEAU, M. a kol. 2001. First evidence for gene replacement in *Leptospira spp.* Inactivation of *L. biflexa flaB* results in non-motile mutants deficient in endoflagella. Mol Microbiol 40, 189–199.
PICARDEAU M. a kol. 2014. Rapid tests for diagnosis of leptospirosis: current tools and emerging technologies. Diagn Microbiol Infect Dis 78, 1-8.
PIEN, F. D. a kol. 1985. Colonization of human wounds by *Escherichia vulneris* and *Escherichia hermannii*. J Clin Microbiol 22, 283-285.
POLJAK, V. 2001. Antrax. Psychiatrie pro prax 5, 198-200.
POLLARD, A. J. – MAIDEN, M. C. J. 2001. Menningococcal vaccines: Methods and protocols. New Jersey: Humana press.
POLLITT, E. J. G. – CRUSZ, S. A. – DIGGLE, S. P. 2015. *Staphylococcus aureus* forms spreading dendrites that have characteristics of active motility. Sci Rep 5, 17698.
POSPÍŠIL, L. – ČANDERLE, J. – ZEMAN, K. a kol. 2003. Sérologická studie aterosklerozy a vaskulárních komplikací. Epidemiol Mikrobiol Imunol 52, 142-146.
PROKŠOVÁ, M. – CÍCHOVÁ, M. 2012. Voda z kohútika a *Pseudomonas aeruginosa*. Sborník konference Pitná voda. Č. Budějovice: W&ET Team, 199-204.
RADOLF, J. D. a kol. 2012. Of ticks, mice and men: understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes. Nat Rev Microbiol 10, 87–99.
RASMUSSEN, T. – JENSEN, R. B. – SKOVGAARD, O. 2007. The two chromosomes of *Vibrio cholerae* are initiated at different time points in the cell cycle. EMBO J 26, 3124-3131.
READ, T. D. a kol. 2003. The genome sequence of *Bacillus anthracis* Ames and comparison to closely related bacteria. Nature 423, 81-86.
RODRIGUEZ-R, L. M. a kol. 2012. Genomes-based phylogeny of the genus *Xanthomonas*. BMC Microbiol 12, 43.

ROMERO-ARROYO, C. E. a kol. 1999. *Mycoplasma pneumoniae* protein P30 is required for cytadherence and associated with proper cell development. J Bacteriol 181, 1079-1087.
ROPER, M. H. a kol., 2013. Tetanus toxoid. In Plotkin, S. A. – Orenstein, W. A. – Offit, P. A., Vaccines. 6th edition. Elsevier, 746-772.
ROY, A. a kol. 2014. Effect of BCG vaccination against *Mycobacterium tuberculosis* infection in children: systematic review and meta-analysis. BMJ 349, g4643.
RUTTER, P. – NEWBY, D. 2015. Community pharmacy. Australia and New Zealand edition. 3rd edition. Symptoms, diagnosis and treatment. Elsevier Health Sciences.
RYAN, K. J. – RAY, C. G. 2004. Sherris medical microbiology. 4th edition. McGraw Hill Medical.
SADOWSKA-PRZYTOCKA, A. a kol. 2016. Ocular manifestations of infectious skin diseases. Clin Derm 34, 124-128.
SAIDA, K. a kol. 2015. Exfoliative toxinA staphylococcal scalded skin syndrome in preterm infants. Eur J Pediatr 174, 551-555.
SAUERBAUM, S. – MICHETTI, P. 2002. *Helicobacter pylori* infection. N Engl J Med 347, 1175-1186.
SCHLEIFER, K. H. – KILPPER-BALZ, R. 1984. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. Int J Syst Bacteriol 34, 31–34.
SCHUTZE, G. E. a kol. 2007. Human monocytic ehrlichiosis in children. Pediatr Infect Dis J 26, 475-479.
SENOK, A. C. a kol. 2009. Probiotics for the treatment of bacterial vaginosis. Cochrane Database Syst Rev 4, CD006289.
SESHADRI, R. a kol. 2003. Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. Proc Natl Acad Sci USA 100, 5455-5460.
SHAPIRO, E. D. 2014. Clinical practice. Lyme disease. N Engl J Med 370, 1724-1731.
SINGLETON, P. 1999. Bacteria in biology, biotechnology and medicine. 5th edition. Wiley.
SJÖDIN, A. a kol. 2012. Genome characterisation of the genus *Francisella* reveals insight into similar evolutionary paths in pathogens of mammals and fish. BMC Genomics 13, 268.
SLACK, M. P. a kol. 1998. Enhanced surveillance of invasive *Haemophilus influenzae* disease in England, 1990 to 1996: impact of conjugate vaccines. Pediatr Infect Dis J 17, Suppl S204-S207.
SOBEL, J. 2005. Botulism. Clin Infect Dis 41, 1167-1173.
SPEARS, K. J. – ROE, A. J. – GALLY, D. L. 2006. A comparison of enteropathogenic and enterohaemorrhagic *E. coli* pathogenesis. FEMS Microbiol Lett 255, 187-202.
SPENCER, R. C. 2003. *Bacillus anthracis*. J Clin Pathol 56, 182-187.
SU, L. H. – CHIU, C. H. 2007. *Salmonella*: clinical importance and evolution of nomenclature. Chang Gung Med J 30, 210-219.
STIMSON, A. M. 1907. Note on an organism found in yellow-fever tissue. Pub Health Rep 18, 1896-1970.
SUZUKI, K. a kol. 2012. Current status of leprosy: epidemiology, basic science and clinical perspectives. J Dermatol 39, 121-129.
SUZUKI, T. – SASAKAWA, CH. 2001. Molecular basis of the intracellular spreading of *Shigella*. Infect Immun 69, 5959-5966.
SWANSON, M. S. – HAMMER, B. K. 2000. *Legionella pneumophila* pathogesesis: a fateful journey from amoebae to macrophages. Annu Rev Microbiol 54, 567-613.
SÝKORA, J. 2006. *Helicobacter pylori* a gastrointestinální projevy u dětí. Pediatria pre prax 2, 68-74.

ŠIŠKOVÁ, Ľ. 2006. Riziká a ochorenia na dovolenkách. Via pract 7/8, 362-364.
ŠPALEKOVÁ, M. 2010. Legionelózy – klinický obraz, epidemiológia, diagnostika a liečba. Via pract 4, 155-158.
TALEBI BEZMIN ABADI, A. T. B. 2014. *Helicobacter pylori*: A beneficial gastric pathogen? Front Med (Lausanne) 1, 26.
THE CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH (CFSPH) 2013. Leptospirosis. Dostupné na: <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/disease.php?name=leptospirosis&lang=en>.
THÉODORIDÈS, J. 1966. Casimir Davaine (1812-1882): a precursor of Pasteur. Med Hist 10, 155-165.
THOMPSON, F. L. a kol. 2005. Phylogeny and molecular identification of vibrios on the basis of multilocus sequence analysis. Appl Environ Microbiol 71, 5107-5115.
TIMONEY, J. F. a kol. 1988. Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals: With reference to etiology, epizootiology, pathogenesis, immunity, diagnosis, and antimicrobial susceptibility. New York: Cornell University Press.
TONG, S. Y. a kol. 2015. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev 28, 603-661.
TORTORA, G. – FUNKE, B. R. – CASE, CH. L. 2016. Microbiology: An Introduction. 12th edition. Pearson.
TOTH, I. K. a kol. 2003. Soft rot erwiniae: from genes to genomes. Mol Plant Pathol 4, 17-30.
UNITED STATES NATIONAL INSTITUTE OF ALLERGY AND INFECTIOUS DISEASES (NIAID). 2011. Vaccines are our most effective and cost-saving tools for disease prevention, preventing untold suffering and saving tens of thousands of lives and bilions of dollars in healthcare costs each year. A CDC framework for preventing infectious diseases. Archived 2017-08-29 at the Wayback Machine Accessed 11 September 2012.
VAN ERGMENGEM, E. 1897. Über einen neuen anaeroben *Bacillus* und seine Beziehungen zum Botulismus. Zentralbl Hyg Infektionskr 26, 1-8.
WAGNER, P. L. – WALDOR, M. K. 2002. Bacteriophage control of bacterial virulence. Infect Immun 70, 3985-3993.
WALKER, D. H. 1996. Rickettsiae. In Baron S. (ed.), Medical microbiology. Galveston, TX: University of Texas Medical Branch.
WAITES, K. B. – TALKINGTON, D. F. 2004. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen. Clin Microbiol Rev 17, 697-728.
WEBB, R. P. – SMITH, L. A. 2013. What next for botulism vaccine development? Expert Rev Vaccines 12, 481-492.
WEISBURG, W. G. a kol. 1989. A phylogenetic analysis of the mycoplasmas: basis for their classification. J Bacteriol 171, 6455-6467.
WIESENFELD, H. C. – MANHART, L. E. 2017. *Mycoplasma genitalium* in women: Current knowledge and research priorities for this recently emerged pathogen. J Infect Dis 216, Suppl 2, S389-S395.
WEISS, E. – STRAUSS, B. S. 1991. The life and career of Howard Taylor Ricketts. Rev Infect Dis 13, 1241-1242.
WHITELOCK-JONES, L. – CARSWELL, J. – RASMUSSEN, K. C. 1989. *Listeria* pneumonia. A case report. S Afr Med J = Suid-Afrikaanse Tydskrif Vir Geneeskunde 75, 188-189.
WIILLIAMS, D. – CHURCHILL, D. 2006. Ulcerative proctitis in men who have sex with men: an emerging outbreak. BMJ 332, 99-100.

WODKE, J. A. H. a kol. 2013. Dissecting the energy metabolism in *Mycoplasma pneumoniae* through genome-scale metabolic modeling. Mol Syst Biol 9, 653.

WOODSON, J. CDC. 2016. Food safety. Dostupné na: <https://www.cdc.gov/foodsafety/diseases/staphylococcal.html>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 2005. The control of neglected zoonotic diseases: a route to poverty alleviation. Report of a Joint WHO/DFID-AHP Meeting with the participation of FAO and OIE. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 2006. Shigellosis. State of the art of new vaccine research and development. Immunization, vaccines and biologicals, 10-12.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 2007. *Legionella* and the prevention of legionellosis. Dostupné na: <https://www.who.int/water_sanitation_health/emerging/legionella.pdf>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 2015. Tuberculosis fact sheet N°104. Retrieved 11 February 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 2017a. Plague. Dostupné na: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/plague>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 2017b. Fact sheet. Botulism. Dostupné na: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/botulism>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 2018a. Salmonella (non-typhoidal). Dostupné na: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2018b. Cholera. Dostupné na: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cholera>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 2018c. Cholera vaccines: WHO position paper. Vaccine 24, 3418-3420.

WYKA, K. A. – MATHEWS, P. J. – RUTKOWSKI, J. 2011. Foundations of respiratory care. 2nd edition. New York: Cengage Learning.

YABUUCHI, E. 2002. *Bacillus dysentericus* (sic) 1897 was the first taxonomic rather than *Bacillus dysenteriae* 1898. Int J Syst Evol Microbiol 52 (Pt 3), 1041.

YANG, Z. a kol. 1990. A new serotype of *Shigella boydii*. [In Chinese]. Wei Sheng Wu Xue Bao 30, 284-295.

YOUNG – J. M. 1970. Drippy gill: a bacterial disease of cultivated mushrooms caused by *Pseudomonas agarici* n. sp. NZ J Agric Res 13, 977-990.

ZEAITER, Z. – LIAG, Z. – RAOULT, D. 2002. Genetic classification and differentiation of *Bartonella* species based on comparison of partial ftsZ gene sequences. J Clin Microbiol 40, 3641-3647.

17 ANTIBIOTIKÁ

Alexandra Lukáčová, Barbora Kostolanská, Matej Vesteg

Antibiotiká (z gr. anti – proti, bios – živý) sú **organické látky syntetizované mikroorganizmami**, najmä baktériami a hubami (tzv. prírodné alebo prirodzené antibiotiká), ktoré už pri nízkych koncentráciách **inhibujú rast iných druhov mikroorganizmov, prevažne baktérií**, **prípadne spôsobujú ich smrť** (Simon a Stille, 1998). Hoci sa antibiotiká sa **v medicíne** používajú **najmä na liečenie ochorení spôsobených baktériami**, v prírode slúžia antibiotiká mikroorganizmom najmä na to, aby sa zbavili konkurentov, ktorí by ich mohli pripraviť o živiny (Hibbing a kol., 2010; Künzler, 2018).

Schopnosť syntetizovať niektoré antibiotiká majú okrem mikroorganizmov a húb aj niektoré suchozemské rastliny a niektoré bezstavovce (napr. hmyz). Príkladom sú **fytoncídy produkované rastlinami**, ktoré však nie sú priamo používané na liečbu ľudských ochorení, ale slúžia rastlinám **na ochranu pred baktériami, hubami a hmyzom** (Tomko a kol., 1999). V súčasnosti je látky s antimikrobiálnym účinkom možné pripraviť aj synteticky, chemickou cestou. Takéto látky sa niekedy zvyknú označovať aj ako syntetické antibiotiká. Vhodnejší všeobecný názov pre **umelo pripravené látky využívané v medicíne** (vrátane syntetických látok s antimikrobiálnym účinkom) je však **chemoterapeutiká**, pretože z tohto termínu je zrejmé, že nejde o prírodné antibiotiká produkované mikroorganizmami. **Polosyntetické chemoterapeutiká** (niekedy označované aj ako polosyntetické antibiotiká) sú **vyrábané chemickou úpravou antibiotík produkovaných mikroorganizmami**. Niektoré antibiotiká, ktoré sú prirodzene produkované mikroorganizmami, je možné tiež vyrobiť v chemických a farmaceutických laboratóriách, a to najmä vďaka ich jednoduchej chemickej štruktúre (Zahradnický, 1982).

To, že existujú látky, ktoré majú negatívny vplyv na život mikroorganizmov, sa predpokladalo pomerne dávno. Už v staroveku ľudia využívali pri liečení hnisavých infekčných rán látky rastlinného pôvodu, hoci netušili, že pôvodcami infekcií sú patogénne mikroorganizmy. Taktiež existujú dôkazy zo 17. storočia, kedy sa pri liečení malárie používal extrakt kôry chinínovníka obsahujúci zmes rôznych alkaloidov. Jedným z najvýznamnejších bol chinín, ktorý je toxický pre prvoky (jednobunkové eukaryoty) z rodu *Plasmodium*, pôvodcov malárie (Hejzlar a kol., 1985). Bol to však až objav penicilínu, ktorý odštartoval pátranie po nových látkach s antimikrobiálnym účinkom. Oficiálne prvé antibiotikum **penicilín** (konkrétne benzylpenicilín, resp. penicilín G) bolo objavené v roku 1928 škótskym mikrobiológom **Alexandrom Flemingom** (1881 – 1955), ktorému bola za tento objav udelená v roku 1945 Nobelova cena (Ebringer, 1978). Na konci tridsiatych rokov minulého storočia izoloval René J. Dubos z baktérie *Bacillus brevis* ďalšie antibiotikum **tyrotricín** účinné najmä proti Gram-pozitívnym baktériám (Dubos, 1942). Neskôr bolo popísané, že táto antibakteriálna látka obsahuje dve základné zložky približne 15% gramicidínu a 85% tyrocidínu, ktorý sa vyznačuje určitým stupňom účinnosti aj proti Gram-negatívnym baktériám (Lask, 1948). V štyridsiatych rokoch minulého storočia objavili **Selman A. Waksman** a **Albert Schatz** ďalšiu látku s antibakteriálnym účinkom produkovanú baktériou *Streptomyces griseus* –**streptomycín** (Comroe, 1978; Kingston, 2004). Streptomycín bolo prvé antibiotikum účinné proti pôvodcovi tuberkulózy *Mycobacterium turbeculosis* (Woodruff, 2014) Waksmanova výskumná skupina objavila aj vysoko účinnú antibiotickú látku **aktinomycín** (Waksman a Tishler, 1942). Waksman získal v roku 1952 Nobelovu cenu za fyziológiu a medicínu (Woodruff, 2014).

17.1 Klasifikácia antibiotík

Už od objavenia prvých antibiotík sa mikrobiológovia snažili o ich zatriedenie do skupín, či už podľa chemickej štruktúry, mechanizmu účinku, spektra aktivity, prípadne iných kritérií. Podľa toho, na ktorú skupinu patogénnych organizmov (mikroorganizmov) pôsobia, sa antibiotiká delia na:

a) antibakteriálne – pôsobiace proti baktériám,
b) antivirálne – pôsobiace proti vírusom,
c) antiprotozoálne – pôsobiace proti prvokom (Protista, Protozoa),
d) antifungálne – pôsobiace proti mnohobunkovým, prípadne jednobunkovým hubám, ako sú napr. kvasinky.

Vo väčšine literatúry o antibiotikách sa autori prikláňajú k tomu, aby sa pojmom antibiotiká označovali **len** tie **látky**, ktoré sú **účinné proti baktériám**, pričom malá skupina z nich pôsobí aj proti prvokom. **Antivirálne látky** sa častejšie označujú ako **antivirotiká**. **Pre látky pôsobiace proti hubám** sa požívajú najmä termíny **antimykotiká** (resp. antifungálne látky) a **fungicídy**. Pojmy **antimykotiká a antifungálne látky** sa využívajú najmä v oblasti **medicíny a farmácie** (napr. látky účinné proti kožným plesniam alebo vaginálnym kvasinkám), zatiaľ čo pojmom **fungicídy** sa označujú prevažne **látky účinné proti hubám, ktoré sú škodcami poľnohospodárskych rastlín**. Niektoré látky účinné proti hubám sú zároveň účinné aj proti niektorým parazitickým prvokom. V nasledujúcich podkapitolách kapitoly 17 sú popísané len antibiotiká účinné proti baktériám. **Antibiotiká pôsobiace proti baktériám nie sú účinné proti ochoreniam spôsobeným vírusmi ako napr. chrípka**.

Antibiotiká pôsobiace proti baktériám možno rozdeliť:

1. Podľa efektivity účinku

a) **baktericídne** antibiotiká – s baktericídnym účinkom, priamo **usmrcujú baktérie**,
b) **bakteriostatické** antibiotiká – s bakteriostatickým účinkom, **potláčajú rast a delenie baktérií**.

V prípade baktericídnych antibiotík dochádza k cielenému efektu spravidla do 24 hodín, zatiaľ čo pri bakteriostatických je to obyčajne o niečo neskôr, približne do 72 hodín. Medzi baktericídne antibiotiká patria napr. β-laktámové antitiobiká (penicilíny, cefalosporíny, monobaktamy, karbapenémy), aminoglykozidy, fluorochinolóny a chinolóny. Do skupiny bakteriostatických antibiotík sa zaraďujú napr. tetracyklíny a makrolidy. (Petrovičová a Šimkovičová, 2004). Rozdelenie antibiotík podľa efektivity účinku postupne stráca význam, keďže bakteriostatické antibiotiká môžu mať pri vysokých koncentráciách baktericídny účinok, podobne ako nízke koncentrácie baktericídnych antibiotík môžu pôsobiť bakteriostaticky (Zahradnický, 1982). Príkladom takéhoto antibiotika je chloramfenikol.

2. Podľa spektra účinku

a) antibiotiká **s úzkym spektrom účinku** – **pôsobia na malý** obmedzený **počet druhov** baktérií,

b) antibiotiká **so širokým spektrom účinku** – pôsobia **na väčšinu medicínsky významných baktérií**.

Medzi širokospektrálne antibiotiká patria napr. ampicilín, amoxicilín, augmentin, chinolóny (napr. levofloxacín, moxifloxacín) a cefalosporíny. Tieto antibiotiká pôsobia spravidla proti Gram-pozitívnym aj Gram-negatívnym baktériám (Ory, 1963). Medzi antibiotiká s úzkym spektrom účinku, ktoré pôsobia len na určitú špecifickú skupinu baktérií, patria napr. kolistín, polymyxín B (Kačániová a kol., 2018a), metronidazol a clindamycín.

3. **Podľa chemickej štruktúry** (viď kapitola 17.2)

Podľa chemickej štruktúry rozdeľujeme antibiotiká na: **β-laktámové antibiotiká, tetracyklíny, makrolidy, glykopeptidy, aminoglykozidy,** streptogramíny, chloramfenikoly, linkozamidy, polypeptidy, ansamycíny, chinolóny, antituberkulotiká, sulfónamidy, nitrofurány a nitroimidazoly (Petrovičová a Šimkovičová, 2004).

4. **Podľa mechanizmu účinku na baktérie** (viď kapitola 17.3)

a) antibiotiká **inhibujúce syntézu bunkovej steny**,
b) antibiotiká **poškodzujúce cytoplazmatickú membránu**,
c) antibiotiká **inhibujúce proteosyntézu**,
d) antibiotiká **inhibujúce syntézu nukleových kyselín**,
e) antibiotiká **inhibujúce metabolizmus** (Petrovičová a Šimkovičová, 2004).

17.2 Chemická štruktúra antibiotík

Biologická aktivita antibiotík je daná ich chemickou štruktúrou. Antibiotiká môžu byť z hľadiska chemickej štruktúry napr. **alicyklické** (cyklické uhľovodíky, ktoré nespĺňajú pravidlá aromaticity) a **aromatické uhľovodíky** (arény, uhľovodíky s delokalizovaným systémom π-elektrónov v rovinnej cyklickej molekule), **heterocyklické látky** tzv. heterocykly (organické látky tvorené minimálne jedným uhlíkovým cyklom, v ktorom je okrem uhlíka naviazaný aspoň jeden iný prvok, najčastejšie dusík, kyslík, prípadne síra), **chinóny** (cyklické zlúčeniny obsahujúce dve karbonylové skupiny konjugované s π-elektrónmi nenasýteného systému), **deriváty sacharidov** a **makrolidov** (viď kapitola 17.2.3), **polypeptidy a depsidopeptidy** (peptidy, v ktorých je jedna, prípadne viac amidových skupín C(O)NHR- nahradená príslušným esterom –C(O)OR) (Tomko a kol., 1999; IUPAC, 2014).

17.2.1 β-laktámové antibiotiká

β-laktámové antibiotiká sú látky s výrazným **baktericídnym účinkom**. Základom molekuly β-laktámov je **β-laktámový kruh** (obr. 17.1), ktorý podmieňuje ich biologickú aktivitu a zabezpečuje prienik antibiotických látok do mikroorganizmu (Tomko a kol., 1999). Mechanizmus účinku majú β-laktámové antibiotiká podobný. Podstatou je **inhibícia syntézy peptidoglykánu, ktorý je základnou súčasťou baktériovej bunkovej steny**, v štádiu bunkového rastu a delenia baktérií.

Medzi β-laktámové antibiotiká patria **penicilíny, cefalosporíny, monobaktamy a karbapenémy** (Tabuľka 17.1).

Tabuľka 17.1. Rozdelenie a príklady β-laktámových antibiotík a chemoterapeutík

Penicilíny	penicilín G penicilín V antistafylokokové penicilíny (napr. oxacilín, kloxacilín) aminopenicilíny (napr. amoxicilín, ampicilín) karboxypenicilíny (napr. tikarcilín) acylureidopenicilíny (napr. piperacilín)
Cefalosporíny	cefalosporíny I. generácie cefalosporíny II. generácie cefalosporíny III. generácie cefalosporíny IV. generácie
Monobaktamy	aztreonam
Karbapenémy	imipeném meropeném ertapeném doripenem biapenem

17.2.1.1 Penicilíny

Hlavnými producentmi penicilínov sú **niektoré plesne rodu *Penicillium***, a to najmä druh *Penicillium chrysogenum*, v minulosti známy ako *Penicillium notatum*. Produkcia penicilínu plesňami je podmienená inhibíciou ich rastu vyvolanou nepriaznivými podmienkami ak napr. nedostatok živín. Medzi hlavné typy penicilínov získavaných biosyntézou pomocou plesní patria predovšetkým **fenoxymetylpenicilín (penicilín V) a benzylpenicilín (penicilín G).** Niektoré druhy plesní rodu *Penicillium*, ktoré neprodukujú penicilín ako napr. *P. camemberti, P. roqueforti* alebo *P. candidum*, sú využívané pri výrobe tzv. plesňových syrov (napr. Camembert, Brie, Roquefort a Gorgonzola).

Pre výrobu nových typov tzv. polosyntetických penicilínov sa využíva najmä chemická syntéza z prírodných penicilínov. Ako prekurzor syntézy nových penicilínov je využívaná kyselina 6-aminopenicilánová, ktorá sa získava hydrolýzou penicilínu G, prípadne V za prítomnosti enzýmu penicilínamidázy. Kyselina 6-aminopenicilánová tvorí jadro molekuly (obr. 17.1A) všetkých penicilínových derivátov. Naviazaním rôznych bočných reťazcov na túto kyselinu sú získavané mnohé polosyntetické penicilíny (napr. oxacilín a meticilín) (Tomko a kol., 1999). Niektoré polosyntetické penicilíny ako napr. oxacilín a meticilín majú oproti prírodným penicilínom výhodu v tom, že sú rezistentné voči účinkom baktériových β-laktamáz, ktoré penicilíny rozkladajú (viď kapitola 17.4.4). Spektrum pôsobenia na rôzne druhy baktérií je špecifické pre jednotlivé polysyntetické penicilíny.

Aj napriek ich dlhoročnému používaniu a postupnému nárastu stupňa rezistencie baktérií sú penicilíny vďaka baktericídnemu pôsobeniu a relatívne malým nežiaducim

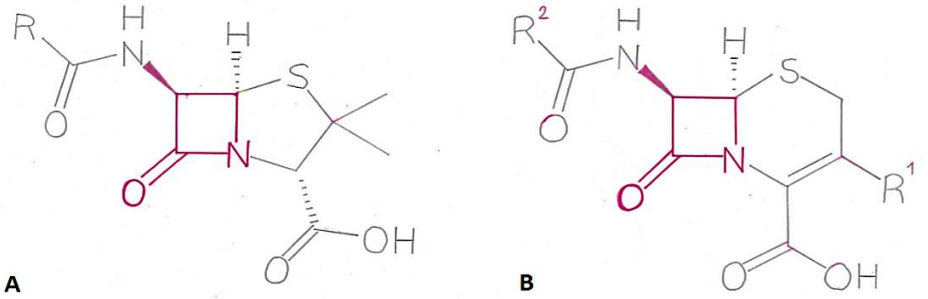
účinkom naďalej dôležitou súčasťou farmakologickej terapie v boji proti patogénnym baktériám.

17.2.1.2 Cefalosporíny

Celafosporíny sú antibiotiká pôvodne **získavané z húb rodu *Acremonium***, v minulosti známeho ako *Cephalosporium*. Základnou jednotkou molekuly cefalosporínov je kyselina 7-aminocefalosporánová (obr. 17.1B) (Tomko a kol., 1999).

Mechanizmus účinku cefalosporínových antibiotík je podobne ako v prípade penicilínov **inhibícia syntézy bunkovej steny baktérií** (viď kapitola 17.3.1), preto sa cefalosporíny, najmä cefalosporín C, používajú ako alternatíva u pacientov s alergiou na penicilíny (Kardos a Demain, 2011). V porovnaní s penicilínmi majú cefalosporíny navyše širšie spektrum účinku a sú odolnejšie voči β-laktamázam, enzýmom v periplazme baktérií, ktoré rozkladajú β-laktámový kruh príslušného antibiotika, čo vedie k inhibícii jeho účinku (viď kapitola 17.4.4).

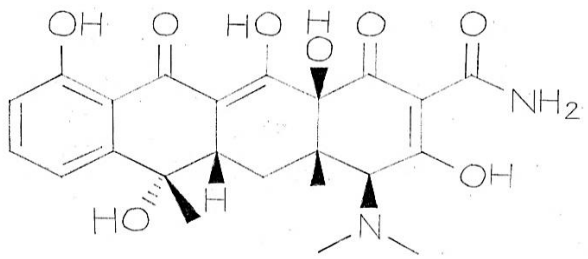
Medzi najpoužívanejšie polosyntetické cefalosporíny patria cefaloglycín, cefaloridín, cefalexín (Tomko a kol., 1999) a cefalotín, ktorý bol na farmaceutický trh uvedený ako prvý (Tamášová, 2013).



Obr. 17.1. Chemická štruktúra penicilínu (A) a cefalosporínu (B) so zvýrazneným β-laktámovým kruhom

17.2.2 Tetracyklíny

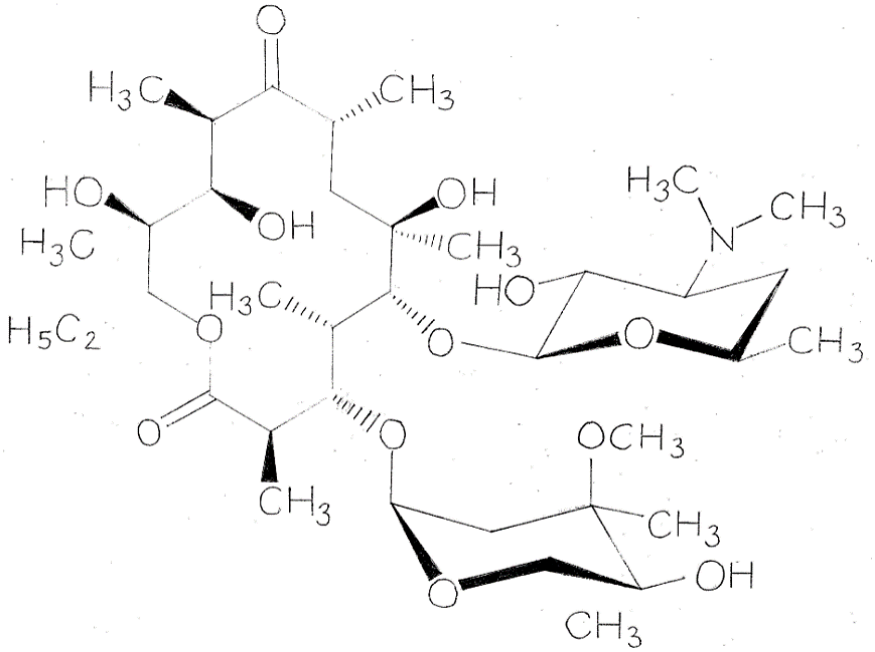
Tetracyklíny patria medzi **širokospektrálne bakteriostatické** antibiotiká, ktorých mechanizmom účinku je **inhibícia proteosyntézy**. Tetracyklíny sa získavajú priamo z niektorých druhov baktérií rodu *Streptomyces*. V súčasnosti sa už mnohé z nich pripravujú aj polosynteticky. Z chemického hľadiska tvorí základ molekuly tetracyklínov štvorčlenný („tetra“) hydronaftacénový kruh („cycle“) (obr. 17.2). Jednotlivé tetracyklíny sa navzájom odlišujú postrannými reťazcami (Simon a Stille, 1998). Najvýznamnejšími predstaviteľmi tejto skupiny antibiotík sú doxycyklín, oxytetracyklín, tetracyklín a rolitetracyklín (Wenke a kol., 1986).



Obr. 17.2. Chemická štruktúra hydronaftacénového jadra tetracyklínov

17.2.3 Makrolidy

Makrolidy patria medzi **bakteriostatické** antibiotiká, ktoré sú účinné len proti určitej skupine baktérií. Ide najmä o Gram-pozitívne baktérie (napr. *Streptococcus pneumoniae* a *Streptococcus pyogenes*), intracelulárne patogény (napr. *Mycoplasma pneumoniae* a *Chlamydia* sp.), niektoré Gram-negatívne baktérie (napr. *Haemophilus influenzae*) a atypické mykobaktérie. Chemická štruktúra makrolidov je pomerne zložitá. Základnou štruktúrnou jednotkou je **makrocyklický laktónový kruh** (Kučerová, 2010), na ktorý sa viažu neutrálne sacharidy (napr. kladinóza alebo mykaróza), prípadne aminosacharidy (napr. mykaminóza alebo forozamín) (Simon a Stille, 1998). Antibiotiká zaraďujúce sa do tejto skupiny sa od seba odlišujú veľkosťou laktónového kruhu, naviazanými sacharidovými zvyškami, ako aj postrannými reťazcami. Mechanizmom účinku makrolidou je **inhibícia baktériovej proteosyntézy**. Medzi makrolidové antibiotiká patrí napr. azitromycín, klaritromycín, roxitromycín, spiramycín, ako aj z nich najpoužívanejší **erytromycín** (obr. 17.4) (Simon a Stille, 1998).



Obr. 17.3. Erytromycín

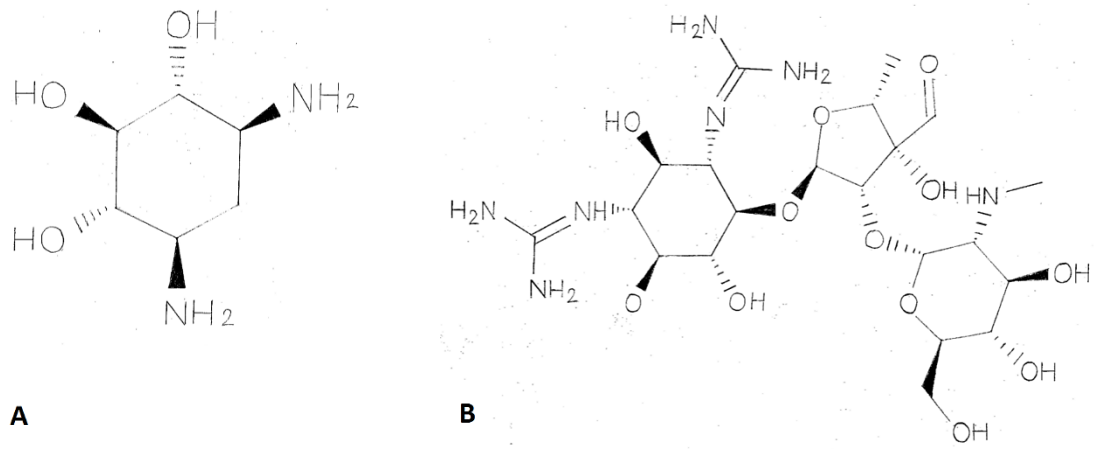
17.2.4 Glykopeptidy

Glykopeptidy sú antibiotiká pôsobiace **baktericídne** na deliace sa baktérie (Švihovec a kol., 2018). Využívajú sa na liečbu ochorení spôsobených Gram-pozitívnymi baktériami (napr. *Clostridium difficile*), anaeróbmi, ale aj multirezistentnými enterokokmi a stafylokokom ako napr. *Staphylococcus aureus* (Binda a kol., 2014; Švihovec a kol., 2018).

Glykopeptidy sú pomerne **komplikované zlúčeniny**. Z chemického hľadiska ide o **glykozylované cyklické alebo polycyklické peptidy**. Tieto peptidy však **nesyntetizujú ribozómy** (tzv. neribozomómová syntéza peptidov). Sú produkované rôznymi vláknitými aktinomycétami (Kang a Park, 2015). Mechanizmom účinku antibiotík tejto skupiny je inhibícia syntézy peptidoglykánu, ktorá vedie k **inhibícii syntézy baktériovej bunkovej steny**. V klinickej praxi má z glykopeptidových antibiotík najväčšie využitie najmä **vankomycín** a **teikoplanín**. Vankomycín je nasadzovaný pacientom infikovaných meticilín-rezistentnou patogénnou baktériou *Staphylococcus aureus* známou pod skratkou MRSA.

17.2.5 Aminoglykozidy

Aminoglykozidy sú **širokospektrálne baktericídne** antibiotiká, ktoré sú účinné najmä **proti Gram-negatívnym patogénnym baktériám** (Germovsek a kol., 2017). Mechanizmom ich účinku je **inhibícia proteosyntézy**. **Základom** molekuly bázických oligosacharidov aminoglykozidov je spravidla **2-deoxy-streptamín** (obr. 17.4A) alebo podobný cyklický aminoalkohol, na ktorý sa prostredníctvom glykozidovej väzby viažu ďalšie aminosacharidy (Simon a Stille, 1998). Známymi aminoglykozidovými antibiotikami sú neomycín, amikacín, gentamicín, tobramycín a **streptomycín** (obr. 17.4B) (Germovsek a kol., 2017). Všetky tieto látky sa odlišujú počtom a typom aminosacharidov (Simon a Stille, 1998). Streptomycín na rozdiel od väčšiny aminoglykozidov neobsahuje 2-deoxy-streptamín. Názov tohto antibiotika pochádza z aktinobaktérie *S. griseus* rodu *Streptomyces*, ktorá ho produkuje.



Obr. 17.4. 2-deoxystreptamín (A) a streptomycín (B)

17.3 Mechanizmy účinku antibiotík

Biologická aktivita antibiotík a antibakteriálnych chemoterapeutík závisí od viacerých faktorov, no v prvom rade je podmienená ich chemickou štruktúrou. Dôležitou podmienkou

ich účinku je naviazanie na konkrétne biologické štruktúry cieľového patogénu, od čoho sa ďalej odvíja mechanizmus účinku antibiotických látok (Betina a Nemec, 1977).

17.3.1 Inhibícia syntézy bunkovej steny baktérií

Bunková stena tvorí vonkajší obal bunky baktérií, ktorý udržuje jej tvar. Je elastická a zároveň dostatočne pevná na to, aby poskytovala bunke ochranu pred negatívnymi vplyvmi. Základnou stavebnou súčasťou bunkovej steny baktérií je **peptidoglykán mureín** (mukopeptid) (viď kapitola 15.2.5). **Antibiotiká**, **ktorých mechanizmom účinku je inhibícia bunkovej steny, ovplyvňujú deliace sa baktérie** a ich účinok na nerastúce bunky je takmer nulový (Hejzlar a kol., 1985).

β-laktámové antibiotiká a chemoterapeutiká ako penicilíny a cefalosporíny inhibujú poslednú fázu syntézy bunkovej steny baktérií. Prostredníctvom β-laktámového kruhu (obr. 17.1), ktorý je základnou stavebnou jednotkou β-laktámov, dochádza **k inhibícii** enzýmu **DD-transpeptidázy** (resp. „penicillin-binding protein“ – PBP) **nevyhnutného v procese „zosieťovania“ peptidoglykánu** – tvorby väzieb medzi postrannými peptidovými reťazcami peptidoglykánu.Výsledkom vplyvu uvedených antibakteriálnych látok môže byť zmena vo veľkosti a tvare bunky až rozpad (lýza) buniek baktérií (Kohanski a kol., 2010).

Gram-negatívne baktérie sú vo všeobecnosti odolnejšie voči β-laktámom ako Gram-pozitívne baktérie, a to aj napriek tomu, že ich bunková stena je podstatne tenšia. Za túto vyššiu odolnosť je pravdepodobne zodpovedná vonkajšia membrána nad bunkovou stenou Gram-negatívnych baktérií (Lüllmann a kol., 2004).

Ako **inhibítory syntézy bunkovej steny Gram-pozitívnych baktérií** pôsobia aj **glykopeptidové antibiotiká** (viď kapitola 17.2.4.). Glykopeptidy sa viažu na terminálnu časť acyl-D-ala-D-ala rastúceho reťazca peptidoglykánu, čím zabránia naviazaniu nových podjednotiek a inhibujú jeho kompletnú syntézu (Kang a Park, 2015).

Medzi **polypeptidové antibiotiká inhibujúce syntézu bunkovej steny** baktérií patrí napr. bacitracín. Syntéza polypeptidových antibiotiká prebieha podobne ako syntéza glykopeptidov bez účasti ribozómov (tzv. neribozomálne peptidy, z angl. „non-ribosomal peptides“). **Bacitracín** je cyklický polypeptid produkovaný baktériou *Bacillus subtilis*, ktorý vykazuje bakteriostatické aj baktericídne účinky v závislosti od jeho koncentrácie a citlivosti cieľovej baktérie (Nguyen a Sun, 2019). Podstatou jeho účinku je **inhibícia transportu stavebných jednotiek bunkovej steny z cytoplazmy cez cytoplazmatickú membránu do periplazmy**. Bacitracín pôsobí **na širokú škálu Gram-pozitívnych patogénnych baktérií** ako napr. stafylokoky, streptokoky, klostrídie, korynebaktérie a aktinomycéty (Nguyen a Sun, 2019), zatiaľ čo proti väčšine Gram-negatívnych baktérií s výnimkou gonokokov a meningokokov, je neúčinný (Johnson a kol., 1945).

Ďalším príkladom inhibítora syntézy bunkovej steny je antibiotikum **cykloserín**, ktorý predstavuje **cyklický štruktúrny analóg D-alanínu**, **jednej zo stavebných zložiek peptidoglykánu**. Podstata účinku tejto antibiotickej látky spočíva v **inhibícii enzýmov** alanín racemázy a D-alanín-D-alanín ligázy **nevyhnutných pre kompletnú syntézu peptidoglykánu.** Alanín racemáza je enzým nevyhnutný pre premenu L-alanínu na D-alanín. Úlohou D-alanín-D-alanín ligázy je tvorba väzby medzi vzniknutými molekulami D-alanínu (D-ala-D-ala). V prípade, že je aktivita enzýmov antibiotickou látkou blokovaná, k popísaným procesom nedochádza a syntéza peptidoglykánu a v konečnom dôsledku aj bunkovej steny baktérií je efektívne inhibovaná (Prosser a de Carvalho, 2013).

17.3.2 Poškodenie cytoplazmatickej membrány baktérií

Cytoplazmatická membrána obklopujúca cytoplazmu všetkých živých buniek je tvorenú **fosfolipidovou dvojvrstvou**. Na rozdiel od antibiotík a chemoterapeutík, ktoré inhibujú syntézu bunkovej steny, antibiotiká narúšajúce cytoplazmatickú membránu **môžu pôsobiť aj na nedeliace sa bunky baktérií**, teda ich účinok nie je limitovaný rastovými fázami jednotlivých kultúr (Krčméry a kol., 1980).

Medzi antibiotiká poškodzujúce cytoplazmatickú membránu baktérií patria **polypeptidy** ako napr. **polymyxín B, polymyxín E (kolistín) a tyrotricín**. Polypeptidové antibiotiká **pôsobia ako detergenty fosfolipidovej zložky biologických membrán**. Narušením integrity fosfolipidovej dvojvrstvy dochádza v konečnom dôsledku k bunkovej smrti.

Polymyxín B je antibiotická látka získavaná zo sporulujúcej pôdnej Gram-pozitívnej baktérie *Paenibacillus polymyxa*, známej tiež ako *Bacillus polymyxa*. Toto antibiotikum **narúša integritu vonkajšej a cytoplazmatickej membrány Gram-negatívnych baktérií**, čím dochádza k úniku nízkomolekulových látok do prostredia. Na Gram-pozitívne baktérie má len malý, prípadne žiadny účinok, keďže jeho prístup k cytoplazmatickej membráne je vzhľadom na hrubú vrstvu peptidoglykánu bunkovej steny zamedzený. Polymyxín B je toxický nielen pre membrány Gram-negatívnych baktérií, ale aj pre iné biologické membrány vrátane membrán živočíšnych buniek. Antibiotikum má nefrotoxický (toxický pre obličky) aj neurotoxický (toxický pre nervový systém) účinok. Vzhľadom na tieto vedľajšie účinky má polymyxín B len obmedzené použitie (Lüllmann a kol., 2004).

Cyklický polypeptid **kolistín (polymyxín E)** je antibiotická látka, ktorá bola prvýkrát izolovaná z baktérie *B. polymyxa* var. *colistinus*. Kolistín má **podobné vlastnosti a účinky ako polymyxín B**.

Sporulujúcou pôdnou baktériou *Bacillus brevis* je syntetizovaný **tyrotricín**, ktorý pozostáva z dvoch polypeptidov – **tyrocidínu** a **gramicidínu** (Lüllmann a kol., 2004). Vplyvom týchto polypeptidov dochádza k tvorbe pórov v biologických membránach. Pôsobí **najmä na Gram-pozitívne baktérie**. Vzhľadom na vysokú toxicitu je v súčasnosti tyrotricín využívaný v medicíne len obmedzene.

17.3.3 Inhibícia proteosyntézy baktérií

Proteosyntéza je proces syntézy nových molekúl bielkovín (proteínov) prebiehajúci na ribozómoch. Ide o **translácíu** (preklad genetickej informácie z mRNA do poradia aminokyselín v polypeptidovom reťazci proteínu), ktorá nasleduje po **transkripcii** (prepise genetickej informácie obsiahnutej v DNA do poradia nukleotidov mRNA (viď kapitola 9). Translácia pozostáva z troch krokov – **iniciácia** (začiatok) tvorby polypeptidového reťazca, **elongácia** (predlžovanie) polypeptidového reťazca a **terminácia** (ukončenie) tvorby polypeptidového reťazca. Iniciácii predchádza tvorba komplexu aktivovanej aminokyseliny s príslušnou tRNA a transport komplexu aminoacyl-tRNA na ribozóm. Po ukončení translácie sú realizované posttranslačné úpravy novosyntetizovaných proteínov.

Medzi **antibiotiká inhibujúce proces proteosyntézy** patria aminoglykozidy, tetracyklíny, chloramfenikol, makrolidy a linkozamidy. **Aminoglykozidy a tetracyklíny** narúšajú priebeh proteosyntézy svojou **väzbou s malou 30S podjednotkou** baktériového **ribozómu**, zatiaľ čo **chloramfenikol, makrolidy a linkozamidy väzbou** s veľkou **50S podjednotku** (Kohanski a kol., 2010). Väčšina antibiotík inhibujúcich proteosyntézu má **bakteriostatický účinok**.

Účinkom **aminoglykozidov** (napr. streptomycín, gentamycín a kanamycín) dochádza k **začleňovaniu nesprávnych aminokyselín do rastúceho polypeptidového reťazca** (Kačániová a kol., 2018a), prípadne predčasnému ukončeniu translácie, a tým k vzniku aberantných proteínov. Zabudovanie niektorých z nich do cytoplazmatickej membrány spôsobuje nárast jej permeability a stratu jej esenciálnych zložiek – k ireverzibilnému poškodeniu, ktoré vedie k lýze bunky. Aminoglykozidy **pôsobia najmä na Gram-negatívne aeróbne baktérie**.

Tetracyklíny (napr. oxytetracyklín a doxycyklín) sú **bakteriostatické** antibiotiká, ktoré sa **reverzibilne viažu na 30S podjednotku ribozómu, čím blokujú naviazanie aminoacyl-tRNA do aminoacylového (A) miesta ribozómu**. Výsledkom je inhibícia syntézy polypeptidového reťazca. Tetracyklíny môžu vytvoriť väzbu aj s 50S podjednotkou ribozómu a narušať integritu cytoplazmatickej membrány.

Chloramfenikol je **širokospektrálne bakteriostatické** antibiotikum, ktoré väzbou na 50S podjednotku ribozómu blokuje **peptidyltransferázovú aktivitu ribozómu** (Kačániová a kol., 2018a). Bráni tak vzniku peptidovej väzby medzi aminokyselinou a novovznikajúcim polypeptidovým reťazcom (Zuorro a kol., 2014). Podobný účinok majú aj **makrolidy** (napr. erytromycín a klaritromycín) a **linkozamidy** (napr. linkomycín a klindamycín). Makrolidy sú účinné najmä proti Gram-pozitívnym baktériám a linkozamidy len proti tejto skupine baktérií.

17.3.4 Inhibícia syntézy nukleových kyselín baktérií

Nukleové kyseliny sú prirodzenou súčasťou všetkých živých buniek. Základnou jednotkou nukleových kyselín je **nukleotid**, ktorý sa skladá zo **sacharidovej zložky** (ribóza, deoxyribóza), **dusíkatej bázy** a **zvyšku kyseliny fosforečnej**. Každá molekula nukleovej kyseliny je tvorená reťazcom nukleotidov. Existujú dva základné typy nukleových kyselín – **DNA a RNA** odlišujúce sa typom sacharidu a dusíkatých báz. Niektoré antibiotiká sú schopné inhibovať rôzne fázy syntézy DNA alebo RNA (viď kapitoly 5,8 a 9). Antibiotiká blokujú syntézu DNA **inhibíciou baktériového enzýmu DNA-gyrázy,** prípadne topoizomerázy IV so skupiny topoizomeráz II alebo priamou **väzbou na DNA baktérií**.

Medzi **látky inhibujúce reakcie katalyzované gyrázou** a/alebo topoizomerázou IV patria **chinolóny** a **fluorochinolóny so širokospektrálnym baktericídnym účinkom**. Gyráza a/alebo topoizomeráza IV sa zúčastňujú rozpletania DNA počas replikácie a transkripcie a sú potrebné aj pre separáciu dcérskych chromozómov baktérií po replikácii. Rozpletanie DNA pomocou týchto enzýmov prebieha opakovaním dvoch krokov – tvorbou zlomov v DNA a následnou ligáciou (spojením zlomov). **Chinolóny** a ich deriváty **fluorochinolóny** bránia ligácii DNA týmto enzýmami, čím ostávajú v DNA zlomy. Príkladom látok s takýmto účinkom sú napr. trovafloxacín, levofloxacín, ofloxacín, sparfloxacín, ciprofloxacín a kyselina nalidixová (Lüllmann a kol., 2004).

Metronidazol je baktericídna látka účinná na obligátne **anaeróbne** patogénne **baktérie**, ale aj na niektoré anaeróbne prvoky ako napr. *Giardia* sp. Patrí do skupiny nitroimidazolov, ktoré **inhibujú syntézu DNA prostredníctvom priamej väzby s ňou**. Mitronidazol je účinný len v redukovanej forme, pričom k jeho redukcii spravidla dochádza len v anaeróbnych mikroorganizmoch. Interakcia redukovaného metronidazolu s DNA narušuje jej štruktúru a inhibuje jej syntézu, čo v konečnom dôsledku vedie k smrti bunky (ADC, 2017).

Medzi **inhibítory syntézy RNA** patrí makrocyklické antibiotikum **rifampicín** syntetizované baktériou *Amycolatopsis rifamycinica*, pôvodne identifikovanej ako *Streptomyces mediterranei*. Táto **baktericídna látka** blokuje proces transkripcie DNA do RNA prostredníctvom väzby na **DNA-závislú RNA-polymerázu** (Campbell a kol., 2001).

Rifampicín je účinný proti Gram-pozitívnym (napr. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) aj Gram-negatívnym baktériám (napr. *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* a *Legionella* spp.). Antibiotikum je efektívne v liečbe ochorení vyvolaných mykobaktériami ako tuberkulóza a lepra (ADC, 2018).

17.3.5 Inhibícia metabolických dráh baktérií

Niektoré antibiotiká tzv. **antimetabolity** sú **štruktúrnymi analógmi metabolitov mikroorganizmov**. Vzhľadom na svoju chemickú štruktúru majú tieto antibiotické látky schopnosť zasahovať do biochemických dráh mikroorganizmov (Betina a Nemec, 1977). Jednou z týchto dráh je syntéza kyseliny listovej (kyseliny folovej, vitamínu B9), ktorá je nevyhnutnou súčasťou pre tvorbu purínu a nukleových kyselín (Kačániová a kol., 2018b). Antimetabolitmi zasahujúcimi do syntézy kyseliny listovej sú predovšetkým **sulfónamidy a trimetoprim,** pričom sa pri liečbe používa spravidla ich kombinácia (Julák, 2006).

Baktérie nedokážu prijímať kyselinu listovú v dostatočnom množstve, preto si ju syntetizujú samy. V tomto procese dochádza za účasti enzýmov **dihydrofolátreduktázy** a **dihydropteroátsyntetázy** k spájaniu jednej molekuly **kyseliny p-aminobenzoovej** (kyselinou para-aminobenzoovou, PABA) s molekulou **pteridínu** (Stone a Darlingtonová, 2003). Bakteriostatické látky **sulfónamidy** sa vyznačujú štruktúrnou podobnosťou s PABA. Na základe tejto podobnosti sú schopné **na princípe kompetitívnej inhibície** obsadiť väzobné miesta pre PABA na enzýme didydropteroátsyntétáza a efektívne blokovať priebeh ďalšej syntézy kyseliny listovej (Lüllmann a kol., 2004). Trimetoprim na druhej strane vytvára väzbu s dihydrofolátreduktázou, čím inhibuje proces **redukcie kyseliny dihydrolistovej na kyselinu tetrahydrolistovú** (Kačániová a kol., 2018b), ktorá je **kofaktorom** mnohých biochemických reakcií, najmä **syntézy aminokyselín a nukleových kyselín.**

17.4 Mechanizmy antibiotickej rezistencie baktérií

Zavedenie antibiotík a chemoterapeutík do lekárskej praxe predstavovalo výrazný pokrok v liečbe mnohých infekčných ochorení spôsobených baktériami. Ich dlhodobé používanie v boji proti patogénom však viedlo k postupnému vzniku a šíreniu rezistencie baktérií voči týmto látkam. V súčasnosti predstavuje antibiotická rezistencia významný celosvetový problém (viď kapitola 17.5).

Existujú dva základné **typy rezistencie baktérií na antibiotiká – rezistencia prirodzená (primárna) a rezistencia získaná (sekundárna)**. **Primárna rezistencia** je **geneticky podmienená necitlivosť baktérií na antibiotikum bez ohľadu na možný predchádzajúci kontakt s ním**. Oveľa závažnejším problémom v porovnaní s prirodzenou rezistenciou je **rezistencia získaná. Sekundárna rezistencia je nepriamym dôsledkom predchádzajúceho kontaktu baktérií s antibiotikom**. **Antibiotiká** v tomto prípade slúžia ako **selekčný činiteľ**. Použitím antibiotických látok sú síce **zabité citlivé** baktérie, ale **prežívajú a množia sa všetky odolné.**

Baktérie získavajú rezistenciu mutáciou génov na baktériovom chromozóme alebo horizontálnym génovým transferom (resp. parasexuálnymi procesmi) od iných baktérií. **Najčastejšie sa gény zodpovedné za rezistenciu na antibiotiká šíria prostredníctvom** prídavných genetických elementov, najmä **R-plazmidov** (plazmidov rezistencie, R-faktorov) **v procese konjugácie**. Gény rezistencie na antibiotiká sa však môžu šíriť aj ďalšími parasexuálnymi procesmi – transformáciou a transdukciou (Krčméry a kol.,

1980; viď kapitola 13.2.3). **Rezistentné baktérie sa** aj po použití antibiotika **ďalej množia, pričom ich ďalšie potomstvo je voči danému antibiotiku tiež rezistentné**. **V dôsledku používania antibiotík** preto **rezistencia na ne v populáciách baktérií neustále narastá**.

Mechanizmy antibiotickej rezistencie závisia najmä od druhu baktérie, ako aj od druhu antibiotika, jeho vlastností a mechanizmu jeho účinku (Blair, 2015). Ak má byť antibiotikum účinné, je potrebné, aby sa dostalo až k cieľovému miestu svojho pôsobenia. Častokrát sa stane, že mu v tom zabránia mnohé bariéry či enzýmy baktérií (Simon a Stille, 1998). Pochopenie mechanizmov antibiotickej rezistencie je podmienkou pre uvážené používanie antibiotických látok, ako aj vývoj nových antibiotík.

17.4.1 Obmedzenie penetrácie antibiotika do buniek baktérií zmenou priepustnosti membrány

Cieľové miesto pôsobenia je u mnohých antibiotík lokalizované intracelulárne, vo vnútri baktériovej bunky. Na to, aby bola antibiotická látka účinná, musí byť k tomuto miestu transportovaná cez vonkajšiu membránu a/alebo cytoplazmatickú membránu pomocou transportných systémov. Baktérie si vyvinuli mechanizmy, ktoré bránia antibiotikám prenikať do vnútra bunky (Munita a Arias, 2016). Jedným zo spôsobov vzniku rezistencie baktérií je **modifikácia ich membránových transportných systémov** (Marek a kol., 2010).

Malé molekuly antibiotík ako β-laktámy, tetracyklíny, flurochinolóny a chloramfenikol **penetrujú do periplazmatického priestoru Gram-negatívnych baktérií** prostredníctvom **transmembránových proteínov porínov** lokalizovaných vo vonkajšej membráne (Nikaido, 2003). Hlavnými porínmi baktérie ***E. coli*** sú OmpF a OmpC (Omp = outer membrane protein) (Kačániová a kol., 2018b). **Mutácie génov kódujúcich poríny** spôsobujú pozmenenie ich funkcie, aktivity, polohy a počtu vo vonkajšej membráne, prípadne pokles ich expresie, čo vedie k zabráneniu prieniku antibiotika do baktériovej periplazmy a v konečnom dôsledku k vzniku rezistencie (Hanulík a kol., 2010; Nordmann a kol., 2012; Sengupta a kol., 2013).

17.4.2 Modifikácia cieľového miesta antibiotika

Väzba antibiotickej látky s jej cieľovým miestom na cieľovej makromolekule je vysoko špecifická. Z tohto dôvodu už menšia modifikácia cieľového miesta môže viesť k ovplyvneniu tejto väzby (Giedraitien a kol., 2011). Pokiaľ sa **cieľové miesto** nachádza **v proteíne**, k zmenám štruktúry cieľového miesta môže dochádzať **po mutáciách v génoch, ktoré ho kódujú** (Guilfoile, 2007; Munita a Arias, 2016). Výsledkom je **blokovanie väzby antibiotika na daný proteín**, čím patogén získava odolnosť voči pôsobeniu danej antibiotickej látky (Kačániová a kol., 2018b).

Modifikácia cieľového miesta mutačnými procesmi je typická pre baktérie rezistentné na makrolidové antibiotikum **erytromycín** a aminoglykozidové antibiotikum **streptomycín**, ktoré u citlivých baktérií **inhibujú svojou väzbou na ribozómové podjednotky proteosyntézu** (Kačániová a kol., 2018a). **Mutáciami v génoch kódujúcich proteíny** L2 a L4, ktoré sú súčasťou **veľkej podjednotky (50S) ribozómu** baktérií vzniká rezistencia na erytromycín (Sengupta a kol., 2013). Mutáciou génu kódujúceho proteín S12, ktorý je súčasťou **malej podjednotky (30S) ribozómu** baktérií, vzniká rezistencia na streptomycínu (Kačániová a kol., 2018a).

Ďalším príkladom je **rezistencia** baktérie ***Mycobacterium tuberculosis*** na **rifampicín**, inhibítor transkripcie. Väčšina klinických izolátov tejto patogénnej baktérie rezistentných na

rifampicín obsahuje **mutácie v *Rpo*B géne kódujúcom β-podjednotku RNA-polymerázy**. V dôsledku týchto mutácií dochádza v tomto proteíne ku konformačným zmenám, ktoré znižujú afinitu rifampicínu k tomuto enzýmu a antibiotikum sa stáva neúčinné (Palomino a Martin, 2014).

Iným, no podobným mechanizmom vzniku rezistencie tohto typu je **horizontálny génový transfer**, ktorým **baktéria získa gén kódujúci proteín s pozmeneným cieľovým miestom**. Typickým príkladom takéhoto procesu je vznik kmeňov *Staphylococcus aureus* rezistentných na meticilín (meticilin-resistent *S. aureus* – MRSA) (Munita a Arias, 2016). Táto rezistencia vzniká spravidla po nadobudnutí génu exogénneho pôvodu, ktorý kóduje penicilín-viažuci proteín PBP2a s podstatne nižšou afinitou na β-laktámy ako pôvodný PBP (z angl. „penicilin-binding protein“. Táto rezistencia umožňuje syntézu baktériovej bunkovej steny, cieľovej štruktúry β-laktámov, aj v prítomnosti takých koncentrácií meticilínu, ktoré za bežných okolností inhibujú rast tejto baktérie (Peacock a Paterson, 2015).

17.4.3 Aktívny eflux antibiotík z bunky baktérií

Efluxné pumpy predstavujú **transmembránové proteíny**, ktorých úlohou je **aktívne vypudenie metabolitov a toxických zlúčenín vrátane antibiotických látok von z bunky** baktérií (Weber a kol., 1997). Tieto pumpy sú prítomné **v cytoplazmatickej membráne** (Kapoor a kol., 2017). U Gram-negatívnych baktérií je efluxná pumpa tvorená vlastnou pumpou umiestnenou v cytoplazmatickej membráne, porínom a adaptérovým proteínom vo vonkajšej membráne. Efluxné transmembránové proteíny môžu byť kódované chromozómom a/alebo plazmidom (Kačániová a kol., 2018b).

Aktívny eflux je jedným z kľúčových mechanizmov odolnosti patogénov voči účinku antibiotík (Liwa a Jaka, 2015). Zdrojom energie pre tento proces je protónový gradient (angl. „proton motive force“ – PMF) na cytoplazmatickej membráne. **Efluxné pumpy** môžu byť **špecifické pre konkrétny substrát** (Kačániová a kol., 2018b) **alebo transportujú celú škálu štruktúrne odlišných látok** – tzv. **multidrug resistance (MDR)** efluxné pumpy (Kačániová a kol., 2018a). Mechanizmus aktívneho efluxu bol zdokumentovaný u baktérie *E. coli* v prípade rezistencie na tetracyklíny, chloramfenikol, kyselinu fusidová, rifampicín a β-laktámy (Sun a kol., 2014).

17.4.4 Enzymatická inaktivácia antibiotika

Deštrukcia, prípadne inaktivácia antibakteriálnych látok účinkom enzýmov produkovaných baktériami sa vzťahuje predovšetkým na antibiotiká, čiže antibakteriálne agens prírodného pôvodu (Kačániová a kol., 2018b). Synteticky pripravené antibakteriálne látky (chemoterapeutiká, napr. fluorochinolíny) sú týmto spôsobom inaktivované len zriedkavo (Tortora a kol., 2010). Medzi enzýmy, ktoré sa najčastejšie podieľajú na inaktivácií antibiotík patria napr. β-laktamázy, acetyltransferázy modifikujúce chloramfenikol a enzýmy modifikujúce aminoglykozidy (Liwa a Jaka, 2015).

β-laktamázy inaktivujú β-laktámy hydrolýzou väzby C-N **β-laktámového kruhu** (Majiduddin a kol., 2002). β-laktamázy vykazujú sekvenčnú homológiu s penicilín viažucimi proteínmi (z angl. „penicilin-binding proteins“ – PBPs) zahrnutými v syntéze bunkovej steny baktérií a pravdepodobne sa vyvinuli práve z nich (Massova a Mobashery, 1998). β-laktamázy produkujú Gram-negatívne, ale aj Gram-pozitívne baktérie. U Gram-negatívnych baktérií ide o najvýznamnejší mechanizmus rezistencie proti β-laktámovým antibiotikám

(Kačániová a kol., 2018b). Gény pre syntézu β-laktamáz sú lokalizované na chromozóme, prípadne na prídavných genetických elementoch baktérií, ako sú plazmidy a transpozóny (Kačániová a kol., 2018b). V súčasnosti predstavujú značný klinický problém najmä β-laktamázy so širokým spektrom účinku (Extended-Spectrum β-Lactamase, ESBL). Ich poprednými producentmi sú najmä baktérie *Klebsiella pneumoniae* a *E. coli*.

Rezistencia Gram-negatívnych baktérií **na aminoglykozidové antibiotiká** môže byť primárna (napr. *Burkholderia cepacia*) alebo sekundárna (*K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*). Existuje niekoľko mechanizmov rezistencie baktérií na aminoglykozidy (napr. streptomycín a kanamycín), avšak v klinickom prostredí ide najčastejšie o enzymatickú modifikáciu molekuly aminoglykozidového antibiotika. Enzýmy zodpovedné za inaktiváciu antibiotika **katalyzujú zmeny v -NH_2 a -OH skupinách naviazaných na 2-deoxystreptamínové jadro alebo zmeny v sacharidovej zložke** aminoglykozidov (Ramirez a Tolmasky, 2010). **Po enzymatickej modifikácii sú** aminoglykozidy inaktívne (Kačániová a kol., 2018b), **neschopné viazať sa na cieľové miesto** pôsobenia lokalizované **na ribozómoch** (Marek a kol., 2010).

Za inaktiváciu **chloramfenikolu** sú zodpovedné enzýmy **acetyltransferázy**, ktoré prenášajú na antibiotikum acetylovú skupinu, čím modifikujú jeho štruktúru a inhibujú ďalšie pôsobenie.

17.5 Antibiotická rezistencia a multirezistencia ako celosvetový problém

Neustály nárast antibiotickej rezistencie v populácii baktérií predstavuje v súčasnosti závažný celosvetový problém. Systematickým nesprávnym a nadmerným používaním liečiv v humánnej medicíne, ako aj pri výrobe potravín sa mnohé krajiny dostali do vážnej rizikovej situácie (WHO, 2015). Bez strategického a okamžitého konania v celosvetovom meradle sa svet uberá do novej tzv. **„post-antibiotickej“ éry,** v ktorej **nebudú už bežné infekčné ochorenia spôsobované baktériami liečiteľné antibiotikami a budú v mnohých prípadoch viesť až k smrti nakazených jedincov** (WHO, 2015). Správa WHO (Svetová zdravotnícka organizácia, z angl. „World Health Organization) obsahujúca prvú globálnu mapu antibiotickej rezistencie uviedla, že len 129 zo 194 členských krajín tejto organizácie poskytlo údaje o aktuálnom stave rezistencie na antibiotiká a iba 22 z nich sledovalo všetkých deväť baktérií, ktoré boli agentúrou označené ako najväčšie hrozby pre verejné zdravie (Reardon, 2014). Do zoznamu najnebezpečnejších patogénnych baktérií patrí napr. *Kliebsiella pneumoniae* rezistentná na karbapenémy, *Staphylococcus aureus* rezistentný na meticilín (MRSA) a *E. coli* rezistentná na cefalosporíny.

Antibiotická rezistencia rástla v posledných rokoch rýchlo najmä v rozvojových krajinách. Hlavnou príčinou tohto nárastu je **nadmerné a neregulované podávanie antibiotík, ktoré vedie k prežívaniu a množeniu výhradne rezistentných kmeňov**. Ukážkovým príkladom je Čína, kde nemocnice a kliniky dostávajú finančné stimuly na predpisovanie liekov vrátane antibiotík. V niektorých krajinách je dokonca možné v lekárni kúpiť antibiotiká bez lekárskeho predpisu. **Ľudia tak často liečia antibiotikami ochorenia, proti ktorým nie sú účinné** (napr. chrípka spôsobená RNA vírusom). Jedným z ďalších negatívnych faktorov napomáhajúcim šíreniu rezistencie je v rozvojových krajinách pravdepodobne aj zlá hygiena. V mnohých oblastiach je nemocničná odpadová voda nedostatočne filtrovaná a kontaminuje vodné toky rezistentnými resp. multirezistetnými kmeňmi patogénnych baktérií (Reardon, 2014).

V súčasnosti predstavujú pre verejné zdravie veľké nebezpečenstvo predovšetkým **multirezistentné kmene patogénnych baktérií rezistentné na minimálne jedno antibiotikum z troch alebo viacerých skupín antibiotík**. Vzhľadom na rôzne stupne

multirezistencie (z angl. „multiresistance“, „multidrug restistance“, resp. „multiple drug resistance“ – MDR) boli v angl. literatúre zavedené termíny **„Extensively Drug Resistance“ (XDR)** a **„Pandrug Resistance“ (PDR)**. Pojem XDR je definovaný ako rezistencia na aspoň jedno antibiotikum zo všetkých okrem jednej alebo dvoch skupín antibiotík. Pojem **PDR** je definovaný ako **rezistencia na všetky antibiotiká zo všetkých skupín antibiotík** (Sweeney a kol., 2018).

Ako už bolo spomínané, **rezistencia** voči antibiotikám **môže vzniknúť spontánne, v dôsledku mutácií. Kľúčovým mechanizmom šírenia (multi)rezistencie medzi baktériami** je však **horizontálny génový transfer** (Henrichfreise a kol., 2007). Najčastejšie sú **gény pre rezistenciu prenášané plazmidmi prostredníctvom konjugácie** (viď kapitola 13.2.3.1). K tomuto procesu dochádza **nielen medzi baktériami toho istého druhu, ale aj medzi rôznymi druhmi baktérií**. Plazmid(y) (resp. jeho/ich časť) s génom/génmi rezistencie sa pomerne často môže(u) integrovať do chromozómu recipientnej baktérie, čím sa môže(u) stať jeho permanentnou súčasťou. Gény rezistencie však môžu baktérie získať aj v procesoch transdukcie a transformácie (viď kapitoly 13.2.3.2 a 13.2.3.3). **Multirezistentné kmene baktérií vznikajú opakovaným vznikom a prenosom génov rezistencie horizontálnym génovým transferom, resp. parasexuálnymi procesmi medzi príbuznými aj nepríbuznými baktériami. Následným intezívnym používaním rôznych antibiotík je zabezpečené prežívanie a množenie len tých baktérií, ktoré sú voči všetkým použitým antibiotikám rezistentné. Najväčším rezervoárom multirezistentných baktérií sú miesta, kde sa antibiotiká používajú najintenzívnejšie – nemocnice**. Medzi baktérie, u ktorých sa antibiotická multirezistencia vyskytuje najčastejšie, patria napr. *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumanii*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Enterobacter* spp. (Pendleton a kol., 2013).

17.6 Nežiaduce a toxické účinky antibiotík

Takmer všetky látky využívané v súčasnej medicíne na liečbu ochorení majú určité **vedľajšie účinky** na ľudský organizmus. Vedľajšie účinky antibiotík spravidla zahŕňajú **toxické účinky**. Závažnosť a rozsah toxického efektu závisí najmä od stupňa toxicity, dávky a spôsobu aplikácie antibiotika, ako aj od fyziologického stavu hostiteľa. Stupeň toxicity antibiotických látok stúpa najmä pri zníženej funkcii niektorých orgánov ako pečeň alebo obličky, čo vedie k sťaženiu eliminácie látok hostiteľským organizmom a ich hromadeniu v rôznych tkanivách (Lochmann, 1990). Rôzne antibiotiká môžu mať rôzne toxické účinky na rôzne orgány a sústavy človeka a zvierat (Petrovičová a Šimkovičová, 2004):

a) **nefrotoxické** – poškodzujúce obličky a ich funkcie (napr. vankomycín, polymyxíny, aminoglykozidy),
b) **hepatotoxické** – poškodzujúce pečeň a jej funkcie (napr. tetracyklíny, erytromycín),
c) **neurotoxické** – poškodzujúce nervovú sústavu a jej funkcie (napr. streptomycín),
d) **hematotoxické** – poškodzujúce kostnú dreň a jej funkcie (napr. chloramfenikol).

Jedným z významných mechanizmov toxických účinkov antibiotík je **poškodenie mitochondrií**. **Mitochondrie** eukaryotických buniek (vrátane buniek cicavcov) majú podľa endosymbiotickej teórie **pôvod vo voľne žijúcich α-proteobaktériách** (Gray a kol., 1999). **Obsahujú DNA a ribozómy prokaryotického typu**, preto je zrejmé, že **antibiotiká** blokujúce napr. transláciu alebo replikáciu DNA u baktérií, **spôsobujú poškodenie mitochondrií**, a tým v konečnom dôsledku aj eukaryotickej bunky. Účinkom klinicky

relevantných dávok antibiotík ako napr. chinolóny a aminoglykozidy dochádza k dysfunkcii mitochondrií a indukcii reakcií vedúcich k oxidačnému poškodeniu DNA, proteínov a membránových lipidov cicavčích buniek (Kalghatgi a kol., 2013).

Mnohé antibiotiká môžu svojím pôsobením negatívne ovplyvniť imunitu organizmu a vyvolávať imunologické poruchy. Vzhľadom na to, že antibiotiká pre ľudský organizmus cudzorodými látkami, imunitný systém proti nim môže začať produkovať protilátky, čo často vedie k nežiaducim alergickým reakciám. Vyskytujú sa najmä pri užívaní penicilínov, celafosporínov a sulfónamidov. **Alergia na antibiotiká** sa prejavuje napr. horúčkou, náhlou tvorbou svrbivých žihľavkových pupencov (urtikáriou) (Murárová a kol., 2007), dermatitídou (zápal kože), konjunktivitídou (zápalom spojiviek oka) a eozinofíliou (zvýšením počtu eozinofilov v krvnej periférii nad 5%) (Encyclopaedia beliana, 2005). U niektorých ľudí sa v krajných prípadoch môže dostaviť anafylaktický šok (alergická reakcia s rýchlym nástupom, ktorú spravidla sprevádza svrbivá vyrážka, ťažkosti s dýchaním a nízky krvný tlak), niekedy aj s letálnymi následkami (Zahradnický, 1982).

Ďalšími **nežiadúcimi účinkami antibiotík** sú **negatívne zmeny v prirodzenom zložení mikrobioty čriev, kože a slizníc**. Antibiotiká totiž okrem patogénnych baktérií **zabíjajú aj zdraviu prospešné (tzv. probiotické) baktérie** (viď kapitola 18). Obzvlášť časté sú po podaní širokospekrálnych antibiotík, ako sú tetracyklíny alebo ampicilín. **Narušenie prirodzenej črevnej mikrobioty** antibiotickými látkami vedie k zhoršeniu trávenia, **hnačkám**, hypovitaminóze K (nedostatok vitamínu K) a iným tráviacim ťažkostiam. **Dôsledkom narušenia vaginálnej mikrobioty antibiotikami môže byť** aj **kvasinková infekcia** vyvolaná premnožením kvasiniek rodu *Candida* (napr. *Candida albicans*).

Literatúra

ADC. 2017. Metronidazole 0,5 % - Polpharma sol inf (vak PE) 1x100 ml. Dostupné na: <https://www.adc.sk/databazy/produkty/spc/metronidazole-0-5-polpharma-200787.html>.

ADC. 2018. BENEMICIN 150 mg cps dur (fľ.PP) 1x100 ks. Dostupné na: <https://www.adc.sk/databazy/produkty/spc/benemicin-150-mg-871716.html>.

BETINA, V. – NEMEC, P. 1977. Všeobecná mikrobiológia. Bratislava: Alfa.

BINDA, E. – MATINELLI, F. – MARCONE, G. L. 2014. Old and new glycopeptide antibiotics: Action and resistance. Antibiotics (Basel) 3, 572-594.

BLAIR, J. a kol. 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nat Rev Microbiol 13, 42-51.

CAMPBELL, E. A. a kol. 2001. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial RNA polymerase. Cell 104, 901-912.

COMROE, J. H. Jr 1978. Pay dirt: the story of streptomycin. Part I: from Waksman to Waksman. Am Rev Resp Dis 117, 773-781.

DUBOS, R. 1942. Microbiology. Annu Rev Biochem 11, 659-678.

EBRINGER, L. 1978. Effects of drugs on chloroplasts. Prog Mol Subcell Biol 6, 271-354.

ENCYCLOPAEDIA BELIANA. 2005. Eozinofília. Dostupné na: <https://beliana.sav.sk/heslo/eozinofilia>.

GERMOVSEK, E. – BARKER, C. I. – SHARLAND, M. 2017. What do I need to know about aminoglycoside antibiotics? Arch Dis Child Educ Pract Ed 102, 89-93.

GIEDRAITIEN, A. a kol. 2011. Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. Medicina (Kaunas) 47, 137-146.

GRAY, M. W. – BURGER, G. – LANG, B. F. 1999. Mitochondrial evolution. Science. 283, 1476-1481.

GUILFOILE, P. G. 2007. Antibiotic-resistant bacteria. New York: Chelsea house publishers. 128 s.
HANULÍK, V. a kol. 2010. Možnosti fluorochinolonů v současné praxi. Klinická farmakologie a farmacie 24, 184-186.
HEJZLAR, M. a kol. 1985. Základy lékařské mikrobiologie. Praha: Univerzita Karlova.
HENRICHFREISE, B. a kol. 2007. Resistance mechanisms of multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strains from Germany and correlation with hypermutation. Antimicrob Agents Chemother 51, 4062-4070.
HIBBING, M. E. a kol. 2010. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. Nat Rev Microbiol 8, 15-25.
IUPAC. Compendium of chemical terminology, the „Gold Book“. 2nd edition. 2014. Depsidopeptides. Dostupné na: <http://goldbook.iupac.org/terms/view/D01604>.
JOHNSON, B. A. – ANKER, H. – MELENEY, F. L. 1945. Bacitracin: A new antibiotic produced by a member of the *B. subtilis* group. Science 102, 376-377.
JULÁK, J. 2006. Úvod do lékařské bakteriologie. 1. vyd. Praha: Karolinum.
KAČÁNIOVÁ a kol. 2018a. Antimikrobiálna rezistencia mikroorganizmov vyizolovaných z mlieka a masla a ich indentifikácia za pomoci MALDI-TOF MS Biotyper. Ostrava: KEY Publishing s.r.o.
KAČÁNIOVÁ a kol. 2018b. Identifikácia mikroorganizmov vyizolovaných z mliečnych výrobkov za pomoci hmotnostnej spektrometrie MALDI TOF MS Biotyper a ich antibiotická rezistencia. Ostrava: KEY Publishing s.r.o.
KALGHATGI, S. a kol. 2013. Bactericidal antibiotics induce mitochondrial dysfunction and oxidative damage in mammalian cells. Sci Transl Med 5, 192ra85.
KANG, H. K. – PARK, Y. 2015._Glycopeptide antibiotics: Structure and mechanisms of action. J Bacteriol Virol 45, 67-78.
KAPOOR, G. – SAIGAL, S. – ELONGAVAN, A. 2017. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. J Anaesthesiol Clin Pharmacol 33, 300-305.
KARDOS, N. – DEMAIN, A. L. 2011. Penicillin: the medicine with the greatest impact on therapeutic outcomes. Appl Microbiol Biotechnol 92, 677-687.
KINGSTON, W. 2004. Streptomycin, Schatz v. Waksman, and the balance of credit for discovery. J Hist Med Allied Sci 59, 441-462.
KOHANSKI, M. A. – DWYER, D. J. – COLLINS, J. J. 2010. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. Nat Rev Microbiol 8, 423-435.
KRČMÉRY, V. a kol. 1980. Rezistencia na antibiotiká. Martin: Osveta.
KUČEROVÁ, T. 2010. Makrolidové ATB v liečbe respiračných infekcií. Via pract 7, 66-69.
KÜNZLER, M. 2018. How fungi defend themselves against microbial competitors and animal predators. PLoS Pathog 14, e1007184.
LASK, S. A. 1948. Tyrothricin as an antibiotic. Arch Surg 56, 475.
LIWA, A. C. – JAKA, H. 2015. Antimicrobial resistance: Mechanisms of action of antimicrobial agents. In Méndez-Vilas A. (ed.), The battle against microbial pathogens: Basic science, technological advances and educational programs. Formatex Microbiology 1, 876-885.
LOCHMANN, O. 1990. Nežádoucí účinky antibiotik. 1. vyd. Praha: Avicenum.
LÜLLMANN, H. – MOHR, K. – WEHLING, M. 2004. Farmakologie a toxikologie. Bratislava: Grada.
MAJIDUDDIN, F. K. – MATERON, I. C. – PALZKILL, T. G. 2002. Molecular analysis of β-lactamase structure and function. Int J Med Microbiol 292,127-137.
MAREK, J a kol. 2010. Farmakoterapie vnitřních nemocí. 4. vyd. Praha: Grada.
MASSOVA, I. – MOBASHERY, S. 1998. Kinship and diversification of bacterial penicillin-binding proteins and β-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 42, 1-17.

MUNITA, J. M. – ARIAS, C. A. 2016. Mechanisms of antibiotic resistance. Microbiol Spectr 4, 10.
MURÁROVÁ, Z. – ŠIMALJÁKOVÁ, M. – BUCHVALD, J. 2007. Urtikária. Via pract 4, 279-283.
NGUYEN, R. – SUN, Y. 2019. Bacitracin topical. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536993/>
NIKAIDO, H. 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiol Mol Biol Rev 67, 593-656.
NORDMANN, P. – DORTET, L. – POIREL, L. 2012. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm. Trends Mol Med 18, 263-272.
ORY, E. M. 1963. The use and abuse of the broad spectrum antibiotics. J Am Med Assoc 185, 273.
PALOMINO, J. C. – MARTIN, A. 2014. Drug resistance mechanisms in *Mycobacterium tuberculosis.* Antibiotics (Basel) *3,* 317-340.
PEACOCK, S. J. – PATERSON, G. K. 2015. Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Annu Rev Biochem 84, 577-601.
PENDLETON, J. N. – GORMAN, S. P. – GILMORE B. F. 2013. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. Exp Rev Anti Infect Ther 11, 297-308.
PETROVIČOVÁ, A. – ŠIMKOVIČOVÁ, M. 2004. Všeobecná mikrobiológia. 1. vyd. Bratislava: Herba.
PROSSER, G. - DE CARVALHO, L. P. S. 2013. Kinetic mechanism and inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* d-alanine: D-alanine ligase by the antibiotic d-cycloserine. FEBS J 280, 1150-1166.
RAMIREZ, M. S. – TOLMASKY, M. E. 2010. Aminoglycoside modifying enzymes. Drug Resist Updat 13, 151-171.
REARDON, S. 2014. Antibiotic resistance sweeping developing world: bacteria are increasingly dodging extermination as drug availability outpaces regulation. Nature 509, 141-142.
SENGUPTA, S. – CHATTOPADHYAY, M. K. – GROSSART, H. P. 2013. The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. Front Microbiol 4, 47.
SIMON, C. – STILLE, W. 1998. Antibiotika v současné lékařské praxi. Praha: Grada. STONE, T. – DARLINGTONOVÁ, G. 2003. Léky, drogy, jedy. 1. vyd. Praha: Academia.
SUN, J. – DENG, Z. – YAN, A. 2014. Bacterial multidrug efflux pumps: Mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. Biochem Biophys Res Commun 453, 254-267.
SWEENEY M. T. a kol. 2018. Applying definitions for multidrug resistance, extensive drug resistance and pandrug resistance to clinically significant livestock and companion animal bacterial pathogens. J Antimicrob Chemother 73, 1460-1463.
ŠVIHOVEC a kol. 2018. Farmakologie. Praha: Grada publishing.
TAMÁŠOVÁ, M. 2013. Miesto cefalosporínov v liečbe respiračných infekcií. Via pract 10, 170-174.
TOMKO, J. a kol. 1999. Farmakognózia. Martin: Osveta.
TORTORA, G. J. – FUNKE, B. R. – CASE, CH. L. 2010. Microbiology: An introduction. 10th edition. San Francisco: CA Benjamin Cummings Pearson.
WAKSMAN, S. A. – TISHLER, M. 1942. The chemical nature of actinomycin, an antimicrobial substance produced by *Actinomyces antibioticus*. J Biol Chem 142, 277-286.
WEBER, S. – PFALLER, M. A. – HERWALDT, L. A. 1997. Role of molecular epidemiology in infection control. Infect Dis Clin North Am 11, 257-278.
WENKE, M. a kol. 1986. Farmakologie. Praha: Avicenum.

WOODRUFF, H. B. 2014. Selman A. Waksman, winner of the 1952 Nobel Prize for Physiology or Medicine. Appl Environ Microbiol 80, 2-8.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2015. Global action plan on antimicrobial resistance. Dostupné na: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/193736/9789241509763_eng.pdf?sequence=1>

ZAHRADNICKÝ, J. 1982. Antibiotika a chemoterapeutika. Praha: Univerzita Karlova.

ZUORRO, A. a kol. 2014. Degradation and antibiotic activity reduction of chloramphenicol in aqueous solution by UV/H_2O_2 process. J Environ Manage 133, 302-308.

18 PROBIOTIKÁ

Alexandra Lukáčová, Matej Vesteg

Termín **probiotiká** („pro bios“ = „pre život“) sa v súčasnosti používa na **označenie mikroorganizmov**, prevažne baktérií, ale aj niektorých jednobunkových eukaryotov, **ktoré majú priaznivé účinky na zdravie**, najmä na gastrointestinálny trakt (GIT) **ľudí a zvierat**. Hypotézu o pozitívnej úlohe baktérií kolonizujúcich GIT svojich hostiteľov ako prvý vyslovil ruský zoológ **Iľja Mečnikov** (Élie Metchnikoff**,** Ilya Ilyich Mechnikov) známy svojim priekopníckym výskumom v oblasti imunológie (FAO a WHO, 2006). Za svoju prácu získal v roku 1908 spolu s Paulom Ehrlichom Nobelovu cenu za fyziológiu a medicínu. V tomto období francúzsky pediater **Henry Tissier** zistil, že stolica zdravých detí bola bohatá na tzv. „bifidné“ kmene baktérií s typickou morfológiou pripomínajúcou písmeno Y, zatiaľ čo stolica detí s hnačkou obsahovala len nízky počet baktérií (Tissier, 1906). Na základe svojho zistenia Tissier navrhol, aby boli spomínané baktérie podávané pacientom s hnačkou za účelom obnovenia ich zdravej črevnej mikrobioty (FAO a WHO, 2006). Metchnikoff a Tissier ako prví položili **vedecké základy využitia baktérií ako probiotík**.

Výraz probiotický (resp. probiotiká) však nebol používaný až do šesťdesiatych rokov minulého storočia, kedy bol tento termín zavedený v súvislosti s látkami produkovanými mikroorganizmami podporujúcimi rast iných mikroorganizmov (Lilly a Stillwell, 1965). Od tohto obdobia bolo formulovaných niekoľko ďalších definícií. Jedna z nich charakterizuje probiotiká ako **živé mikroorganizmy, ktoré majú po konzumácii v primeranom množstve priaznivé účinky na zdravotný stav hostiteľa** (Guarner a Schaafsman, 1998). Definícia Organizácie pre výživu a poľnohospodárstvo (z angl. „*F*ood and *A*griculture *O*rganization, FAO) a Svetovej zdravotníckej organizácie (z angl. „*W*orld *H*ealth *O*rganization, WHO) ich vystihuje veľmi podobne, a to ako „**živé mikroorganizmy**, **ktoré po podaní v primeraných dávkach poskytujú hostiteľskému organizmu zdravotné výhody**“ (FAO a WHO, 2001).

V súčasnosti je známe, že **baktérie sú základnou prirodzenou** zložkou **mikrobioty**, mikrobiálneho spoločenstva nachádzajúceho sa **na povrchu a vo vnútri tiel živočíchov a ľudí**. **Hojné zastúpenie majú na pokožke, ako aj v močovom a dýchacom, ale najmä tráviacom trakte**. V GIT ľudí sa môže nachádzať aj viac ako 400 rôznych druhov baktérií (Tannock, 1999), pričom k jeho kolonizácii dochádza už tesne po pôrode (Mitsuoka, 1992). Prítomnosť zdraviu prospešných baktérií v tráviacom trakte významne prispieva k celkovej pohode hostiteľského organizmu. Popredne **medicínsky využívanými rodmi probiotických baktérií** sú najmä ***Lactobacillus*** a ***Bifidobacterium*** (FAO a WHO, 2006). V súčasnosti sú systematicky skúmané vzťahy medzi črevnou mikrobiotou, vplyvom stravy, predčasným starnutím a vznikom rakoviny GIT. Výsledky týchto štúdií majú zásadný význam pre skvalitnenie a v konečnom dôsledku aj predĺženie života.

18.1 Príklady probiotických mikroorganizmov

Väčšina probiotických mikroorganizmov sú baktérie. Baktérie dominujú aj v ľudskom GIT, na koži, ale aj v dýchacom, močovom a pohlavnom trakte. **Probiotické druhy a kmene baktérií kolonizujúce GIT a iné sústavy ľudí patria najmä do skupín Actinobacteria** (viď kapitola 15.4.2.4)**, Firmicutes** (viď kapitola 15.4.2.5)**, Bacteroidetes** (viď kapitola 15.4.3.3.), ale aj Proteobacteria (viď kapitola 14.1.1.1).

Väčšina ľudských probiotických baktérií patrí medzi tzv. **baktérie mliečneho kvasenia** (angl. „lactic acid bacteria“, LAB) zo skupiny **Firmicutes** a radu **Lactobacillales** – napr. rody ***Lactoccocus, Lactobacillus, Leuconostoc, Streptococcus, Enterococcus* a *Pediococcus***. Zástupcovia týchto rodov LAB sú popri bifidobaktériách z radu **Bifidobacteriales** (najmä rod ***Bifidobacterium***) zo skupiny **Actinobacteria dominantnou súčasťou mikrobioty GIT zdravých ľudí**. Medzi ľudské probiotické baktérie patria napr. aj niektoré druhy (resp. kmene) rodov ***Bacillus*** (zo skupiny Actinobacteria a radu Bacillales) a ***Escherichia*** (zo skupiny γ-proteobacteria a radu Enterobacteriales) (Tabuľka 18.1) (Fijan, 2014).

Tabuľka 18.1. Príklady probiotických baktérií *(upravené podľa Fijan, 2014)*

Rod	**Druh**
Lactobacillus	*L. rhamnosus* *L. acidophilus* *L. plantarum* *L. casei* *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* *L. brevis* *L. johnsonii* *L. fermentum* *L. reuteri*
Lactococcus	*L. lactis* subsp. *lactis*
Leuconostoc	*L. mesenteroides*
Pediococcus	*P. acidilactici*
Enterococcus	*E. durans* *E. faecium*
Streptococcus	*S. thermophilus*
Bifidobacterium	*B. longum* subsp. *infantis* *B. longum* subsp. *longum* *B. animalis* subsp. *lactis* *B. bifidum* *B. breve*
Escherichia	*E. coli* Nissle 1917
Bacillus	*B. coagulans* *B. subtilis* *B. cereus*

Za živočíšne probiotické baktérie možno považovať napr. aj zástupcov rodu *Fibrobacter* zo skupiny Fibrobacteres (viď kapitola 15.4.3.3), ktorí žijú v bachore prežúvavcov a pomáhajú im rozkladať celulózu.

Okrem baktérií sa však môžu v ľudskej GIT vyskytovať aj archeóny (z domény Archaea), a to najmä anaeróbne metanogény (produkujúce metán redukciou oxidu uhličitého molekulovým vodíkom) (viď kapitola 20). Ich zastúpenie je však v porovnaní s baktériami minimálne a v niektoré prípadoch neidentifikovateľné. V bachore prežúvavcov však môžu metanogénne archeóny predstavovať približne 3% celkovej mikrobioty.

Vo väčšej miere ako archeóny, avšak ani zďaleka nie v takej ako baktérie, sú v ľudskej GIT zastúpené **jednobunkové eukaryoty**. Ako **ľudské probiotiká** majú význam najmä **kvasinky rodu *Saccharomyces*** (viď kapitola 18.1.2). **V bachore prežúvavcov obyčajne**

predstavujú dominantnú zložku (40-60%) **jednobunkové eukaryotické prvoky** ako napr. **Ciliata** (riasničkavce, resp. nálevníky). Bez týchto prvokov by prežúvavce neboli schopné **tráviť celulózu**. **Viaceré druhy prvokov** (napr. zo skupín Oxymonadida a Parabasalia z taxónu Excavata) sa vyskytujú aj **v črevách drevožravých termitov a švábov**, kde taktiež **rozkladajú celulózu** (viď kapitoly 27.2.2. a 27.2.3).

18.1.1 Probiotické baktérie

Príklady najznámejších probiotických baktérií sú uvedené v Tabuľke 18.1.

18.1.1.1 Baktérie mliečneho kvasenia

Medzi najznámejšie rody **baktérií mliečneho kvasenia** (z angl. „lactic acid bacteria“, LAB) patria ***Lactobacillus, Lactococcus, Enterococcus, Pediococcus, Streptococcus* a *Leuconostoc***. Ďalšími rodmi LAB sú napr. *Oenococcus, Aerococcus, Sporolactobacillus* a *Carnobacterium*. Mliečne baktérie sa vyznačujú **schopnosťou konvertovať hexózy** (monosacharidy so šiestimi uhlíkmi v molekule ako napr. **glukóza**) až na **kyselinu mliečnu (laktát)** (Fijan, 2014). V prípade tzv. homolaktických LAB (napr. rody *Lactococcus, Enterococcus, Streptococcus* a *Pediococcus*) sú hexózy v procese anaeróbnej glykolýzy premieňané na dve molekuly pyruvátu za vzniku dvoch molekúl ATP (tzv. Embden-Mayerhoff-Parnasova dráha najčastejšie popisovaná v učebniciach, viď kapitola 11.1). Molekuly pyruvátu následne konvertujú na kyselinu mliečnu za premeny $2NADH+H^+$ na $2NAD^+$ (potrebné pre chod glykolýzy). Tento proces je identický s procesom prebiehajúcim v svaloch počas hypoxie (nedostatku kyslíka) vedúcim k tzv. „svalovej horúčke“. V prípade tzv. heterolaktických LAB (napr. rod *Leuconostoc*) sú konečnými produktami rozkladu hexóz jedna molekula CO_2, jedna molekula ATP, jedna molekula laktátu a jedna molekula etanolu. Laktát však môže vznikať u LAB aj počas fermentácie pentóz (päťuhlíkatých sacharidov) (Gänzle, 2015). **Výsledkom** uvedených procesov **mliečneho kvasenia** je **kyslé prostredie**, ktoré **inhibuje rast niektorých patogénnych baktérií** (Makarova a kol., 2006). **Počas fermentačných procesov LAB** (ale napr. aj bifidobaktérie) **produkujú** aj **malé oligopeptidy** – tzv. **proteobiotiká** (Yun a kol., 2014; Zeinhom a kol., 2016), ktoré prispievajú k zdraviu prospešným vlastnostiam probiotík. Proces mliečneho kvasenia LAB je bežne využívaný napr. v **potravinárstve na výrobu jogurtov, syrov, mliečnych nápojov, kyslej kapusty a iných fermentovaných produktov** (Fijan, 2014; viď kapitola 18.4).

18.1.1.1.1 *Lactobacillus* spp.

Do rodu ***Lactobacillus*** patria **Gram-pozitívne, fakultatívne anaeróbne**, prípadne **mikroaerofilné** (preferujúce prostredie so zníženým množstvom kyslíka a zvýšeným podielom oxidu uhličitého) baktérie s tvarom **tyčinky** (Fijan, 2014).

Prospešné druhy a kmene baktérií rodu *Lactobacillus* (laktobacily) sú u ľudí **prirodzenou súčasťou mikrobioty GIT a vagíny** (Walter, 2008). Spolu s „bifidobaktériami“ patria medzi prvé baktérie kolonizujúce črevo novorodenca po pôrode (Walker, 2013). Laktobacily sú hojne využívané ako probiotiká najmä vďaka svojim výhodným vlastnostiam ako napr. tolerancia nízkeho pH prostredia, odolnosť voči účinoku antibiotík, schopnosť priľnúť na stenu črева, ale aj inhibovať rast potenciálne patogénnych mikroorganizmov (Ruiz

a kol., 2013; Tulumoglu a kol., 2013). V medicínskej praxi sú hojne využívané probiotické preparáty obsahujúce najmä druhy *L. casei, L. paracasei, L. acidophilus, L. rhamnosus* a *L. brevis* (Tabuľka 18.1) (Fijan, 2014).

Konzumácia potravín a prípravkov obsahujúcich probiotické laktobacily **počas liečby antibiotikami znižuje riziko vyhubenia prirodzenej mikrobioty GIT a vagíny**, ktorá by mohla byť príčinou kolonizácie patogénnymi baktériami (Alander a kol., 1999; Sullivan a kol., 2003). Laktobacily produkujúce peroxid vodíka majú baktericídny účinok napr. na patogénnu vaginálnu baktériu *Gardnerella vaginalis*. Prítomnosť laktobacilov vo vagíne je spájaná nielen so zníženou frekvenciou výskytu baktériovej vaginózy, ale aj trichomoniázy (spôsobenou prvokom *Trichomonas vaginalis*) (Maggi a kol., 2000). Laktobacily totiž **prispievajú k udržiavaniu prirodzene kyslého pH vo vagíne, čím bránia rastu patogénov**. Predbežné výskumy naznačujú využiteľnosť probiotických laktobacilov **v prevencii proti rakovine** (Goldin a kol., 1996; McIntosh a kol., 1999). Rovnako sa predpokladá, že niektoré laktobacily, najmä *L. plantarum***,** zmierňujú prejavy enterokolitídy (zápalu čreva) vyvolanej chemoterapiou (Mao a kol., 1996). Iné vedecké štúdie poukazujú na antiaterosklerotické vlastnosti (znižujú riziko zužovania ciev v dôsledku zanášania) baktérií *L. bulgaricus* (novšie označenie *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*). V tejto súvislosti sú prospešné laktobacily spájané **so schopnosťou znižovať hladinu celkového** a **škodlivého** (tzv. „zlého“) **LDL** (z angl. „low density lipoprotein“) **cholesterolu v krvi** bez vplyvu na hladinu tzv. „dobrého“ HDL (z angl. „high density lipoprotein“) cholesterolu (Doncheva a kol., 2002; Losada a Olleros, 2002). V oblasti venujúcej sa využitiu laktobacilov v medicíne je však nevyhnutný ešte ďalší rozsiahly výskum.

18.1.1.1.2 *Lactoccocus lactis*

Do rodu ***Lactococcus*** patria **Gram-pozitívne, nemotilné koky** („laktokoky“), vyskytujúce sa samostatne, v pároch alebo retiazkach. Niektoré kmene ***Lactococcus lactis* subsp. *lactis*** sú používané ako probiotiká. Tieto kmene (napr. kmeň CV56) sa vyznačujú schopnosťou adherovať (priľnúť) na vaginálny epitel, ako aj **produkciou** polycyklického peptidu **nizínu s antibakteriálnymi účinkami** (Gao a kol., 2011; Yang a kol., 2013). V kombináciami s inými probiotikami sú **podávané pri hnačke spojenej s užívaním antibiotík** (Johnston a kol., 2011). Laktokoky ako homolaktické baktérie zo skupiny LAB sú **používané** aj v mliekarenskom priemysle **na výrobu fermentovaných mliečnych produktov** (Fijan, 2014).

18.1.1.1.3 *Streptococcus* a *Enterococcus* spp.

Zástupcovia rodov ***Streptococcus*** a ***Enterococcus*** sú tiež významnou súčasťou skupiny LAB. Niektoré kmene druhov *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* a *Enterococcus faecium* rezistentný na vankomycín patria medzi patogény a môžu spôsobiť závažné infekčné ochorenia (Hossain, 2014). Viaceré druhy a kmene streptokokov a enterokokov sú však **komenzálne** (symbiotické, no nie sú prospešné, ale ani škodlivé pre svojho hostiteľa) – kolonizujú ústa, pokožku a črevá ľudských hostiteľov. Príkladom môže byť kmeň *Enterococcus faecium* PC4.1 (Hadji-Sfaxi a kol., 2011) zastúpený v črevnej mikrobiote. Niektorí zástupcovia ako napr. ***Enterococcus durans*** (Fijan, 2014) alebo ***Streptococcus thermophilus*** (Pieniz a kol., 2013) **vykazujú probiotické vlastnosti**.

S. thermophilus (známy aj ako *S. salivarius* subsp. *termophilus*) je **hojne využívaný v mliekarenskom priemysle**. Napriek tomu, že probiotické preparáty na báze *E. faecium* boli dlhodobo používané spravidla na liečbu hnačiek vyvolaných užívaním antibiotík, niektoré kmene sú oportúnnymi patogénmi, ktoré predstavujú potenciálny rezervoár génov virulencie a antibiotickej rezistencie (Dirienzo, 2014).

18.1.1.2 *Bifidobacterium* spp.

Do rodu ***Bifidobacterium*** patria **Gram-pozitívne, nemotilné, nesporulujúce, anaeróbne** baktérie (Fijan, 2014) s tvarom pleomorfnej (mnohotvárnej), často rozvetvenej (v tvare písmena Y) **tyčinky**, ktoré podobne ako baktérie mliečneho kvasenia **produkujú laktát** a sú **prirodzene prítomné v GIT a vagíne cicavcov**, vrátane ľudí (Chen a kol., 2007). Niektoré druhy a kmene bifidobaktérií sú vďaka odolnosti voči účinku žlčových kyselín medicínsky **využívané ako probiotiká**. Dostupné sú najmä probiotické preparáty na báze *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. longum* subsp. *longum* a subsp. *infantis* a *B. animalis* subsp. *animalis* a subsp. *lactis* (Tab. 18.1). Probiotické kmene bifidiobaktérií sú spolu s inými probiotikami používané na zmiernenie prejavov ulceróznej kolitídy (zápalu vnútornej sliznice hrubého čreva a konečníka) (Aloisio a kol., 2012; Dylag a kol., 2014), na zmiernenie závažnosti ekzému (napr. atopického ekzému u dojčiat), na zníženie rizika rozvoja potravinových alergií (Isolauri a kol., 2012), na liečbu a prevenciu nekrotizujúcej enterokolitídy (zápalu čreva spojený s jeho čiastočným, prípadne kompletným odumieraním) u novorodencov (Di Gioia a kol., 2014), na liečbu zápchy (Chmielewska a Szajewska, 2010), cestovateľskej hnačky (McFarland, 2007) a hnačky spojenej s užívaním antibiotík (Hempel a kol., 2012). Viacerí zástupcovia bifidobaktérií sú **hojne využívaní** aj **v mliekarenskom priemysle**.

18.1.1.3 *Escherichia coli* Nissle 1917

Probiotickým kmeňom Gram-negatívnej baktérie *Escherichia coli* je *E. coli* Nissle 1917 (EcN) (Fijan, 2014). Spolu s inými probiotikami je tento kmeň medicínsky využívaný na liečbu zápalových črevných ochorení (Behnsen a kol., 2013) a zápchy (Chmielewska a Szajewska, 2010). Účinný je aj pri zmiernení prejavov Crohnovej choroby (zápal tráviacej sústavy, ktorý môže postihnúť jej hociktorú časť) (Xia a kol., 2013), ulceróznej kolitídy a iných GIT ťažkostí. Predpokladá sa, že kmeň *E. coli* Nissle 1917 môže mať pozitívne účinky aj na pacientov s rakovinou čreva, avšak v tejto oblasti je nevyhnutný rozsiahlejší výskum (Fijan, 2014).

18.1.1.4 *Bacillus* spp.

Do rodu ***Bacillus*** patria **Gram-pozitívne** obligátne aeróbne alebo fakultatívne anaeróbne baktérie **schopné vytvárať endospóry**. Hoci viaceré druhy a kmene tohto rodu môžu spôsobovať závažné ochorenia, niektoré druhy a kmene sú v medicíne využívané ako probiotiká. Ide najmä o **fakultatívne anaeróbne druhy s peritrichálnymi bičíkmi *B. cereus*, *B. subtilis* a *B. coagulans***. Probiotické preparáty na báze spór probiotických kmeňov *B. subtilis* (napr. *B. subtilis* EG-RN) a *B. cereus* NVH 75/95 sú podávané zvieratám (Fijan,

2014). U ľudí bolo probiotické použitie spór *B. subtilis* navrhnuté na liečbu hnačiek a ničenie choroboplodných zárodkov baktérie *Helicobacter pylori* (Tompkins a kol., 2010). Probiotické preparáty na báze baktérie *B. coagulans*, ktorá je schopná produkovať laktát, sú vysoko účinné na prevenciu a liečbu hnačiek spojených s užívaním antibiotík (Doron a kol., 2008; Hempel a kol., 2012). Použitie týchto probiotík na báze *Bacillus* spp. však predstavuje zdravotné riziko pre jedincov s oslabeným imunitným systémom (Hosoi a kol., 2003).

18.1.2 Probiotické kvasinky rodu *Saccharomyces*

Najznámejším zástupcom **eukaryotického rodu *Saccharomyces*** (patriaceho medzi huby zo skupiny Ascomycetes) je *S. cerevisiae* (kvasinka pivná) využívaná najmä na výrobu piva, vína, pekárenských výrobkov a vitamínov skupiny B. Pri výrobe alkoholu, najmä piva a destilátov sa však využíva aj *S. bayanus*. **V medicíne je využívaná ako probiotikum** najmä ***S. boulardii*** (Fijan. 2014). Výsledky analýz sekvenčných dát potvrdili, že *S. cerevisiae* je geneticky veľmi blízka, až takmer identická s *S. boulardii*, preto sa *S. boulardi* niekedy označuje aj ako ***S. cerevisiae* var. *boulardii*** (Fietto a kol., 2004).

Niekoľko štúdií poukazuje na klinický prínos kvasinky *S. boulardii* pri redukcii doby trvania hnačky u hospitalizovaných pacientov, a to bez ohľadu na jej príčinu (Szajewska a Mrukowicz, 2005; Johnston a kol., 2011; Dinleyici a kol., 2012; Shan a kol., 2013). Podávanie probiotického preparátu na báze tejto kvasinky sa ukázalo byť prospešné aj pre jedincov trpiacich syndrómom dráždivého čreva (súborom príznakov spájaných so zvýšenou resp. zníženou pohyblivosťou hrubého čreva) (Choi a kol., 2011), ako aj pri prevencii a liečbe relapsov (zhoršenia príznakov) zápalových ochorení čreva a liečbe ulceróznej kolitídy (Guslandi a kol., 2000, 2003). Na druhej strane u ľudí s oslabenou imunitou, prípadne inak znevýhodnených jedincov môže *S. boulardii* spôsobiť fungémiu (prítomnosť húb alebo kvasiniek v krvi) alebo lokálne infekcie (Hennequin a kol., 2000; Thygesen a kol.,2012).

18.2 Mechanizmy účinku probiotík

Na označenie stavu **mikrobiálnej** (resp. baktériovej) **nerovnováhy** na povrchu alebo vo vnútri tela živočíchov a ľudí je používaný termín **dysbióza,** resp. dysbakterióza (Tamboli a kol., 2004; Moos a kol., 2016). Časť prirodzenej ľudskej mikrobioty (napr. vaginálnej, kožnej alebo črevnej) môže byť v dôsledku rôznych faktorov narušená takým spôsobom, že **druhy mikróbov, ktoré u zdravých jedincov normálne dominujú, sú nedostatočne zastúpené na úkor iných mikroorganizmov**, ktoré môžu byť pre hostiteľský organizmus patogénne. Dysbióza je najčastejšie spájaná s GIT (Moos a kol., 2016). Príčinou tohto stavu môže byť stres, málo pohybu, časté užívanie antibiotík, tzv. západný štýl stravovania (potrava chudobná na vlákninu, ale bohatá na tuky), prípadne nedostatočná, ale aj nadmerná hygiena (Blaser a Falkow, 2009). V takýchto prípadoch je vhodné užívať probiotiká, ktoré napomôžu obnoveniu prirodzeného stavu mikrobioty. Hoci sú niektoré mechanizmy pozitívneho účinku probiotických mikroorganizmov na svojich hostiteľov dobre preštudované (O'Toole a Cooney, 2008), pochopenie niektorých predpokladaných mechanizmov pôsobenia probiotík si vyžaduje ďalší výskum (Kechagia a kol., 2013).

Jedným z dobre preštudovaných mechanizmov pozitívneho účinku probiotík je **kompetícia probiotických a patogénnych mikroorganizmov o adhézne miesta**. Na to, aby mohli patogény úspešne kolonizovať napr. GIT hostiteľa, musí väčšinou dôjsť k ich priľnutiu na epitel, resp. sliznicu GIT. **Viaceré druhy a kmene bifidobaktérií a baktérií mliečneho kvasenia sú** tiež **schopné adherovať (priľnúť) k sliznici GIT**, čím **vytvárajú pre patogény**

tzv. **„kolonizačnú bariéru“** (Fuller a Gibson, 1997; Hawrelak, 2013). Mechanizmus možno demonštrovať na baktériových kmeňoch *Lactobacillus rhamnosus* GG a *Lactobacillus plantarum* 299v, ktoré účinne inhibujú adhéziu patogénnych kmeňov baktérie *E. coli* k črevnému epitelu ľudských jedincov (Mack a kol., 1999; Hawrelak, 2013).

Probiotické druhy a kmene baktérií si s patogénmi konkurujú aj **v získavaní živín**. Ak sú probiotické mikroorganizmy v živočíšnej a ľudskej mikrobiote zastúpene dostatočne, dokáže využiť väčšinu dostupných monosacharidov, ktoré sú nevyhnutné aj pre rast patogénnych baktérií (ako napr. *Clostridium difficile*), čo vedie k efektívnej inhibícii rastu patogénov (Wilson a Perini, 1998; Hawrelak, 2013).

Ďalším mechanizmom pozitívneho účinku probitík je aj **modifikácia zloženia mikrobioty syntézou antimikrobiálnych látok, ktoré inhibujú rast patogénov** (Rolfe, 2000). Medzi známe biologicky aktívne zlúčeniny produkované probiotickými kmeňmi baktérií skupiny LAB patria napr. laktát (udržujúci kyslé pH napr. vo vagíne, čo bráni rastu patogénov), bakteriocín, diacetyl, peroxid vodíka a mastné kyseliny s krátkym reťazcom (Khalighi a kol., 2016). Bolo preukázané, že uvoľnením týchto látok do GIT alebo vagíny dochádza k pozitívnemu ovplyvneniu zloženia ich mikrobioty (Mishra a Lamber, 1996; Hawrelak, 2013). Existujú však aj kmene laktobacilov a bifidobaktérií produkujúce antimikrobiálne látky s nešpecifickým účinkom, ktoré by mohli negatívne ovplyvniť nielen patogénne, ale aj probiotické mikroorganizmy (Hawrelak, 2013).

V súčasnosti je známe, že probiotiká dokážu **stimulovať vrodenú imunitnú odpoveď** (Perdigon a kol., 1995) hostiteľa – zvýšenie sekrécie imunoglobulínu A (IgA) a počtu NK buniek (z angl. „natural killer“ cells), prípadne zvýšenie fagocytovej aktivity makrofágov (Schiffrin a kol., 1995; Hawrelak, 2013). Vďaka uvedeným **imunomodulačným vlastnostiam probiotík** vedci navrhujú ich potenciálne využitie nielen v boji proti črevným, urogenitálnym alebo kožným patogénom, ale aj ako pomocné prísady (adjuvanty) pri vakcinácii alebo pri liečbe a prevencii alergií na potraviny (Sutas a kol., 1996; Goldin, 1998; Pelto a kol., 1998; Schultz a Sartor, 2000; Miele a kol., 2009).

Probiotické baktérie majú veľký význam aj **pre ľudí s** tzv. **laktózovou intoleranciou** (LI) – **zníženou schopnosťou**, prípadne neschopnosťou **rozkladať laktózu** (mliečny cukor, disacharid zložený z glukózy a galaktózy) nachádzajúcu sa v mlieku a mliečnych výrobkoch. LI je spôsobená nedostatkom alebo úplnou absenciou enzýmu laktázy, ktorá v tenkom čreve rozkladá laktózu na glukózu a galaktózu. LI sa spravidla objavuje až v dospelosti a odhaduje sa, že je ňou postihnutých až viac ako 65% celosvetovej populácie dospelých. Najviac ľudí postihnutých LI je v africkej a najmenej v európskej populácii (Bayless a kol., 2017). U ľudí s LI sa **po konzumácii mlieka alebo mliečnych výrobkov** objavujú symptómy ako **bolesť brucha, nevoľnosť, nadúvanie a hnačka**. Ľudia s LI by buď nemali konzumovať mliečne výrobky vôbec, alebo **môžu konzumovať fermentované mliečne výrobky bohaté na probiotické baktérie** (napr. LAB alebo bifidobaktérie), ktoré sú **schopné rozkladať laktózu** (obsahujú enzým laktázu) a následne fermentovať glukózu a galaktózu na laktát (Silanikove a kol. 2015).

Ďalším pozitívnym účinok niektorých probiotických baktérií je napr. aj schopnosť napomáhať znižovaniu hladiny LDL cholesterolu v krvi (viď kapitola 18.1.1.1.1).

18.3 Prebiotiká

Prebiotiká sú **nestráviteľné zložky potravy** (napr. vláknina) **priaznivo ovplyvňujúce zdravotný stav hostiteľa** tým, že **selektívne stimulujú rast** a/alebo aktivitu jedného prípadne obmedzeného počtu **baktériových druhov kolonizujúcich hrubé črevo** (Gibson a Roberfroid, 1995). Iná definícia vystihuje prebiotiká ako **zložky potravy**, ktoré sú

selektívne fermentované probiotickými mikroorganizmami (Gibson, 2011). Prebiotiká majú teda **pozitívny vplyv na zloženie črevnej mikrobioty** ľudí (Gibson a kol., 2004; Bäckhed a kol., 2012).

Najdôležitejším prebiotikom je **vláknina. Pod pojmom** vláknina rozumieme celý **súbor nestráviteľných zložiek potravy**, ktoré slúžia ako **„potrava" pre probiotické mikroorganizmy**. Ide **prevažne** o **polysacharidy** (napr. celulóza) **a oligosacharidy** (napr. fruktany a galaktany) **rastlinného pôvodu**. Medzi vlákninu však patrí napr. aj **chitín** (polysacharid tvoriaci bunkovú stenu húb a exoskelet článkonožcov) alebo **lignín** (rastlinný pomerne heterogénny polymér bez presne definovanej primárnej štruktúry). **Vláknina** môže byť rozpustná (napr. pektíny a rôzne gumy), nerozpustná (napr. celulóza a lignín) alebo môže ísť o kombináciu predchádzajúcich dvoch typov (napr. otruby). Pomerne významnou formou vlákniny je aj **inulín** – rastlinný fruktán (oligo- resp. polysachrid) zložený z 2-60 monomérov fruktózy). Všetky typy vlákniny sú **odolné voči pôsobeniu hydrolytickým enzýmov** GIT, vďaka čomu predstavujú vhodný **substrát pre mikrobiálnu fermentáciu**. Výsledkom procesu kvasenia vlákniny sú produkty ako mastné kyseliny s krátkym alebo dlhým reťazcom, vitamíny, aminokyseliny, antioxidanty, fytosteroly, peptidy a rastové faktory. Mikrobiálnou fermentáciou je takto uvoľnených niekoľko stoviek až miliónov látok, ktoré sú ďalej absorbované črevom. Medzi **potraviny bohaté na vlákninu** patria najmä **celozrnné výrobky a cereálie**, **strukoviny, zelenina, ovocie, semená a orechy** (Farkaš a Francanová, 2008). Medzi **najhojnejšie zdroje vlákniny** patria napr. **koreň čakanky, artičoky, cesnak, pór a cibuľa**. Zdrojom prebiotických oligosacharidov je aj materské mlieko. Údaje o odporúčanej dennej dávke vlákniny sa v odbornej literatúre líšia. Farkaš a Francanová (2008) uvádzajú odporúčanú dennú dávku vlákniny pre dospelého jedinca zhruba 30-35 g, čomu zodpovedá cca 0,5 kg ovocia a zeleniny.

Niektoré formy vlákniny ako napr. inulín je možné užívať aj vo forme výživových doplnkov. Pojmom **synbiotiká** sú označované výživové doplnky alebo potravinové prísady, ktoré obsahujú **probiotiká v kombinácii s prebiotikami** (Pandey a kol., 2015).

18.4 Probiotiká v potravinách a výživových doplnkoch

Rôzne druhy a kmene **probiotických baktérií** sa vyskytujú predovšetkým **v nepasterizovanej kvasenej zelenine** (napr. v kvasenej kapuste, v kimči a v nakladaných uhorkách) a **v nepasterizovaných kyslomliečnych výrobkoch** (v jogurtoch, v kefíre, v ovčom syre, v bryndzi a v zrejúcich syroch) (Ortakci a kol., 2012; Ganesan a kol., 2014). Pasterizáciou sú probiotické baktérie spravidla usmrtené. Do mnohých výrobkov (najmä mliečnych) sa však probiotické baktérie pridávajú po pasterizácii. Probiotiká sú aj súčasťou viacerých výživových doplnkov určených na veterinárne a medicínske použitie. Niektoré probiotické mikroorganizmy prípadne ich kombinácie sú **na Slovensku registrované** ako **lieky** (Tab. 18.2). Okrem týchto klinicky testovaných liekov s presne definovanými medicínskymi indikáciami sú na trhu voľne dostupné aj mnohé iné **výživové doplnky obsahujúce probiotiká** (Bilková a kol., 2019).

Pri výbere probiotického preparátu určeného na medicínske použitie je vhodné zohľadniť zdravotný stav jedinca a účel použitia probiotika. Môže ísť o terapiu alebo prevenciu. Určitý prospešný druh alebo kmeň mikroorganizmu môže byť účinný v prevencii, ale nie v terapii a naopak (McFarlan a kol., 2018; Sniffen a kol., 2018)). Na základe zdravotného stavu a výsledkov klinických štúdii je možné vybrať konkrétnych druh, kmeň alebo zmes druhov, resp. kmeňov probiotických mikroorganizmov. Pri vybranom probiotickom preparáte je vhodné všímať si výrobcu z hľadiska kontroly kvality a dôveryhodnosti, odporúčanú dennú dávku a označenie probiotického druhu/kmeňa, resp.

druhov/kmeňov na obale produktu. V súvislosti s voľbou vhodného probiotika je odporúčaná konzultácia s ošetrujúcim lekárom alebo lekárnikom, ktorí môžu zvážiť prípadné kontraindikácie a interakcie s antibiotikom (Bilková a kol., 2019).

Tabuľka 18.2. Lieky registrované na Slovensku obsahujúce probiotiká *(upravené podľa Bilková a kol., 2019)*

Názov lieku	**Probiotické mikroorganizmy**	**Počet životaschopných buniek**
Linex	*Bifidobacterium infatis* *Enterococcus faecium* *Lactobacillus acidophilus*	1,2 x 10^7 CFU*/cps**
Hylak forte	*Escherichia coli* *Lactobacillus acidophilus* *Lactobacillus helveticus* *Streptococcus faecalis*	1 ml roztoku zodpovedá produktom metabolizmu 10^{10} baktérií
Enterol	*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-745	Neuvedené
Gynoflor	*Lactobacillus acidophilus*	10^7 CFU/tbl vag***
Mutaflor	*Escherichia coli* Nissle 1917	2,5 – 25 x 10^9 CFU*/cps**

**CFU – z angl. „colony forming unit" (počet baktérií, koľko kolónií by vzniklo po naočkovaní na Petriho misky), **cps – kapsula, ***tbl vag – vaginálna tabletka*

V súčasnosti sa do popredia dostávajú aj tzv. postbiotiká. **Postbiotiká** sú definované ako **modifikované** (Zorzela a kol., 2017), **inaktivované, neživotaschopné** (Maruyama a kol., 2016) „para-probiotiká", resp. „mŕtve **probiotiká**" (Deshpande a kol., 2018), ktoré **môžu** po požití vo vhodnom množstve **vyvolať pozitívny biologický účinok** a napomôcť obnoviť zdraviu prospešnú mikrobiotu **podobne ako probiotiká** (Popović a kol., 2019). Postbiotiká sú v posledných rokoch zaujímavé hlavne z hľadiska nízkej tolerancie probiotík u detí, ťažko chorých pacientov a jedincov s oslabeným imunitným systémom (Piqué a kol., 2019).

18.5 Potenciálne riziká a interakcie spojené s užívaním probiotík

Aj keď sú **probiotiká vo všeobecnosti** považované za **bezpečné**, **pre určitú časť ľudskej populácie môžu predstavovať isté riziko**. Ide najmä o imunokompromitovaných (s oslabeným imunitným systémom), resp. pacientov s AIDS, onkologických pacientov, resp. pacientov po chemoterapii, pacientov s chybami srdcových chlopní a pacientov po chirurgických zákrokoch v oblasti GIT, ale aj nedonosených novorodencov (Bilková a kol., 2019). U týchto jedincov bola ojedinele zaznamenaná **bakterémia** (prítomnosť baktérií v krvi) vyvolaná laktobacilmi alebo **fungémia** spôsobená kvasinkou *Saccharomyces boulardii* (Khalighi a kol., 2016). V prípade osôb spadajúcich do rizikových skupín je potrebné zvážiť bezpečnosť podávania probiotík (Kothari a kol., 2019).

Čo sa týka **interakcií s probiotikami**, **rast a účinok prospešných LAB a bifidobaktérií negatívne ovplyvňuje alkohol a antibiotiká** (Finegold a kol., 1983; Hawrelak, 2013). Exaktne zatiaľ nie je dokázané, žeby probiotické mikroorganizmy výrazne interferovali s aktivitou antibiotík. Niektoré kmene *L. acidophilus* však napr. môžu ovplyvniť

metabolizmus látok ako sulfasalazín, chloramfenikol palmitát a ftalylsulfatiazol (Pradhan a Majumdar, 1986; Hawrelak, 2013). Oveľa závažnejším problémom však je, že **požívanie antibiotík a alkoholu vedie k zdecimovaniu prospešnej črevnej mikrobioty**, čo **často vedie k hnačkám**. Počas a po skončení užívania antibiotík sa preto vo všeobecnosti odporúča užívať aj probiotiká.

Literatúra

ALANDER, M. a kol. 1999. Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus rhamnosus* GG, after oral consumption. Appl Environ Microbiol 65, 351-354.

ALOISIO I. a kol. 2012. Characterization of *Bifidobacterium* spp. strains for the treatment of enteric disorders in newborns. Appl Microbiol Biotechnol 96, 561-576.

BÄCKHED, F. a kol. 2012. Defining a healthy human gut microbiome: Current concepts, future directions, and clinical applications. Cell Host Microbe 12, 611-622.

BAYLESS, T. M. – BROWN, E. – PAIGE, D. M. 2017. Lactase non-persistence and lactose intolerance. Curr Gastroenterol Rep 19, 23.

BEHNSEN, J. a kol. 2013. Probiotics: Properties, examples, and specific applications. Cold Spring Harb Perspect Med 3, a010074.

BILKOVÁ, A. a kol. 2019. Problematika probiotík v súčasnosti. Prakt lekárn 9, 14-20.

BLASER, M. J. – FALKOW, S. 2009. What are the consequences of the disappearing human microbiota? Nat Rev Microbiol 7, 887-894.

DESHPANDE, G. – ATHALYE-JAPE, G. – PATOLE, S. 2018. Para-probiotics for preterm neonates-the next frontier. Nutrients 10, E871.

DI GIOGIA, D. a kol. 2014. Bifidobacteria: their impact on gut microbiota composition and their applications as probiotics in infants. Appl Microbiol Biotechnol 98, 563-577.

DINLEYICI, E. C. a kol. 2012. Effectiveness and safety of *Saccharomyces boulardii* for acute infectious diarrhea. Expert Opin Biol Ther 12, 395-410.

DIRIENZO, D. B. 2014. Effect of probiotics on biomarkers of cardiovascular disease: implications for heart-healthy diets. Nutr Rev 72, 18-29.

DONCHEVA, N. I. 2002. Experimental and clinical study on the hypolipidemic and antisclerotic effect of *Lactobacillus bulgaricus* strain GB N 1 (48). Nutr Res 22, 393-403.

DORON, S. I. – HIBBERD, P. L. – GORBACH, S. L. 2008. Probiotics for prevention of antibiotic-associated diarrhea. J Clin Gastroenterol 42, 58-63.

DYLAG, K. a kol. 2014. Probiotics in the mechanism of protection against gut inflammation and therapy of gastrointestinal disorders. Curr Pharm Des 20, 1149-1155.

FARKAŠ, A. – FRANCANOVÁ, D. 2008. Miesto probiotík a prebiotík v klinickej výžive. Ambulantná terapia 6, 48-53.

FIETTO, J. L a kol. 2004. Molecular and physiological comparisons between *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*. Can J Microbiol 50, 615-621.

FIJAN, S. 2014. Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. Int J Environ Res Public Health 11, 4745-4767.

FINEGOLD, S. – MATHISEN, G. – GEORGE, W. 1983. Changes in the human intestinal flora related to the administration of antimicrobial agents. In Hentges D. J. (ed.), Human intestinal microflora in health and disease. London: Academic Press. s. 355-448.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS and WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO and WHO) 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report

of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Dostupné na: <https://web.archive.org/web/20121022161702/http:/www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf>.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS and WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO and WHO) 2006. Probiotics in food. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Dostupné na: <http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>.

FULLER, R. – GIBSON, G. R. 1997. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. Scand J Gastroenterol Suppl 222, 28-31.

GANESAN, B. a kol. 2014. Probiotic bacteria survive in Cheddar cheese and modify populations of other lactic acid bacteria. J Appl Microbiol 116, 1642-1656.

GAO, Y. a kol. 2011. Complete genome sequence of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CV56, a probiotic strain isolated from the vaginas of healthy women. J Bacteriol 193, 2886-2887.

GÄNZLE M. G. 2015. Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage". Curr Op Food Sci 2, 106-117.

GIBSON, G. R. 2011. Food science and technology bulletin – functional foods. Vol. 7. Berkshire, UK: International Food Information Service.

GIBSON, G. R. a kol. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. Nutr Res Rev 17, 259-275.

GIBSON, G. R. – ROBERFROID, M. B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. J Nutr 125, 1401-1412.

GOLDIN, B. R. 1998. Health benefits of probiotics. Br J Nutr 80, 203-207.

GOLDIN, B. R. – GUALTIERI, L. J. – MOORE, R. P. 1996. The effect of *Lactobacillus* GG on the initiation and promotion of DMH-induced intestinal tumors in the rat. Nutr Cancer 25, 197-204.

GUARNER, F. – SCHAAFSMAN, G. J. 1998. Probiotics. Int J Food Microbiol 39, 237-238.

GUSLANDI M. a kol., 2000. *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. Dig Dis Sci 45, 1462-1464.

GUSLANDI, M. – GIOLLO, P. – TESTONI, P. A. 2003. A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. Eur J Gastroenterol Hepatol 15, 697-698.

HADJI-SFAXI, I. a kol. 2011. Antimicrobial activity and safety of use of *Enterococcus faecium* PC4.1 isolated from Mongol yogurt. Food Contr 22, 2020-2027.

HAWRELAK, J. 2013. Probiotics. In Pizzorno J. E. – Murray M. T. (eds.), Textbook of natural medicine. 4th edition. St. Louis, Missouri: Churchill Livingstone Elsevier, 979-994.

HEMPEL, S. a kol. 2012. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: A systematic review and meta-analysis. JAMA 307, 1959-1969.

HENNEQUIN, C. a kol. 2000. Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 19, 16-20.

HOSOI, T. a kol. 2003. Cytokine responses of human intestinal epithelial-like Caco-2 cells to the nonpathogenic bacterium *Bacillus subtilis* (natto). Int J Food Microbiol 82, 255-264.

HOSSAIN, Z. 2014. Bacteria: *Streptococcus*. Encyclop Food Safety 1, 535-545.

CHEN, J. – CAI, W. – FENG, Y. 2007. Development of intestinal bifidobacteria and *Lactobacilli* in breast-fed neonates. Clin Nutr 26, 559-566.

CHMIELEWSKA, A. – SZAJEWSKA, H. 2010. Systematic review of randomised controlled trials: Probiotics for functional constipation. World J Gastroenterol 16, 69-75.

CHOI, C. H. a kol. 2011. A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial of *Saccharomyces boulardii* in irritable bowel syndrome: Effect on quality of life. J Clin Gastroenterol 45, 679-683.

ISOLAURI, E. – RAUTAVA, S. – SALMINEN, S. 2012. Probiotics in the development and treatment of allergic disease. Gastroenterol Clin North Am 41, 747-762.
JOHNSTON, B. C. a kol. 2011. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. Cochrane Database Syst Rev 11, CD004827.
KECHAGIA, M. a kol. 2013. Health benefits of probiotics: A Review. ISRN Nutr 2013, 481651.
KHALIGHI, A. – BEHDANI, R. – KOUHESTANI, S. 2016. Probiotics: A comprehensive review of their classification, mode of action and role in human nutrition. In Rao V. – Rao L. G. (eds.), Probiotics and prebiotics in human nutrition and health. Dostupné na: <https://www.intechopen.com/books/probiotics-and-prebiotics-in-human-nutrition-and-health/probiotics-a-comprehensive-review-of-their-classification-mode-of-action-and-role-in-human-nutrition>.
KOTHARI, D. – PATEL, S. – KIM S. K. 2019. Probiotic supplements might not be universally-effective and safe: A review. Biomed Pharmacother 111, 537-547.
LILLY, D. M. – STILLWELL, R. H. 1965. Probiotics: Growth-promoting factors produced by microorganisms. Science 147, 747-748.
LOSADA, M. A. – OLLEROS, T. 2002. Towards a healthier diet for the colon: the influence of fructooligosaccharides and lactobacilli on intestinal health. Nutr Res 22, 71-84.
MACK, D. R. a kol. 1999. Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. Am J Physiol 276, G941-950.
MAGGI, L. a kol. 2000. Technological and biological evaluation of tablets containing different strains of lactobacilli for vaginal administration. Eur J Pharm Biopharm 50, 389-395.
MAO, Y. a kol. 1996. The effects of *Lactobacillus* strains and oat fiber on methotrexate-induced enterocolitis in rats. Gastroenterol 111, 334-344.
MAKAROVA, K. a kol. 2006. Comparative genomics of the lactic acid bacteria. Proc Natl Acad Sci USA 103, 15611-15616.
MARUYAMA, M. a kol. 2016. The effects of non-viable *Lactobacillus* on immune function in the elderly: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. Int J Food Sci Nutr 67, 67-73.
McFARLAND, L. V. 2007. Meta-analysis of probiotics for the prevention of traveler's diarrhea. Travel Med Infect Dis 5, 97-105.
McFARLAND, L. V. – EVANS, C. T. – GOLDSTEIN, E. J. C. 2018. Strain-specificity and disease-specificity of probiotic efficacy: A systematic review and meta-analysis. Front Med 5, 124.
McINTOSH, G. H. – ROYLE, P. J. – PLAYNE, M. J. 1999. A probiotic strain of *L. acidophilus* reduces DMHinduced large intestinal tumors in male Sprague-Dawley rats. Nutr Cancer 35, 153-159.
MIELE, E. a kol. 2009. Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. Am J Gastroenterol 104, 437-443.
MISHRA, C. – LAMBERT, J. 1996. Production of anti-microbial substances by probiotics. Asia Pac J Clin Nutr 5, 20-24.
MITSUOKA, T. 1992. Intestinal flora and ageing. Nutr Rev 50, 438-446.
MOOS, W. H. a kol. 2016. Microbiota and neurological disorders: A gut feeling. BioRes Open Access 5, 137-145.
ORTAKCI, F. a kol. 2012. Survival of microencapsulated probiotic *Lactobacillus paracasei* LBC-1e during manufacture of Mozzarella cheese and simulated gastric digestion. J Dairy Sci 95, 6274-6281.

O'TOOLE, P. W. – COONEY, J. C. 2008. Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microbiota. Interdiscip Perspec Infect Dis 2008, 175285.
PANDEY, K. R. – NAIK, S. R. – VAKIL, B. V. 2015. Probiotics, prebiotics and synbiotics – a review. J Food Sci Technol 52, 7577-7587.
PELTO, L. a kol. 1998. Probiotic bacteria down-regulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. Clin Exp Allergy 28, 1474-1479.
PERDIGON, G. a kol. 1995. Immune system stimulation by probiotics. J Dairy Sci 78, 1597-1606.
PIENIZ, S. a kol. 2013. Production of selenium-enriched biomass by *Enterococcus durans*. Biol Trace Elem Res 155, 447-454.
PIQUÉ, N. – BERLANGA, M. – MIÑANA-GALBIS, D. 2019. Health benefits of heat-killed (tyndallized) probiotics: An overview. Int J Mol Sci 20.
POPOVIĆ, N. a kol. 2019. The influence of heat-killed *Enterococcus faecium* BGPAS1-3 on the tight junction protein expression and immune function in differentiated Caco-2 cells infected with *Listeria monocytogenes* ATCC 19111. Front Microbiol 10, 412.
PRADHAN, A. – MAJUMDAR, M. K. 1986. Metabolism of some drugs by intestinal lactobacilli and their toxicological considerations. Acta Pharmacol Toxicol 58, 11-15.
ROLFE, R. D. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. J Nutr 130, 396-402.
RUIZ, L. – MARGOLLES, A. – SÁNCHEZ, B. 2013. Bile resistance mechanisms in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. Front Microbiol 4, 396.
SHAN, L. S. a kol. 2013. Prevention and treatment of diarrhoea with *Saccharomyces boulardii* in children with acute lower respiratory tract infections. Benef Microbes 1, 329-334.
SCHIFFRIN, E. J. a kol. 1995. Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. J Dairy Sci 78, 491-497.
SCHULTZ, M. – SARTOR, R. B. 2000. Probiotics and inflammatory bowel diseases. Am J Gastroenterol 95, 19-21.
SILANIKOVE, N. – LEITNER, G – MERIN, U. 2015. The interrelationships between lactose intolerance and the modern dairy industry: Global perspectives in evolutional and historical backgrounds. Nutrients 7, 7312-7331.
SNIFFEN, J. C. a kol. 2018. Choosing an appropriate probiotic product for your patient: An evidence-based practical guide. PLoS One 13, e0209205.
SULLIVAN, A. – BARKHOLT, L. – NORD, C. E. 2003. *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus* F19 prevent antibiotic-associated ecological disturbances of *Bacteroides fragilis* in the intestine. J Antimicrob Chemother. 52, 308-311.
SUTAS, Y. – HURME, M. – ISOLAURI, E. 1996. Down-regulation of anti-CD3 antibody-induced IL-4 production by bovine caseins hydrolysed with *Lactobacillus* GG-derived enzymes. Scand J Immunol 43, 687-689.
SZAJEWSKA, H. – MRUKOWICZ, J. 2005. Meta-analysis: Non-pathogenic yeast *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea. Aliment Pharmacol Ther 22, 365-372.
TAMBOLI, C. P. a kol. 2004. Dysbiosis in inflammatory bowel disease. Gut 53, 1-4.
TANNOCK, G. W. 1999. Analysis of the intestinal microflora: A renaissance. Antonie van Leenwenhoek 76, 265-278.
THYGESEN, J. B. – GLERUP, H. – TARP, B. 2012. *Saccharomyces boulardii* fungemia caused by treatment with a probioticum. BMJ Case Rep 2012, bcr0620114412.
TISSIER, H. 1906. Traitement des infections intestinales par la méthode de la flore bactérienne de l'intestin. CR Soc Biol 60, 359-361.

TOMPKINS, T. A. – XU, X. – AHMARANI, J. 2010. A comprehensive review of post-market clinical studies performed in adults with an Asian probiotic formulation. Benef Microbes 1, 93-106.

TULUMOGLU, S. a kol. 2013. Probiotic properties of *Lactobacilli* species isolated from children's feces. Anaerobe 24, 36-42.

WALKER, W.A.2013. Initial intestinal colonization in the human infant and immune homeostasis. Ann Nutr Metab 63, 8-15.

WALTER, J. 2008. Ecological role of Lactobacilli in the gastrointestinal tract: Implications for fundamental and biomedical research. Appl Environ Microbiol 74, 4985-4996.

WILSON, K. H. – PERINI, F. 1988. Role of competition for nutrients in suppression of *Clostridium difficile* by the colonic microflora. Infect Immun 56, 2610-2614.

XIA, P. – ZHU, J. – ZHU, G. 2013. *Escherichia coli* Nissle 1917 as safe vehicles for intestinal immune targeted therapy—A review. Acta Microbiol Sin 53, 538-544.

YANG, X. – WANG, Y. – HUO, G. 2013. Complete genome sequence of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* KLDS4.0325. Genome Announc 6, e00962-13.

YUN, B. – OH, S. – GRIFFITHS, M. W. 2014. *Lactobacillus acidophilus* modulates the virulence of *Clostridium difficile*. J Dairy Sci 97, 4745-4758.

ZEINHOM, M. a kol. 2016. Yogurt containing bioactive molecules produced by *Lactobacillus acidophilus* La-5 exerts a protective effect against enterohemorrhagic *Escherichia coli* in mice. J Food Prot 75, 1796-1805.

ZORZELA,, L. a kol. 2017. Is there a role for modified probiotics as beneficial microbes: a systematic review of the literature. Benef Microbes 8, 739-754.

19 SINICE (CYANOBACTERIA)

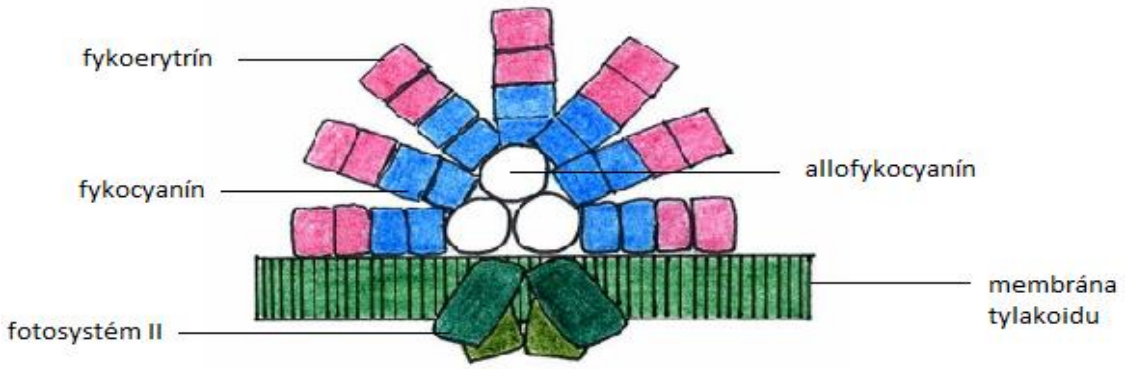
Karin Zajacová, Matej Vesteg

Skupina Cyanobacteria (cyanobaktérie, sinice) patrí do domény **Bacteria**, ide teda o **prokaryotické** organizmy. Znamená to, že **nemajú jadro, ER, GA ani mitochondrie a rozmnožujú sa výlučne nepohlavne**. **Sinice majú** rovnako ako všetky ostatné **Gram-negatívne baktérie dve membrány**, **medzi ktorými je tenká peptidoglykánová (mureínová) bunková stena**.

Sinice sú fotosyntetické baktérie, ktoré patria pravdepodobne medzi jednu z najstarších línií baktérií a živých organizmov žijúcich na našej planéte vôbec. Za **najstaršie fosílie** sú považované **stromatolity staré 3.5 miliárd rokov**. **Stromatolity sú makroskopické útvary**, ktoré dnes **vznikajú činnosťou siníc**, preto sa vo všeobecnosti predpokladá, že sinice alebo im podobné organizmy **začali fotosyntézou produkovať kyslík** už v období 3.8-3.5 miliárd rokov dozadu. Dovtedy nebol v atmosfére Zeme pravdepodobne takmer žiadny kyslík. Bez nich by sa teda nemohli vyvinúť aeróbne organizmy, ktoré kyslík spotrebúvajú a existencia života v takej podobe, v akej ho poznáme dnes, by nebola možná.

Zo siníc vznikli tzv. **primárnou endosymbiózou** v období 1-2 miliardy rokov dozadu aj tzv. **primárne chloroplasty spoločného predka eukaryotickej skupiny Archaeplastida**, ktorá dnes zahrňuje skupiny Glaucophyta a červené a zelené riasy (viď kapitoly 22 a 25). Primárne chloroplasty skupiny Archaeplastida majú dodnes so sinicami spoločných viacero znakov ako napr., že obsahujú DNA a ribozómy prokaryotického (sinicového) pôvodu a sú obalené dvomi membránami (viď kapitoly 22 a 25). **Deriváty vnútornej membrány siníc a chloroplastov sa nazývajú tylakoidy a sú významnými fotosyntetickými kompartmentami**.

Sinice majú obyčajne modrozelené sfarbenie (po grécky cyanos = modrý). Zafarbenie spôsobujú fotosyntetické farbivá, ktoré slúžia ako svetlo-zberné komplexy umožňujúce fotosyntézu. U siníc je to konkrétne zelený **chlorofyl *a*** a väčšina z nich obsahuje aj **fikobilíny** – modré farbivá **fykocyanín**, **allofykocyanín** a červený **fykoerytrín** (Záhorovská a kol., 1998; Kalina, 2001; Bačkor, 2007). Medzi ďalšie pigmenty často prítomné u siníc patria karotény a xantofyly. **Fikobilíny tvoria** anténovité štruktúry **fykobilizómy**, ktoré sú **uložené na tylakoidoch** (obr. 19.1).

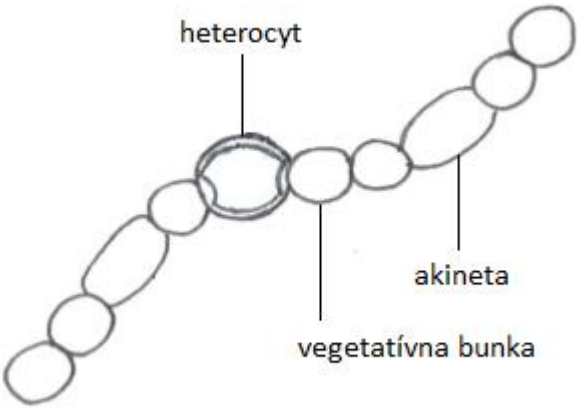


Obr. 19.1. Štruktúra fykobilizómov

Sinice sú teda **fotosyntetické prokaryotické mikroorganizmy produkujúce O_2** prostredníctvom fotosyntézy, čím pomáhajú vytvárať kyslíkatú zložku atmosféry Zeme dodnes. Okrem produkcie kyslíka sa významnou mierou podieľajú aj **na fixácii CO_2 pomocou** enzýmu nazývaného **ribulóza-1,5-bisfosfát karboxyláza** (RuBisCo). **Tento enzým je u siníc sústredený v** špecializovaných cytoplazmatických **organelách** s ikozaedrálnym proteínovým obalom nazývaných **karboxyzómy**. Karboxyzómy sa však vyskytujú aj u iných fotosyntetických línií baktérií, ktoré nepatria medzi sinice, neprodukujú O_2, ale majú schopnosť fixácie CO_2 (napr. u purpurových sírnych baktérií) (Yeates a kol., 2008). Sacharidy vyprodukované počas fotosyntézy sa ďalej ukladajú do zásobných polysacharidov. Hoci sa v učebniciach často zavádzajúco uvádza, že zásobnou látkou siníc je tzv. „sinicový škrob“, v skutočnosti je **hlavnou zásobnou látkou siníc glykogén** (De Porcellinis a kol., 2017) a iné zásobné polysacharidy súborne označované ako tzv. „sinicový škrob“ sa vyskytujú len u niektorých zástupcov siníc (Suzuki a kol., 2013).

Bunky siníc nemajú bičíky. Veľkosť buniek siníc sa pohybuje v priemere od 0.5 do 10 μm, hoci ich bunky môžu byť aj väčšie a na prvý pohľad komplexnejšie ako bunky niektorých jednobunkových eukaryotov. Veľkosť genómov siníc približne zodpovedá veľkostiam genómov baktérií, hoci v niektorých prípadoch tiež presahuje veľkosť genómov niektorých jednobunkových eukaryotov.

Sinice môžu byť **jednobunkové** aj **mnohobunkové.** Jednobunkové sinice môžu vytvárať aj kolónie pravidelného alebo nepravidelného tvaru**. Mnohobunkové sinice sú vláknité** (s vetvenými alebo nevetvenými vláknami) a často dokonca aj **s diferenciáciou buniek v rámci vlákien** na **vegetatívne bunky slúžiace na fotosyntézu**, z ktorých môžu vznikať **heterocyty slúžiace najmä na fixáciu vzdušného dusíka** a **akinety slúžiace na prečkanie nepriaznivých podmienok** (obr. 19.2). Vláknité sinice sa môžu rozmnožovať aj rozpadom vlákien.



Obr. 19.2. Diferenciácia buniek u vláknitých cyanobaktérií

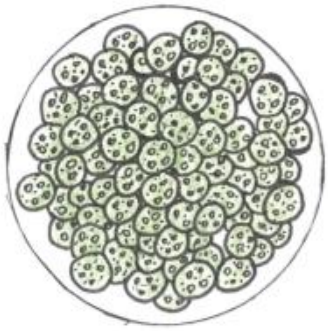
Sinice sú kozmopolitné mikroorganizmy. Sú veľmi **hojné v oceánoch, moriach a v sladkých vodách**, ale množstvo z nich obýva aj terestrické biotopy (pôda, nárasty na kameňoch, kôrach stromov a pod.). Niektoré z nich sú aj endosymbiotami lišajníkov, prvkov a hubiek. V stojatých a mierne tečúcich sladkých vodách ale aj v moriach pri premnožení často vytvárajú tzv. **vodný kvet** (po angl. bloom) – **nepravidelné aglomerácie siníc na hladinách vôd viditeľné voľným okom**. Sfarbujú vodu do žltozelena, hneda až hnedočervena a sú indikátorom organického znečistenia – **eutrofizácie** vôd. Sinice produkujú aj tzv. **cyanotoxíny** – látky sekundárneho metabolizmu, ktoré môžu mať napr. imunotoxické,

neurotoxické alebo dermatotoxické účinky. Mnohé sinice majú aj značný biotechnologický (napr. výroba biopalív) a farmaceutický význam (výroba liečív a výživových doplnkov).

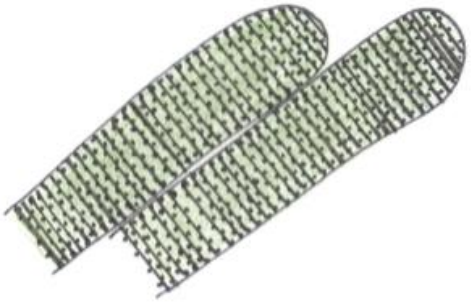
Stojí za zmienku, že **niektoré sinice** (napr. rod *Prochlorococcus*) **fykobilíny neobsahujú**, ale okrem chlorofylu *a* **obsahujú** aj **chlorofyl *b*** a veľmi zriedkavo aj chlorofyl *c* a/alebo *d*. Pre neprítomnosť fykobilínov a prítomnosť chlorofylu *b* neboli v minulosti radené medzi sinice, ale boli často považované za samostatnú skupinu **Prochlorophyta**. Dnes už je však jasné, že ide o sinice, ktoré funkciu fykobilínov nahradili funkciou chlorofylu *b*. Navyše sa ukázalo, že k takémuto nahradeniu došlo u viacerých línií siníc nezávisle a preto by Prochlorophyta nemali byť samostatnou skupinou (Urbach a kol., 1992). *Prochloroccocus* je jedným z najhojnejšie zastúpených rodov mikroorganizmov v oceánoch. Je blízko príbuzný ďalšiemu veľmi rozšírenému morskému rodu siníc *Synechoccocus*, ktorý však má typické fykobilizómy a nemá chlorofyl *b* (Partensky a kol., 1999).

Medzi typické príklady rodov siníc s fykobilizómami (a bez chlorofylu *b*), ktoré sú pomerne hojné aj u nás, patria rody *Chroococcus* (obr. 19.3), *Microcystis* (obr. 19.4), *Oscillatoria* (19.5), *Nostoc* (19.6) a *Anabaena* (19.7).

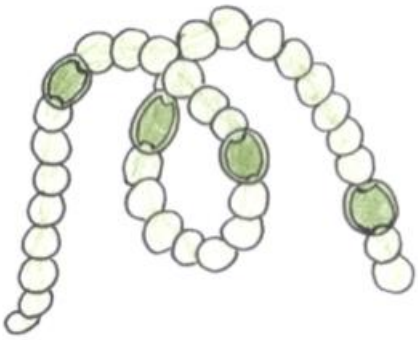
Obr. 19.3. **Chroococcus *sp.***



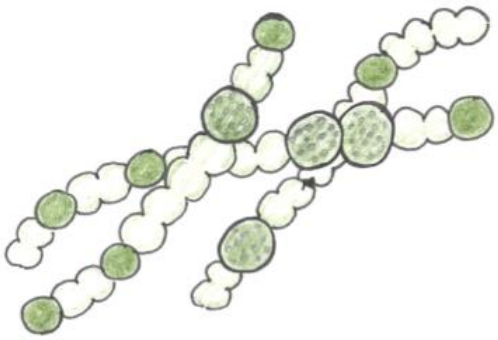
Obr. 19.4. **Microcystis *sp.***



Obr. 19.5. **Oscillatoria *sp.***



Obr. 19.6. **Nostoc *sp.***



Obr. 19.7. **Anabaena *sp.***

Literatúra

BAČKOR, M. 2007. Systematika nižších rastlín I. (sinice, riasy, slizovky). Košice: Univerzita P. J. Šafárika.

DE PORCELLINIS, A. – FRIGAARD, N. U. – SAKURAGI, Y. 2017. Determination of the glycogen content in cyanobacteria. J Vis Exp (125).

KALINA, T. 2001. Systém a vývoj sinic a řas. Praha: Karolinum.

PARTENSKY, F. – HESS, W. R. – VAULOT, D. 1999. *Prochlorococus*, a marine photosznthetic prokaryote of global significance. Microbiol Mol Biol Rev 63, 106-127.
SUZUKI, E. a kol. 2013. Physicochemical variation of cyanobacterial starch, the insoluble α-Glucans in cyanobacteria. Plant Cell Physiol 54, 465-473.
URBACH, E. – ROBERTSON, D. L. – CHISHOLM, S. W. 1992. Multiple evolutionary origins of prochlorophytes within the cyanobacterial radiation. Nature 355, 267-70.
YEATES, T. O. a kol. 2008. Protein-based organelles in bacteria: carboxysomes and related microcompartments. Nat Rev Microbiol 6, 681-691.
ZÁHOROVSKÁ, E. a kol. 1998. Systém a evolúcia nižších rastlín. Bratislava: Univerzita Komenského.

20 DOMÉNA ARCHAEA (ARCHEÓNY)

Matej Vesteg, Katarína Majkútová, Simona Kobušová

Spoločným znakom všetkých prokaryotických aj eukaryotických **buniek je prítomnosť ribozómov**, ktoré prekladajú mRNA do proteínov. Univerzálna prítomnosť a funkcia ribozómov vo všetkých bunkách naznačuje, že **spoločný predchodca všetkých živých bunkových organizmov** (LUCA – *L*ast *U*niversal *C*ommon *A*ncestor) **mal ribozómy**. V roku 1977 predostreli **Carl Woese a George Fox** vedeckej komunite principiálne nový pohľad na klasifikáciu organizmov práve na základe porovnávacej analýzy 16S (resp. eukaryotickej 18S) rRNA z malé ribozómovej podjednotky, ktorá je univerzálnou súčasťou ribozómov a je u všetkých bunkových organizmov sekvenčne podobná. Čím sú si organizmy príbuznejšie, tým sú sekvenčne podobnejšie aj rRNA molekuly a molekuly ribozómových proteínov, preto sa tieto molekuly využívajú dodnes na fylogenetické analýzy vzdialenejších vzťahov medzi organizmami. **Fylogenetické analýzy 16S (18S) rRNA** (Woese a Fox 1977, Woese a kol. 1990) naznačili, že **organizmy je možné rozdeliť do troch odlišných evolučných línií, tzv. domén – baktérie (eubaktérie, *Bacteria*), archeóny (archaebaktérie, *Archaea*) a eukaryoty (Eukarya). *Bacteria* a *Archaea* majú prokaryotickú, pričom *Eukarya* majú eukaryotickú organizáciu bunky**. Woese a kol. (1990) sú tiež autormi myšlienky, že **prokaryotické *Archaea* a eukaryoty sú si navzájom viac príbuzné, ako sú obe tieto skupiny príbuzné baktériám**. U archeónov sa vyskytujú aj viaceré molekulárne charakteristiky typické pre eukaryoty, ktoré sa u baktérií nikdy nevyskytujú (napr. prítomnosť histónov alebo tzv. snoRNA). V súčasnosti už o evolučnej príbuznosti prokaryotických archeónov a eukaryotov nikto nepochybuje. Whittakerov taxón Monera (Whittaker, 1969) zahrňujúci všetky prokaryoty sa tak ukázal byť umelý.

20.1 Štruktúra buniek archeónov

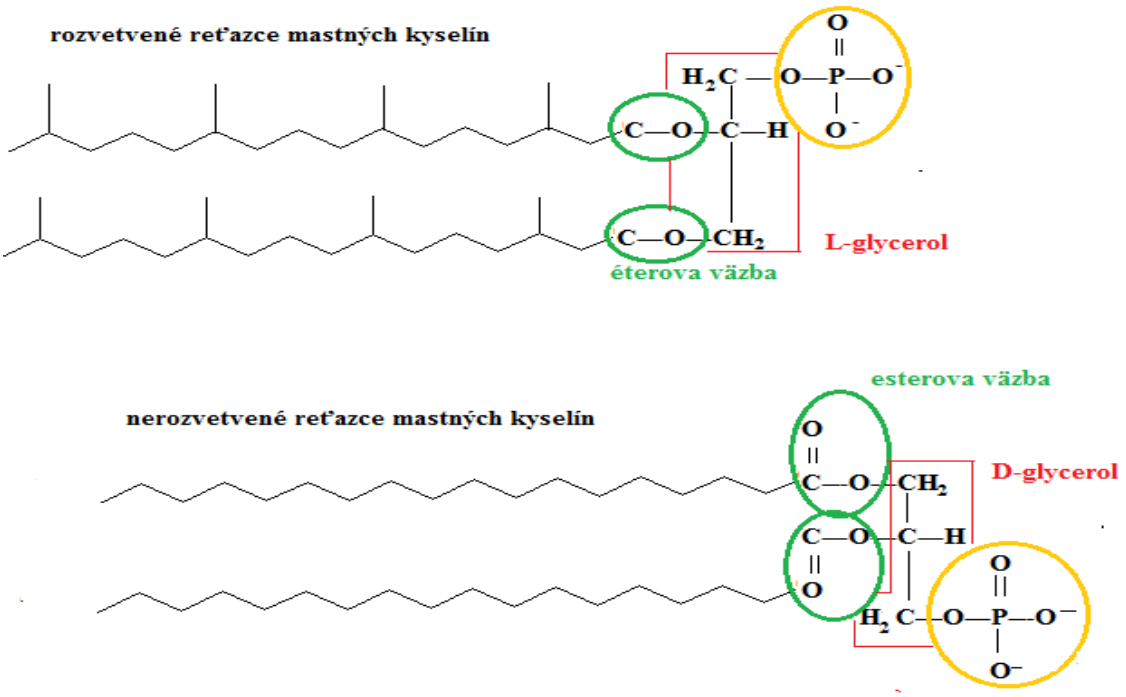
Archeóny sú prokaryoty. **Nemajú** organely typické pre eukaryoty ako **jadro, endoplazmatické retikulum, Golgiho aparát ani mitochondrie** a **nie sú schopné pohlavného rozmožovania**. **Zvyčajne** majú **len jeden cirkulárny chromozóm uložený v cytoplazme**. Ribozómy sú veľkosťou podobné baktériám (70S). Vzhľadom na tieto svoje typické prokaryotické znaky boli do roku 1977 radené medzi baktérie. Od roku 1977 do roku 1990 boli označované ako Archaebacteria (archaebaktérie) (Woese a Fox, 1977) a od roku 1990 sú označované ako **Archaea** (jedna z troch domén), aby boli jasne odlíšené od baktérií (domény Bacteria, do roku 1990 označovanej ako Eubacteria) (Woese a kol., 1990).

Tvarom a veľkosťou buniek sú archeóny vo všeobecnosti podobné baktériám. Priemerná veľkosť buniek sa pohybuje v rozmedzí 0.1-15 μm. Tvar buniek môže byť sférický, tyčinkovitý, špirálovitý, ploský, prípadne obdĺžnikovitý. Niektoré archeóny môžu vytvárať aj mnohobunkové agregáty alebo filamenty. Vo všeobecnosti je štruktúra buniek archeónov podobná Gram-pozitívnym baktériám. **Väčšina archeónov má len jednu membránu a nad ňou bunkovú stenu**. Výnimku predstavuje archeón rodu *Ignicoccus* s dvomi membránami a veľkým periplazmatickým priestorom medzi nimi (viď nižšie). Jedna z najväčších štruktúrnych odlišností archeónov od baktérií spočíva v chemickom zložení lipidov membrán.

20.1.1 Zloženie membrán archeónov

Stavba fosfolipidovej dvojvrstvy u skupiny Archaea je v porovnaní s baktériami, ale aj eukaryotmi výrazne odlišná. **Izoprenoidné** (rozvetvené hydrofóbne uhlíkové) **reťazce lipidov archeónov sú viazané prostredníctvom éterových väzieb na** sn-**glycerol 1-fosfát** (L-glycerol), pričom **u eukaryotov a baktérií sú postranné** (obyčajne nerozvetvené) **reťazce mastných kyselín viazané prostredníctvom esterových väzieb na** enatioméry sn-**glycerol 3-fosfátu** (D-glycerolu) (obr. 20.1) (Carbone a kol., 2015). Izoprenoidné reťazce a éterové väzby významne prispievajú k **zvýšenej stabilite membrán archeónov** oproti membránam baktérií a eukaryotov. **Mnohé archeóny** vďaka odlišnej chemickej štruktúre lipidov **dokážu žiť v extrémnych podmienkach** ako je vysoká teplota, či nízke pH.

Ďalšou odlišnosťou archeálnych membrán je, že **izoprenoidné reťazce** naviazané na druhom a treťom uhlíku glycerol 1-fosfátu **môžu byť v rámci lipidickej dvojvrstvy kovalentne spojené**, a tak môže **membrána archeónov alebo aspoň niektoré jej časti** vytvárať v podstate jednu **monovrstvu**. Membrána archeónov je teda zložená z tetraéterových lipidov (tvoriacich monovrsvu) alebo zo zmesi tetraéterových a diéterových lipidov (tvoriacich dvojvrstvu). Čím väčšia časť membrány archeónov je tvorená monovrstvou (tetraétermi), tým je membrána stabilnejšia. Medzi najbežnejšie lipidy archeónov patria diéter archaeol alebo teraéter kaldarchaeol (Jain a Cafoiro, 2014). Kaldarchaeol je hojne zastúpený práve u hypertermofilných archeónov.



Obr. 20.1. Lipidy archeónov (hore) a baktérií a eukaryotov (dole) *Rozvetvené izoprenoidné reťazce lipidov viazané prostredníctvom éterových väzieb na L-glycerol (glycerol 1-fosfát) sa vyskytujú u archeónov. Nerozvetvené reťazce mastných kyselín viazané prostredníctvom esterových väzieb na D-glycerol (glycerol 3-fosfát) sa vyskytujú u eukaryotov a baktérií.*

20.1.2 Bunková stena archeónov

Väčšina archeónov má bunkovú stenu. Výnimkami sú rody *Ferroplasma* a *Thermoplasma*, ktoré majú v dôsledku absencie bunkovej steny nepravidelný tvar a môžu pripomínať eukaryotické améby. Archeóny na rozdiel od baktérií **nikdy neobsahujú** vo svojich bunkových stenách **peptidoglykán mureín**. Namiesto toho majú **zvyčajne bunkovú stenu zloženú z proteínov alebo glykoproteínov** nazývanú **S-vrstva**. **U niektorých archeónov** (napr. skupina Methanobacteriales) je hlavnou zložkou bunkovej steny tzv. **pseudomureín** (pseudopeptidoglykán), ktorý je štruktúrne podobný mureínu, ale neobsahuje D-aminokyseliny a namiesto N-acetylmurámovej kyseliny obsahuje kyselinu N-acetyltalosaminurovú (Kandler a König, 1998).

20.1.3 Bičíky archeónov

Archeóny môžu mať jeden alebo viacero bičíkov slúžiacich na pohyb, prípadne aj pilusov. Bičík archeónov sú na prvý pohľad podobnejšie bičíkom baktérií ako eukaryotov. Podobne ako bičíky baktérií majú **schopnosť rotačného pohybu**. Na rozdiel od baktériových bičíkov, ktoré využívajú na pohyb energiu protónového gradientu (zriedkavejšie gradient Na^+), **bičíky archeónov využívajú energiu hydrolýzy ATP**. Bičíka archeónov sa **skladajú** z archeónových flagelínov – tzv. **archaelínov**. Z evolučného hľadiska sú archeónové bičíky **príbuznejšie** (a aj štruktúrne podobnejšie) **baktériovým pilusom sk. IV**, ktoré slúžia na trhaný pohyb po povrchoch, **ako baktériovým bičíkom** slúžiacim na plávanie vo vodnom prostredí. Vzhľadom na tieto odlišnosti od bičíkov baktérií bolo navrhnuté, aby sa **archeónový bičík** označoval ako **archaellum** (a nie flagellum) (Jarrell a Albers, 2012).

20.2 Organizácia genómov a génová expresia archeónov

Organizácia genómov a génová expresia archeónov je v zásade **podobná ako u baktérií.** Väčšina archeónov má **len jeden cirkulárny chromozóm (nukleoid)**, ktorý nie je ohraničený membránou. Veľkosť genómov archeónov sa pohybuje spravidla v rozmedzí 0.5 až 5.5 Mb. Okrem chromozómu môžu byť v cytoplazme podobne ako u baktérií prítomné aj **menšie molekuly DNA** nazývané **plazmidy**.

Takmer všetka DNA archeónov **je** podobne ako u baktérií **kódujúca** a **gény** s navzájom prepojenými funkciami (napr. gény kódujúce rôzne proteíny jednej metabolickej dráhy) sú **usporiadané za sebou do tzv. operónov** a sú **prepisované z jednej regulačnej oblasti** (promotora). **mRNA** je teda **polycistronická** (obsahuje informáciu pre syntézu viacerých proteínov). **Translácia prebieha už počas transkripcie v cytoplazme**.

Spliceozómové intróny (nekódujúce časti génov kódujúcich proteíny) ani **spliceozómy** (organely, ktoré ich vystrihujú) typické pre eukaryoty sa u archeónov nevyskytujú. **Iný typ intrónov** je však pomerne často prítomný **v génoch archeónov kódujúcich prekurzory rRNA a tRNA** (pre-rRNA a pre-tRNA), ktoré spravidla **vystrihujú** proteíny nazývané **endonukleázy**. Spravidla sa teda nejedná ani o tzv. samovystrihujúce intróny („self-splicing introns“) skupiny I a II, ktoré sa zriedkavo vyskytujú u baktérií a hojne v mitochondriových a plastidových genómoch (Tocchini-Valentini a kol., 2011).

Ribozómy archeónov sú síce **veľkostne podobné baktériovým** (70S), ale **ribozómové proteíny a rRNA sú sekvenčne podobnejšie** tým **eukaryotickým**. Na maturácii a **modifikáciách rRNA sa zúčastňujú snoRNA** („small nucleolar RNA“ = malé

jadierkové RNA) podobne **ako u eukaryotov** (hoci archeóny pochopiteľne jadierko nemajú) a nie proteíny ako u baktérií. **Translácia u archeónov začína metionínom ako u eukaryotov** a nie formylmetionínom ako u baktérií. **Niektoré**, ale nie všetky **archeóny môžu obsahovať** gény kódujúce **proteíny**, ktoré sú **typické najmä pre eukaryoty** (napr. históny, aktín alebo tubulín) (Guy a Ettema, 2011; Spang a kol., 2015).

20.3 Rozmnožovanie archeónov

Archeóny sa podobne ako baktérie **rozmnožujú len nepohlavne** – binárnym alebo viacnásobným delením, fragmentáciou alebo pučaním**. Mitóza a meióza sa u nich nevyskytujú**. V prípade skupiny **Euryarchaeota** je **delenie buniek veľmi podobné deleniu baktérií** a centrálnu úlohu pri rozdelení buniek po replikácii chromozómu hrá **FtsZ** proteín. V prípade skupín **Thaumarchaeota a Crenarchaeota** má hlavnú funkciu počas cytokinézy tzv. **Cdv** („cell division“) **systém**, pričom dva z troch proteínov tohto systému sú príbuzné proteínom eukaryotickému systému ESCRT („endosomal sorting complex required for transport“), ktorý sa účastní u eukaryotov rôznych procesov biogenézy (pučania) vezikúl endomembránového systému a podieľa sa aj na poslednej fáze cytokinézy u živočíchov (Caspi a Dekker, 2018).

Archeóny na rozdiel od baktérií **nevytvárajú spóry**. Podobne ako u baktérií však u nich môže dochádzať k tzv. parasexuálnym procesom ako sú konjugácia, transformácia a transdukcia (viď kapitola 13.2.3).

20.4 Ekológia a metabolizmus archeónov

Prvé objavené archeóny boli **extrémofily**. Mnohé archeóny sú **termofily** s optimom rastu nad 45 °C alebo **hypertermofily** s optimum rastu nad 80 °C. Archeón *Methanopyrus kandleri* kmeň 116 je schopný množiť sa aj pri teplote 122 °C, čo je zatiaľ rekord medzi všetkých živými organizmami (Takai a kol., 2007). Termofilné a hypertermofilné archeóny sa vyskytujú napr. v horúcich prameňoch, gejzíroch a jazerách v blízkosti sopiek a v oceánoch v blízkosti podmorských sopiek (tzv. „black smokers“). Ďalšími extrémofilnými archeónmi sú **halofily žijúce v prostredí z vysokými koncentráciami soli** (napr. jazera so salinitou nad 20%) ako napr. *Halobacterium* sp. Niektoré archeóny sú aj **alkalifily žijúce pri vysokom a acidofily pri nízkom pH**. Príkladom extrémneho acidofila je *Picrophilus torridus*, ktorý rastie pri pH 0 (Ciamarella a kol., 2005).

Mnohé archeóny však **nie sú extrémofilné a rastú pri bežných teplotách** (sú mezofilné) **a podmienkach** – v močiaroch, rašeliniskách, odpadových vodách a pôde. V oceánoch môžu archeóny predstavovať približne 20% celkovej mikrobiálnej diverzity (DeLong a Pace, 2001).

Metabolismus archeónov je veľmi rôznorodý. Archeóny sa **podieľajú na cykle uhlíka, dusíka aj síry v prírode**. **Chemolitotrofné archeóny získavajú energiu premenou anorganických látok** ako síra alebo dusík. Do tejto skupiny patria napr. nitrifikačné a metanogénne (produkujúce metán, viď nižšie) archeóny alebo archeóny oxidujúce metán. Na chod životných funkcií chemolitotrofných archeónov sú potrebné redoxnými reakciami – tok elektrónov od jednej anorganickej zlúčeniny (donor) k druhej (akceptor). Uvoľnená energia sa využije na syntézu ATP. **Žiadny archeón nie je schopný oxygénnej fotosyntézy** (fotosyntézy produkujúcej kyslík), ale napr. zástupcovia skupiny **Halobacteria sú schopné využiť svetelnú energiu** na tvorbu protónového gradientu na cytoplazmatickej membráne nutného na syntézu ATP pomocou svetlocitlivej pumpy

(baktériorodopsín). Niektoré archeóny využívajú ako zdroj uhlíka CO_2 – sú autotrofné, iné využívajú ako zdroj uhlíka organické zlúčeniny – sú heterotrofné (Valentine, 2007).

Metanogenéza je forma anaeróbnej respirácie (konečným akceptorom elektrónov nie je kyslík), s ktorou sa stretávame **len u** niektorých organizmov z **domény Archaea**, ale u žiadnych organizmov z domén Bacteria a Eukarya. Drvivá **väčšina metanogénnych archeónov je striktne anaeróbna** a **kyslík je pre ne toxický**. Konečným akceptorom elektrónov je **počas metanogenézy** uhlík (napr. CO_2 alebo kyselina octová, prípadne iné malé organické molekuly), pričom sa **vzniká metán**. **Najznámejšia sumárna metanogénna reakcia je:** $4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$. Týmto spôsobom produkujú metán tzv. hydrogenotrofné archeóny, ktoré k metanogenéze potrebujú molekuly vodíka ako donor elektrónov. Počas redukcie uhlíka na metán dochádza k tvorbe elektrochemického gradientu protónov na plazmatickej membráne, ktorý sa využije na syntézu ATP (Hudecová a Šimkovič, 2014).

Metanogénne archeóny pravdepodobne existovali ešte v čase, keď sa v zemskej atmosfére nevyskytoval kyslík alebo jeho hladina bola len minimálna. Predpokladá sa, že tieto mikroorganizmy ovplyvňovali v minulosti klímu na Zemi produkciou metánu (Ueno a kol., 2006). Vyskytujú sa prevažne v anaeróbnom prostredí (bez O_2) ako napr. dná morí a oceánov, jazier a močiarov. Príkladmi rodov metanogénnych archeónov sú *Methanothermobacter*, *Methanocaldococcus* (obr. 20.2), *Methanomicrobium* a *Methanosarcina* (Hudecová a Šimkovič, 2014).

Hoci **väčšina archeónov** je **voľne žijúcich**, **niektoré** metanogénne archeóny žijú ako mutualisti alebo komenzalisti **v bachore prežúvavcov alebo v črevách termitov**, kde im **pomáhajú tráviť celulózu**. Niektoré žijú aj ako **endosymbioti prvokov a morských hubiek** (Lange a kol., 2005). **Parazitizmus je u archeónov zriedkavý** a zmienky o patogenite archeónov v literatúre takmer absentujú. Mnohé archeóny zo skupiny DPANN však pravdepodobne čerpajú mnohé esenciálne látky z iných mikroorganizmov (sú ich symbiontami, resp. parazitmi) (viď kapitola 20.5.1.). Niektoré štúdie tiež naznačujú, že niektoré metanogény by mohli spôsobovať infekcie ústnej dutiny u ľudí (Vianna a kol., 2006).

20.5 Klasifikácia a systematika archeónov

Pre klasifikáciu a systematiku archeónov sa v súčasnosti využívajú podobné metódy ako pre klasifikáciu a systematiku baktérií (viď kapitola 15.4), ale aj jednobunkových eukaryotov. Ide najmä o PCR, sekvenovanie a konštrukciu fylogenetických stromov, prípadne porovnávacie analýzy celých genómov (fylogenomika), prípadne ich častí. **Väčšina archeónov** je **známa** len **z** tzv. **environmentálnych sekvencií** – doposiaľ **neboli kultivované** v laboratórnych podmienkach. Systematika archeónov sa neustále vyvíja najmä pod vplyvom neustálych nových objavov nových archeónov a/alebo celých ich línií prevažne na základe sekvenovania DNA izolovanej z environmentálnych vzoriek.

Podľa viacerých fylogenetických analýz je najbazálnejšou líniou archeónov pravdepodobne tzv. **DPANN** superskupina („superphylum“) združujúca viacero skupín, o ktorých sa nevie takmer nič (Rinke a kol., 2013; Castelle a Banfield, 2018). Ďalšou významnou líniou je pravdepodobne skupina **Euryarchaeota** zahrňujúca málo, ale aj relatívne dobre preštudované skupiny ako napr. halobaktérie a rôzne skupiny metanogénnych archeónov. Poslednou líniou archeónov sú tzv. **Proteoarchaeota** (Petitjean a kol., 2014; Koonin, 2015) **zahrňujúce** tzv. **TACK** superskupinu (taxóny *T*haumarchaeota, *A*igarchaeota, *C*renarchaeota, *K*orarchaeota, ale aj ďalšie taxóny) (Guy a Ettema, 2011) a tzv. **Asgard** superskupinu (napr. taxóny Lokiarchaeota, Thorarchaeota, Odinarchaeota a Heimdallarchaeota) (Spang a kol., 2015; Zaremba-Niedzwiedzka a kol., 2017).

20.5.1 DPANN

DPANN je taxón, ktorý prvýkrát navrhli na základe fylogenetických analýz Rinke a kol. (2013). Ide o skratku vytvorenú zo začiatočných písmen nasledovných skupín archeónov – ***D*iapherotrites, *P*arvarcheota, *A*enigmarchaeota, *N*anoarchaeota a *N*anohaloarcheota**. Do tohto taxónu sa však súčasnosti zaraďujú aj ďalšie skupiny ako **Micrarchaeota** (Baker a kol., 2006)**, Pacearchaeota, Woesearchaeota** (Castelle a kol., 2015; Ortiz-Alvarez a Casamayor, 2016) a **Altiarchaeota** (Spang a kol., 2017). **Väčšina zástupcov** z týchto skupín je **známa len z environmentálnych sekvencií** a **doposiaľ sa ich nepodarilo kultivovať**. Doposiaľ popísaní zástupcovia sú **malých rozmerov** a majú **malé genómy** (cca 0.5-1.5 Mb) (Castelle a kol., 2015). **Väčšina zástupcov** pravdepodobne **žije v symbióze s inými mikroorganizmy, prípadne sú ich parazitmi**. Hoci viaceré fylogenetické analýzy naznačujú, že DPANN sú najbazálnejšou monofyletickou líniou archeónov, vzhľadom na symbiotický, resp. parazitický štýl života a značne zredukované genómy je možné, že tieto línie sa vyvíjajú na molekulovej úrovni rýchlo a ich zoskupenie na báze domény Archaea je artefaktom fylogenickej analýzy (tzv. „long branch attraction“). Taxón DPANN by tak mohol byť aj polyfyletický a jednotlivé línie DPANN by mohli patriť aj do rôznych taxónov v rámci domény Archaea (Dombrowski a kol., 2019).

20.5.1.1 Diapherotrites

Skupina **Diapherotrites** bola objavená na základe analýz nekompletných sekvencií genómov mikroorganizmov **z podzemnej vody z bane na zlato** (Homestake Mine) v meste Lead v Južnej Dakote v USA (Rinke a kol., 2013). **Nejde o extrémofilné mikroorganizmy**. Kompletná sekvencia genómu s celkovou veľkosťou 1.24 Mb je k dispozícii z kandidátneho zástupcu Candidatus (Ca.) „*Iainarchaeum andersonii*” (Castelle a kol., 2015; Youseff a kol., 2015).

20.5.1.2 ARMAN – Parvarchaeota a Micrarchaeota

Parvarchaeota a Micrarchaeota boli objavené **v extrémne kyslých odpadoch z bane** v Kalifornii a provizórne označované ako **ARMAN** (*A*rchaeal *R*ichmond *M*ine acidophilic nanoorganisms). Tieto **kokovité** mikroorganizmy majú **malé rozmery** (menšie ako 0.45 µm) a žijú pri pH 0.5-1.5 – sú **acidofilné** (Baker a kol., 2006). Kuriozitou je, že minimálne niektorí zástupcovia **ARMAN** archeónov **majú dve membrány**, čo je pre archeóny netypické. Počet ribozómov je mimoriadny malý (v priemere 92, pričom modelová baktéria *Escherichia coli* má okolo 10 000) (Commolli a kol., 2009). Vzhľadom na malé rozmery a genómy (cca 1 Mb) **žijú pravdepodobne v symbiotických asociáciách s inými archeónmi** (napr. zo skupiny Thermoplasmatales), z ktorých pravdepodobne získavajú živiny (mohlo by ísť o parazity iných mikróbov) (Baker, 2010). Na druhej strane sú samé často napádané vírusmi (Commolli a kol., 2009). Novšie analýzy naznačujú, že skupinu ARMAN možno rozdeliť na dve samostatné línie v rámci taxónu DPANN – Parvarchaeota a Micrarchaeota. Príkladmi kandidátnych zástupcov sú Ca. „*Parvarchaeum acidiphilum*“ (Parvarchaeota) a Ca. „*Micrarchaeum acidiphilum*“ (Micrarachaeota) (Castelle a kol., 2015).

20.5.1.3 Aenigmarchaeota

Aenigmarchaeota sú doposiaľ nekultivované archeóny známe výhradne z environmentálnych sekvencií. Pôvodne boli radené medzi Euryarchaeota. Taxón Aenigmaarchaeota ako súčasť skupiny DPANN prvýkrát navrhli Rinke a kol. (2013).

20.5.1.4 Nanoarchaeota

Nanoarchaeota (nanoarcheóny) sú termofilné, resp. **hypertermofilné archeóny malých rozmerov**, ktoré **pre svoj rast potrebujú iné archeóny**, z ktorých čerpajú živiny. Prvým popísaným a archeónom z tejto skupiny bol **morský** druh ***Nanoarchaeum equitans*** objavený v podmorských termálnych ekosystémoch v blízkosti pobrežia Islandu. Tento archeón **kokovitého tvaru** s typiskou S-vrstvou na povrchu buniek a veľkosťou buniek približne **400 nm** rastie **pri teplote okolo 80 °C.** Pre svoj rast a množenie potrebuje **svojho symbionta**, ktorým je **termofilný archeón *Ignicoccus hospitalis*** (Huber a kol., 2002) zo skupiny Crenarchaeota (viď kapitola 20.5.3.1.3., obr. 20.3). Tieto dva mikroorganizmy je **spolu možné kultivovať** aj laboratóriu. ***N. equitans* má malý genóm** (490 Mb), chýbajú mu mnohé metabolické dráhy (Waters a kol, 2003), a preto **musí čerpať živiny zo svojho symbionta**, na ktorého bunky vie prisadnúť (je ektosymbiont, resp. ektoparazit). *I. hospitalis* však k rastu *N. equitans* nepotrebuje, no nezdá sa ani, žeby mal malý počet buniek *N. equitans* výrazný vplyv na rast *I. hospitalis* (Huber a kol., 2002).

V súčasnosti už bolo popísaných viacero podobných symbiotických asociácií zástupcov Nanoarchaeota s inými archeónmi. Niektoré Nanoarchaeota sa vyskytujú aj v sladkovodných horúcich prameňoch (napr. na Novom Zélande alebo v Yellowstone), môžu byť aj acidofilné a môžu mať aj bičíky (St John a kol., 2019).

20.5.1.5 Nanohaloarchaeota

Nanohaloarchaeota (nanohaloarcheóny) sú **koky malých rozmerov** (100-800 nm) **obývajúce jazerá s vysokou koncentráciou solí** (hypersalínne prostredia) po celom svete. Ešte donedávna sa myslelo, že ide pravdepodobne o voľne žijúce mikroorganizmy. Pomerne nedávno bol však v jednom **zo slaných jazier Antarktídy objavený** kandidátny taxón Ca. **„*Nanohaloarchaeum antarcticus*“** a ukázalo sa, že **je možné ho kultivovať iba v prítomnosti haloarcheóna** (zo skupiny Halobacteria, synonymum Haloarchaea – viď kapitola 20.5.2.4) *Halorubrum lacusprofundi*. Na základe absencie génov kódujúcich enzýmy kľúčových metabolických dráh, ako aj prítomnosti génov kódujúcich proteíny zodpovedné za prichytenie k hostiteľskej bunke v genómoch nanohaloarcheónov možno predpokladať, že spoločný predchodca nanohaloarcheónov bol **ektosymbiont**, resp. **ektoparazit haloarcheónov** (resp. Halobacteria) (Hamm a kol., 2019).

20.5.1.6 Woesearchaeota a Pacearchaeota

Woesearchaeota a Pacearchaeota sú len nedávno navrhnuté taxonomické skupiny archeónov, ktoré sú si **príbuzné** (Castelle a kol., 2015). Zatiaľ neboli kultivované a boli

identifikované na základe environmentálnych sekvencií. Vyskytujú sa **v moriach a** vnútrozemských slaných **jazerách**, ale sú aj dominantnou zložkou mikrobioty vysokohorských oligotrofných (na živiny chudobných) jazier Pyrenejí (Ortiz-Alvarez a Casamayor, 2016). Pre niektoré pochádzajúce z planktónu a sedimentov povodia rieky Colorado sú známe kompletné alebo takmer kompletné **genómy** s veľkosťou približne v rozmedzí **0.5-1.5 Mb,** ktoré boli získané sekvenovaním genómov jedinej bunky bez potreby kultivácie. V osekvenovaných genómoch **absentujú mnohé základné metabolické dráhy**, čo naznačuje, že **žijú v symbióze s inými mikroorganizmami** (resp. sú ich parazitmi) (Castelle a kol., 2015) podobne ako ARMAN archeóny, nanoarcheóny a nanohaloarcheóny (viď kapitoly 25.5.1.2, 25.5.1.4 a 25.5.1.5).

20.5.2 Euryarchaeota

Taxón Euryarchaeota, ktorý navrhli už Woese a kol. (1990), zahrňuje archeóny rôznych tvarov (napr. paličky a koky) s rôznymi formami metabolizmu. **Optimum rastových teplôt pre rôznych zástupcov** tohto taxónu sa pohybuje približne v intervale **37-122 °C**. Patria sem napr. taxóny zahrňujúce **metanogénne archeóny** – **Methanobacteria, Methanococci, Methanopyri a Methanomicrobia**, **extrémne halofily** – **Halobacteria** (synonymum Haloarchaea), **acidofily – Thermoplasmata**, taxóny zahrňujúce **termofily a hypertermofily** – **Termococci, Archaeoglobi a Hadesarchaea**, ale aj ďalšie taxóny.

20.5.2.1 Methanobacteria

Hoci sa tento taxónu z historických dôvodov nazýva **Methanobacteria** (resp. Methanobacteriales), patria sem niektoré, ale zďaleka nie všetky **metanogénne archeóny.** Rozkladajú zložitejšie organické látky na jednoduchšie, ktoré následne rozkladajú až na vodík, oxid uhličitý a kyselinu octovú. Oxid uhličitý, prípadne jednoduché organické látky následne premieňajú na metán. Na rozdiel od ostatných metanogénov však vedia rozkladať menej substrátov. Ich **bunková stena** obsahuje **pseudomureín**, v dôsledku čoho sa farbia Gram-pozitívne. Patria sem napr. rody *Methanobrevibacter*, *Methanothermobacter*, *Methanothermus*, *Methanospaera* a *Methylospaera*.

Zástupcovia rodu ***Methanothermobacter*** (napr. *M. thermoautotrophicus*) sú **nemotilné termofilné anaeróbne archeóny**. Vyskytujú sa v prostrediach bez prístupu kyslíka s teplotou 55-65 °C (Wasserfallen a kol., 2000).

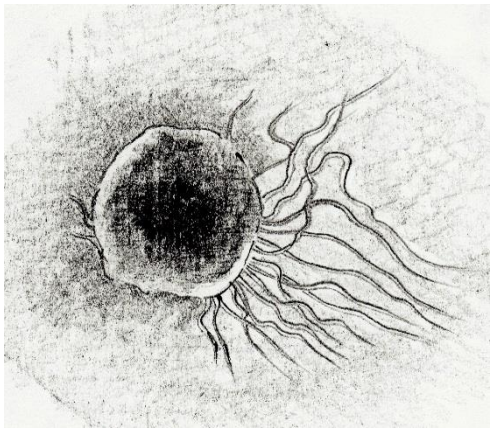
Zástupcovia **metanogénneho anaeróbneho** rodu ***Methanobrevibacter*** sú kokobacily vyskytujúce sa **v črevách živočíchov**, napr. termitov. *M. smithii* je najčastejšie sa vyskytujúci archeón v hrubom čreve človeka (pri 37 °C). Dokončuje premenu produktov fermentácie baktérií (Buck a Hansen, 2007).

Zástupcovia rodu ***Methanothermus*** sú **striktne anaeróbne metanogénne hypertermofily** vyskytujúce sa pri teplotách do 97 °C.

20.5.2.2 Methanococci

Methanococci sú skupinou **metanogénnych mezofilných, termofilných a hypertermofilných archeónov.** Príkladom mezofilného rodu je ***Methanococcus***. Príkladom termofila resp. hypertermofila je ***Methanocaldocoocus jannaschii*** (obr. 20.2) schopný rásť v rozmedzí teplôt 48-94 °C s optimom rastu pri 85 °C. Pôvodne bol radený do

rodu *Methanococcus*, z ktorého bol vyradený práve pre schopnosť rásť pri vysokých teplotách. *M. jannaschii* bol vôbec **prvý archeón, ktorého genóm bol osekvenovaný**. Jeho chromozóm má 1.66 Mb, ale má aj dva extrachromozómové elementy (plazmidy) s veľkosťou 58.4 a 16.6 kb (Bult a kol., 1996). Tento mikroorganizmus **kokovitého tvaru** s veľkosťou približne 1 μm má **dva zväzky bičíkov na jednom póle bunky** (obr. 20.2). **Na povrchu bunky** má **S-vrstvu** typickú pre archeóny (nemá pseudomureín, je Gram-negatívny).



Obr. 20.2. **Methanocaldococcus jannaschii**

20.5.2.3 Methanopyri

Jediným dobre preštudovaným zástupcom tejto skupiny je **anaeróbny, chemolitoautotrofný metanogén *Methanopyrus kandleri*.** Má **tvar paličky** a **hrubá bunková stena** je tvorená **pseudomureínom**, preto sa farbí Gram-pozitívne. Optimum rastu má pri 98 °C, no dokáže sa množiť až pri 110 °C, čo je najviac spomedzi všetkých metanogénov. Okrem toho, že je extrémnym **hypertermofilom**, je aj **halofilom** (Shima a kol., 2004)

20.5.2.4 Halobacteria

Tento taxón sa z historických dôvodov označuje ako **Halobacteria**, ale zahrňuje **archeóny**, a preto sa často zvykne označovať aj ako **Haloarchaea** (haloarcheóny), aby boli odlíšené od halofilných baktérií. Haloarchaea sú **extrémne halofily**, schopné žiť podobne ako halofilné baktérie alebo Nanohaloarchaeota (viď kapitola 20.5.1.5.) **pri nasýtených alebo takmer nasýtených koncentráciách soli**. Zvyčajne vyžadujú pre svoj rast koncentráciu NaCl väčšiu ako 2M. Môžu rásť v aeróbnych aj anaeróbnych podmienkach.

Haloarcheóny sú **schopné jednoduchej formy anoxygénnej fotosyntézy**, pri ktorej nevzniká kyslík. Táto forma fotosyntézy je **nepríbuzná ostatným formám**, pri ktorých dochádza k transportu elektrónov. **Haloarcheóny nie sú** ani **schopné fixácie CO_2**. Vo svojej cytoplazmatickej membráne majú **svetlocitlivé iónové pumpy** – **bakteriorodopsín** a **halorodopsín**. Oba pigmenty sú podobné retinálnym rodopsínom stavovcov. **Bakteriorodopsín** má **purpurové sfarbenie** a v prípade masového výskytu haloarcheónov má preto **voda červenkasté sfarbenie**. Tento pigment môže využiť svetelnú energiu na **pumpovanie protónov vodíka** na vonkajšiu stranu cytoplazmatickej membrány, von z bunky. Takto vytvorený **protónový gradient** sa využíva **na syntézu ATP**. **Halorodopsín**

zase využíva svetelnú energiu **na pumpovanie chloridových aniónov** do vnútra bunky (Bryant a Frigaard, 2006).

Príkladmi rodov haloarcheónov sú *Halobacterium*, *Halococcus*, *Halorubrum* a *Haloferax*.

20.5.2.5 Thermoplasmata

Do skupiny Thermoplasmata (resp. Thermoplasmatales) patria **extrémne acidofily** vyžadujúce pre svoj rast **pH nižšie ako 2** a pH nad 4 zvyčajne neprežívajú. *Picrophilus torridus* dokonca rastie pri pH 0 (Ciamarella a kol., 2005). **Väčšina zástupcov ako napr. rody *Thermoplasma* a *Ferroplasma* nemá bunkovú stenu**, preto **môžu mať nepravidelný tvar a pripomínať améby.** Výnimkou je práve spomínaný rod *Picrophilus*, ktorý má S-vrstvu. **Väčšina zástupcov** Thermoplasmata je **termofilných** (s optimom rastu okolo 60 °C), no napr. *Ferroplasma acidiphilum* optimálne rastie pri 35-36 °C. *F. acidiphilum* je aeróbny, acidofilný chemolitotrof oxidujúci železnaté katióny (najmä FeS_2), pričom využíva kyslík ako terminálny akceptor elektrónov. Vedľajším produktom takéhoto metabolizmu je kyselina sírová (Ferrer a kol., 2007).

20.5.2.6 Archaeoglobi

Archaeoglobi sú skupinou **anaeróbnych hypertermofilných archeónov** s S-vrstvou na povrchu bunky a **s rozmanitým metabolizmom** v závislosti od druhu. Zástupcovia rodu ***Archaeoglogus*** sú zvyčajne nepravidelného kokoidného alebo diskovitého tvaru s bičíkmi na jednom póle. **Redukujú sírany** (sulfáty, prípadne tiosulfáty) **na sulfidy** (napr. FeS_2) a sú schopní rásť heterotrofne (ako zdroj uhlíka organické využívajú látky) alebo chemolitoautotrofne s využitím vodíka a oxidu uhličitého ako zdroja uhlíka. Zástupcovia rodu ***Geoglobus*** s jedným bičíkom **redukujú železité katióny** a sú schopní taktiež rásť auto- aj heterotrofne. Zástupca *Ferroglobus placidus* využíva železnaté katióny, vodík a sulfidy ako donory a dusičňany ako terminálne akceptory elektrónov (Birkeland a kol., 2017).

20.5.2.7 Thermococci

Do skupiny **Thermococci** patria **termofilné až hypertermofilné anaeróbne archeóny kokovitého tvaru**. Obývajú podmorské horúce biotopy alebo sladkovodné horúce pramene. Najznámejšími rodmi sú ***Thermococcus* a *Pyrococcus***, ktorých zástupcovia sú **chemoorganotrofní** s veľkosťou buniek 0.6-2 μm. Väčšina druhov rastie pri teplotách 70-100 °C. Zástupca *Pyrococcus furiosus* s optimom rastu 100 °C má viacero bičíkov na jednom póle bunky, pomocou ktorých môže dochádzať aj ku kontaktom buniek (Näther a kol., 2006). Podobné umiestnenie bičíkov nájdeme aj u niektorých zástupcov rodu *Thermococcus*, niektorí sú však nemotilní. Pfu-polymeráza z *P. furiosus* sa využíva v PCR podobne ako Taq-polymeráza z termofilnej baktérie *Thermus aquaticus* (viď kapitola 15.4.2.3).

20.5.2.8 Hadesarchaea

Hadesarchaea (z gr. Hades = Boh podsvetia) boli prvýkrát objavené na základe environmentálnych sekvencií z bane na zlato v Juhoafrickej republike. V súčasnosti sa

ukazuje, že sú **kozmolitné**, vyskytujú sa vo väčších hĺbkach v mori, ale aj v terestrických ekosystémoch a horúcich sladkovodných prameňoch (napr. v Yellowstone). Niektorí zástupcovia sú alkalifilní (žijú pri pH viac ako 7), ale ich životný štýl je pravdepodobne veľmi rôznorodý. Zrejme ide o výhradne **termofilné a anaeróbne** mikroorganizmy. Ich **najbližší príbuzní sú Thermococci**. V súčasnosti sú z environmentálnych sekvencií známe nekompletné genómy niektorých zástupcov, ktorých veľkosť sa odhaduje približne na 1.5 Mb. Zástupcovia sú **schopní oxidovať CO** (a produkovať CO_2) a oxidovať H_2 (prípadne produkovať H_2). Tento proces je pravdepodobne spriahnutý s redukciou dusitanov na amoniak. Metabolizmus rôznych zástupcov však môže byť rôznorodý (Baker a kol., 2016).

20.5.3 Proteoarchaeota

Taxón **Proteoarchaeota** bol prvýkrát použitý ako synonymum taxónu **TACK** (taxóny *T*haumarchaeota, *A*igarchaeota, *C*renarchaeota, *K*orarchaeota, ale v súčasnosti aj ďalšie taxóny) (Guy a Ettema, 2011; Petitjean a kol., 2014), neskôr ako zoskupenie TACK a Lokiarchaeota (Koonin, 2015) a v súčasnosti združuje skupiny TACK a **Asgard** (taxóny Lokiarchaeota, Thorarchaeota, Odinarchaeota, Heimdallarchaeota a Helarchaeota) (Spang a kol., 2015, 2017, 2019; Zaremba-Niedzwiedzka a kol., 2017; Seitz a kol., 2019). Takmer každá skupina z taxónu Proteoarchaeota bola v čase svojho objavenia považovaná svojimi objaviteľmi za predchodcu eukaryotov (resp. hostiteľa pre α-proteobaktériového predka mitochondrií) (viď kapitola 21). V súčasnosti sú mnohými autormi najčastejšie považované za najbližších príbuzných eukaryotov archeóny zo skupiny Asgaard, konkrétne zo skupiny Heimdallarchaeota (Spang a kol., 2015, 2017, 2019; Zaremba-Niedzwiedzka a kol., 2017; Seitz a kol., 2019).

20.5.3.1 TACK

TACK je taxón, ktorý v čase svojho navrhnutia združoval iba štyri taxóny ***T*haumarchaeota, *A*igarchaeota, *C*renarchaeota a *K*orarchaeota** (Guy a Ettema, 2011), ale dnes do tohto taxónu patria aj ďalšie skupiny archeónov ako **Bathyarchaeota, Geoarchaeota a Verstraetearchaeota** (Spang a kol., 2019). Autori, ktorí tento taxón navrhli, v čase navrhnutia tohto taxónu predpokladali, že ide o skupinu najbližšie príbuznú eukaryotom. Túto hypotézu podporoval aj fakt, že archeóny zo skupiny TACK obsahujú viac tzv. „eukaryotických“ proteínov (o ktorých sa kedysi myslelo, že sú prítomné len u eukaryotov) ako Euryarchaeota (Guy a Ettema, 2011). Neskôr však boli objavené rôzne skupiny Asgard Archaea a ukázalo sa, že majú týchto tzv. eukaroytických proteínov (resp. génov, ktoré ich kódujú) ešte viac (viď kapitola 20.5.3.2).

20.5.3.1.1 Thaumarchaeota

Taxón Thaumarchaeota zahrňuje **mezofilné archeóny**, no evolučne najstaršie línie sú **termofilné** (Brochier-Armanet a kol., 2012). Žijú prevažne **v moriach a oceánoch** ako **súčasť planktónu** (napr. *Nitrosopumilus maritimus*), ale aj terestricky. Zástupca *Cenarchaeum symbiosum* je symbiontom morských hubiek (Preston a kol., 1996). Väčšina z doposiaľ popísaných zástupcov je **chemolithoautotrofných** a má **schopnosť nitrifikácie – aeróbnej oxidácie amoniaku**, čo je u archeónov zriedkavé (Brochier-Armanet a kol., 2012). Vzhľadom na to, že väčšina je autotrofná, **zdrojom uhlíka je zvyčajne CO_2**, resp. HCO_3^-.

Thaumarchaeota sú v moriach a oceánoch (najmä v polárnych oblastiach) pravdepodobne zdrojom vitamínu B_{12} pre mnohé auxotrofné riasy, ktoré ho potrebujú, no nevedia ho syntetizovať (Doxey a kol., 2015). Niektoré archeóny z tejto skupiny (napr. rod *Nitrososarchaeum*) **obsahujú gén kódujúci tubulín** (resp. artubulín = archeónový tubulín), ktorý sa bežne u prokaryotov nevyskytuje (Yutin a Koonin, 2012).

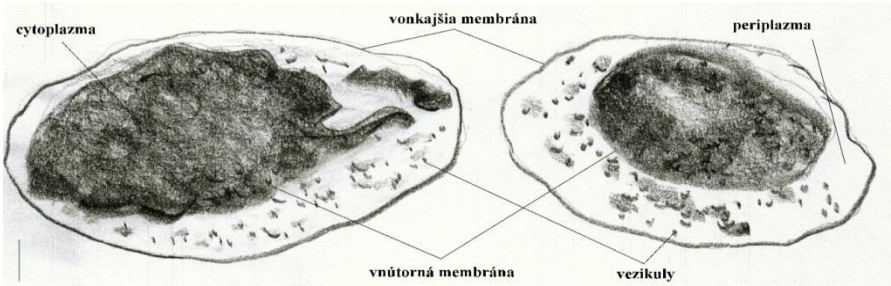
20.5.3.1.2 Aigarchaeota

Najznámejším zástupcom z tejto skupiny je Ca. „***Caldiarchaeum subterraneum***“, ktorého 1.68 Mb veľký genóm bol osekvenovaný z environmentálnej vzorky **z geotermálnej vody** z podpovrchovej bane v Japonsku (Nunoura a kol., 2011). Aigarchaeota obsahujú **viacero typických „eukaryotických“ proteínov** ako napr. aktín (Eme a Doolittle, 2015).

20.5.3.1.3 Crenarchaeota

Do skupiny **Crenarchaeota** patria **termofilné a hypertermofilné archeóny**. Bunky môžu mať tyčinkovitý, kokovitý, vláknitý alebo nepravidelný tvar.

Jedným z najznámejších zástupcov je ***Sulfolobus solfataricus***, ktorý bol ale nedávno reklasifikovaný do rodu ***Saccharolobus*** (Sakai a Kurosawa, 2018). Tento **nemotilný, termoacidofilný** archeón nepravidelného kokovitého tvaru (s veľkosťou 0.8-2 μm) s optimom rastu pri 80 °C a pH 2-4 bol objavený v oblasti sopky Solfatara v Taliansku (Zillig a kol., 1980). Jeho genóm má približne 3 Mb a bol kompletne osekvenovaný (She a kol., 2001). Na rozdiel od väčšiny termofilných archeónov je *S. solfataricus* **striktne aeróbny** mikroorganizmus využívajúci **kyslík ako konečný akceptor elektrónov**. Je schopný vyživovať sa **chemolitoautotrofne**, kedy ako **donor elektrónov** slúži **elementárna síra alebo sírovodík** (pričom je síra oxidovaná na sírany) a **ako zdroj uhlíka slúži CO_2**, ale aj **heterotrofne**, kedy ako zdroj uhlíka slúžia organické látky (napr. cukry glycerol alebo aminokyseliny). Vzhľadom na schopnosť rásť na fenole ide aj o biotechnologicky zaujímavý organizmus (Ulas a kol., 2012).



***Obr. 20.3. Rod* Ignicoccus**

Ďalším zaujímavým zástupcom zo skupiny Crenarchaeota je rod ***Ignicoccus*** (obr. 20.3). Tento rod **kokovitého tvaru** s veľkosťou približne 2 μm **s viacerými bičíkmi** sa líši od ostatných zástupcov skupiny Crenarchaeota, ale aj od drvivej väčšiny archeónov tým, že **má dve membrány**, medzi ktorými sa nachádza pomerne veľký **medzimembránový priestor (periplazma)** s variabilnými rozmermi 20-400 nm, v ktorom sú pozorovateľné membránou obalené **vezikuly** (obr. 20.3). Na povrchu bunky nemá S-vrstvu. Ide o hypertermofilné archeóny **rastúce pri teplotách 70-98 °C**. Zástupcovia tohto rodu sú

anaeóbni a chemolitoautotrofní. Rastú v prítomnosti **H_2 a CO_2** (zdroj uhlíka), pričom ako **akceptor elektrónov** využívajú elementárnu **síru** a produkujú H_2S (Huber a kol., 2000). Zaujímavosťou je, že zástupca ***Ignicoccus hospitalis*** môže mať na povrchu bunky prítomné **ektosymbiontické** (resp. parazitické) **nanoarcheóny** *N. equitans* (Huber a kol., 2002; viď kapitola 20.5.1.4).

20.5.3.1.4 Korarchaeota

Korarchaeota boli zatiaľ pozorované len v hydrotermálnom prostredí. Korarchaeota **obsahujú** (podobne ako Aigarchaeota, Lokiarchaeota a niektoré Crenarchaeota) **aktín**, ale aj **viaceré** iné **typické „eukaryotické" proteíny** (Eme a Doolittle, 2015). Najznámejším zástupcom je Ca. „***Korarchaeum cryptofilum***", ktorého obohatená kultúra bola získané **z horúceho prameňa** v Yellowstoneskom národnom parku (USA). Tento archeón s S-vrstvou na povrchu bunky má **tvar dlhého tenkého filamentu** (približne 0.2 µm široký a 10-100 µm dlhý). Genóm s veľkosťou 1.59 Mb bol osekvenovaný (Elkins a kol., 2008).

20.5.3.2 Asgard

Do skupiny Asgard (synonymum Asgardarchaeota) patria len relatívne **nedávno objavené** skupiny archeónov ako **Lokiarchaeota, Thorarchaeota, Odinarchaeota, Heimdallarchaeota a Helarchaeota** (Spang a kol., 2015, 2017, 2019; Zaremba-Niedzwiedzka a kol., 2017; Seitz a kol., 2019). Napriek tomu, že sa zatiaľ podarilo kultivovať len jediného zástupcu, z viacerých zástupcov sú známe čiastočné alebo (takmer) úplné genómové sekvencie získané z environmentálnych vzoriek.

Jediným z doposiaľ **kultivovaným** Asgard archeónom je Ca. „***Prometheoarchaeum syntrophicum***" zo skupiny **Lokiarchaeota**. Ide o **strikne anaeróbneho, mezofilného** (kultivovaného pri 20 °C) **archeóna kokovitého tvaru** s veľkosťou približne 550 nm, izolovaného **z hlbín mora** v blízkosti Japonska**.** V kultúrach rastie veľmi pomaly. Bunky môžu mať rozvetvenými alebo nerozvetvenými výbežky a môžu produkovať membránové vezikuly alebo retiazky vezikúl. V prírode **žije v syntrofii s inými mikroorganizmami využívajúcimi vodík** ako baktéria *Halodesulfovibrio* redukujúca sírany a metanogén *Methanogenium* (Euryarchaeota, Methanomicrobia). Z týchto mikroorganizmov **čerpá aminokyseliny**, ktoré degraduje. Veľkosť genómu *P. syntrophicum* je 4,46 Mb (Imachi a kol., 2020).

O ostaných zástupcoch sa informácie dajú vydedukovať len z parciálnych, prípadne (takmer) úplných genómov získaných sekvenovaním DNA z environmentálnych vzoriek. Ekologické nároky týchto organizmov sa zase dajú odhadnúť podľa lokalít, z ktorých boli sekvencie získané. **Zástupcovia Asgard archeónov** sú **kozmopolitní**, pravdepodobne **poväčšine anaeróbni** a obývajú **najmä morské sedimenty**. Väčšina je pravdepodobne mezofilná, ale niektoré sekvencie boli získané aj z hydrotermálnych ekosystémov. Metabolizmus v rámci tejto skupiny je pomerne variabilný. Primárne ide pravdepodobne prevažne o organoheterotrofné mikroorganizmy (Spang a kol., 2015, 2017, 2019; Zaremba-Niedzwiedzka a kol., 2017; Seitz a kol., 2019).

Genómy **Asgard** archeónov obsahujú **najviac** génov kódujúcich **tzv. „eukaryotické" proteíny spomedzi všetkých archeónov**. Viaceré nedávne fylogenetické analýzy naznačujú, že Asgard a konkrétne skupina **Heimdallarchaeota** sú **najbližšími príbuznými eukaryotov** (Spang a kol., 2015, 2017, 2019; Zaremba-Niedzwiedzka a kol., 2017; Seitz a kol., 2019). Hoci táto predstava založená najmä na fylogenetických a fylogenomických analýzach

momentálne naberá na popularite, ešte stále je potrebné ju brať s rezervou a uvažovať aj nad inými alternatívami (viď kapitola 21).

Literatúra

BAKER, B. J. a kol. 2006. Lineages of acidophilic archaea revealed by community genomic analysis. Science 314, 1933-1935.

BAKER, B. J. a kol. 2010. Enigmatic, ultrasmall, uncultivated Archaea. Proc Natl Acad Sci 107, 8806-8811.

BAKER, B. J. a kol., 2016. Genomic inference of the metabolism of cosmopolitan subsurface Archaea, Hadesarchaea. Nat Microbiol 1, 16002.

BIRKELAND, N. K. a kol., 2017. Complete genome sequence analysis of *Archaeoglobus fulgidus* strain 7324 (DSM 8774), a hyperthermophilic archaeal sulfate reducer from a North Sea oil field. Stand Genomic Sci 12, 79.

BROCHIER-ARMANET, C. – GRIBALDO, S. – FORTERRE, P. 2012. Spotlight on the Thaumarchaeota. ISME J 6, 227-230.

BRYANT, D. A. – FRIGAARD, N. U. 2006. Prokaryotic photosynthesis and phototrophy illuminated. Trends Microbiol 14, 488-496.

BUCK, S. – HANSEN, E. 2007. Genomic and metabolic adaptations of *Methanobrevibacter smithii* to the human gut. Proc Natl Acad Sci USA 104, 10643-10648.

BULT, C. J. a kol. 1996. Complete genome sequence of the methanogenic archaeon, *Methanococcus jannaschii.* Science 273, 1058-1073.

CARBONE, V. a kol. 2015. Structure and evolution of the archaeal lipid synthesis enzyme *sn*-Glycerol-1-phosphate. Biol Chem 290, 21690–21704.

CASPI, Y – DEKKER, C. 2018. Dividing the archaeal way: The ancient Cdv cell-division machinery. Front Microbiol 9, 174.

CASTELLE, C. J. a kol. 2015. Genomic expansion of domain archaea highlights roles for organisms from new phyla in anaerobic carbon cycling. Curr Biol 25, 690-701.

CIAMARELLA, M. – NAPOLI, A. – ROSSI, M. 2005. Another extreme genome: how to live at pH 0. Trends Microbiol 13, 49-51.

COMMOLLI, L. R. a kol. 2009. Three-dimensional analysis of the structure and ecology of a novel, ultra-small archaeon. ISME J 3, 159-167.

DeLONG, E. F. – PACE, N. R. 2001. Environmental diversity of bacteria and archaea. Syst Biol 50, 470-478.

DOMBROWSKI, N. a kol. 2019. Genomic diversity, lifestyles and evolutionary origins of DPANN archaea. FEMS Microbiol Lett 1, 366, fnz008.

DOXEY, A. C. a kol. 2015. Aquatic metagenomes implicate *Thaumarchaeota* in global cobalamin production. ISME J 9, 461-471.

ELKINS, J. G. a kol. 2008. A korarchaeal genome reveals insights into the evolution of the Archaea. Proc Natl Acad Sci USA 105, 8102-8107.

EME, L. – DOOLITTLE, W. F. 2015. Archaea. Curr Biol 25, R851-R855.

FERRER, M a kol., 2007. The cellular machinery of *Ferroplasma acidiphilum* is iron-protein-dominated. Nature 445, 91-94.

GUY, L. – ETTEMA, T. J. 2011. The archael 'TACK' superphylum and the origin of eukaryotes. Trends Microbiol 19, 580-587.

HAMM, J. a kol. 2019. Unexpected host dependency of Antarctic Nanohaloarchaeota. Proc Natl Acad Sci USA 116, 14661-14670.

HUBER, H. a kol. 2000. *Ignicoccus* gen. nov., a novel genus of hyperthermophilic, chemolithoautotrophic Archaea, represented by two new species, *Ignicoccus islandicus* sp

nov and *Ignicoccus pacificus* sp nov. and *Ignicoccus pacificus* sp. nov, Int J Syst Evol Microbiol 50, Pt 6, 2093-2100.
HUBER H. a kol. 2002. A new phylum of Archaea represented by a nanosized hyperthermophilic symbiont. Nature 417, 63-67.
HUDECOVÁ, D. – ŠIMKOVIČ, M. 2014. Mikrobiológia. 2. vyd. Bratislava: STU.
IMACHI, H. a kol. 2020. Isolation of an archaeon at the prokaryote– eukaryote interface. Nature 577, 519-525.
JAIN, J. – CAFOIRO, A. 2014. Biosynthesis of archaeal membrane ether lipids. Front Microbiol 5, 641.
JARRELL, K. F. – ALBERS, S. V. 2012. The archaellum: an old motility structure with a new name. Trends Microbiol 20, 307–312.
KANDLER, O. – KÖNIG, H. 1998. Cell wall polymers in Archaea (Archaebacteria). Cell Mol Life Sci 54, 305-308.
KOONIN, E. V. 2015. Archaeal ancestors of Eukaryotes: Not so elusive any more. BMC Biol 13, 84.
LANGE, M. – WESTERMANN, P. – AHRING, B. K. 2005. Archaea in protozoa and metazoa. Appl Microbiol Biotechnol 66, 465-474.
NÄTHER, D.J. a kol. 2006. Flagella of *Pyrococcus furiosus*: Multifunctional organelles, made for swimming, adhesion to various surfaces, and cell-cell contacts. J Bacteriol 188, 6915-6923.
NUNOURA, T. a kol. 2011. Insights into the evolution of Archaea and eukaryotic protein modifier systems revealed by the genome of a novel archaeal group. Nucl Acid Res 39, 3204-3223.
ORTIZ-ALVAREZ, R – CASAMAYOR, E. O. 2016. High occurrence of Pacearchaeota and Woesearchaeota (Archaea superphylum DPANN) in the surface waters of oligotrophic high-altitude lakes". Environ Microbiol Rep 8, 210-217.
PETITJEAN, C. a kol. 2014. Rooting the domain Archaea by phylogenomic analysis supports the foundation of the new kingdom Proteoarchaeota. Genome Biol Evol 7, 191-204.
PRESTON CM a kol. 1996. A psychrophilic crenarchaeon inhabits a marine sponge: *Cenarchaeum symbiosum* gen. nov., sp. nov. Proc Natl Acad Sci USA 93, 6241-6246.
RINKE, C. a kol. 2013. Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter. Nature 499,431-437.
SAKAI, H. D. – KUROSAWA, N. 2018. *Saccharolobus caldissimus* gen. nov., sp. nov., a facultatively anaerobic iron-reducing hyperthermophilic archaeon isolated from an acidic terrestrial hot spring, and reclassification of *Sulfolobus solfataricus* as *Saccharolobus solfataricus* comb. nov. and *Sulfolobus shibatae* as *Saccharolobus shibatae* comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol 68, 1271-1278.
SEITZ, K. W. a kol., 2019. Asgard archaea capable of anaerobic hydrocarbon cycling. Nat Commun 10, 1822.
SHE, Q. a kol. 2001. The complete genome of the crenarchaeon *Sulfolobus solfataricus* P2. Proc Natl Acad Sci USA 98, 7835-7840.
SHIMA, S. – THAUER, R. K. – ERMLER, U. 2004. Hyperthermophilic and salt-dependent formyltransferase from *Methanopyrus kandleri*. Biochem Soc Trans 32(Pt 2), 269-272.
SPANG, A. a kol. 2015. Complex archaea that bridge the gap between prokaryotes and eukaryotes. Nature 521, 173-179.
SPANG, A. a kol. 2017. Genomic exploration of the diversity, ecology, and evolution of the archaeal domain of life. Science 357, eaaf3883.
SPANG, A. a kol. 2019. Proposal of the reverse flow model for the origin of the eukaryotic cell based on comparative analyses of Asgard archaeal metabolism. Nat Microbiol 4, 1138-1148.

St JOHN, E. a kol. 2019. A new symbiotic nanoarchaeote (Candidatus *Nanoclepta minutus*) andits host (*Zestosphaera tikiterensis* gen. nov., sp. nov.) from a New Zealand hot spring. Syst Appl Microbiol 42, 94-106.

TAKAI, K. a kol. 2008. Cell proliferation at 122°C and isotopically heavy CH_4 production by a hyperthermophilic methanogen under high-pressure cultivation. Proc Natl Acad Sci USA 105, 10949–10954.

TOCCHINI-VALENTINI, G. D. – FRUSCOLONI, P. – TOCCHINI-VALENTINI, G. P. 2011. Evolution of introns in the archaeal world. Proc Natl Acad Sci USA 108, 4782-4787.

UENO, Y. a kol. 2006. Evidence from fluid inclusions for microbial methanogenesis in the early Archaean era. Nature 440, 516-519.

ULAS, T. a kol., 2012. Genome-scale reconstruction and analysis of the metabolic network in the hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus*. PLOS ONE 7, e43401.

VALENTINE, D. L. 2007. Adaptations to energy stress dictate the ecology and evolution of the Archaea. Nature Rev Microbiol 5, 316-323.

VIANNA, M. E. a kol. 2006. Identification and quantification of archaea involved in primary endodontic infections. J Clin Microbiol 44, 1274-1282.

WASSERFALLEN A. a kol., 2000. Phylogenetic analysis of 18 thermophilic *Methanobacterium* isolates supports the proposals to create a new genus, *Methanothermobacter* gen. nov., and to reclassify several isolates in three species, *Methanothermobacter thermautotrophicus* comb. nov., *Methanothermobacter wolfeii* comb. nov., and *Methanothermobacter marburgensis* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 50, 43.

WATERS, E. a kol. 2003. The genome of *Nanoarchaeum equitans*: insights into early archaeal evolution and derived parasitism. Proc Natl Acad Sci USA 100, 12984-12988.

WHITTAKER, R. H. 1969. New concepts of kingdoms of organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. Science 163, 150-160.

WOESE, C. R. – FOX G. E. 1977. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. Proc Natl Acad Sci USA 74, 5088-5090.

WOESE, C. R. – KANDLER, O. – WHEELIS, M. L. 1990. Toward a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proc Natl Acad Sci USA 87, 4576-4579.

YOUSSEF, N.H. a kol. 2015. Insights into the metabolism, lifestyle and putative evolutionary history of the novel archaeal phylum 'Diapherotrites'. ISME J 9, 447-460.

YUTIN, N. – KOONIN, E. V. 2012. Archaeal origin of tubulins. Biol Direct 7, 10.

ZAREMBA-NIEDZWIEDZKA, K. a kol. 2017. Asgard archaea illuminate the origin of eukaryotic cellular complexity. Nature 541 , 353-358.

ZILLIG, W. a kol. 1980. The *Sulfolobus*-"*Caldariellard*" group: Taxonomy on the basis of the structure of DNA-dependent RNA polymerases". Arch Microbiol 125, 259-269.

21 PÔVOD EUKARYOTICKEJ BUNKY

Matej Vesteg, Dominika Ihradská

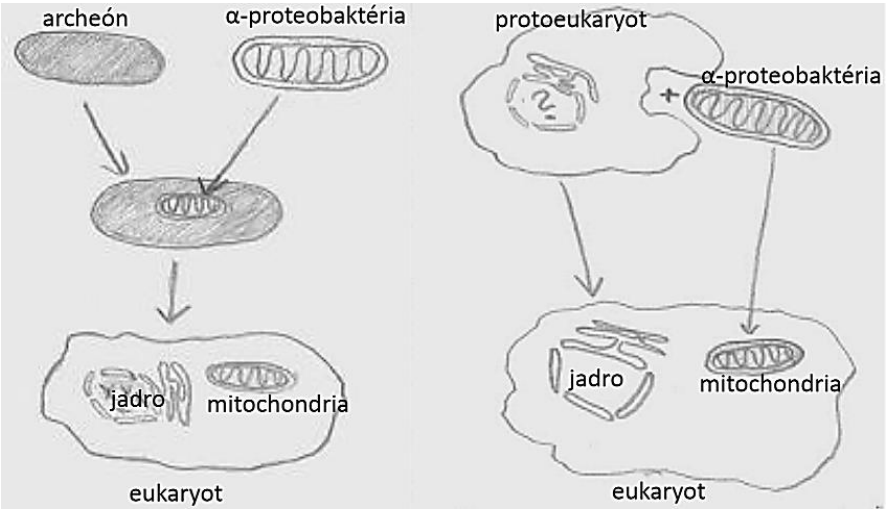
Spoločný predchodca eukaryotov (**LECA** – *L*ast *E*ukaryotic *C*ommon *A*ncestor) bol typickou eukaryotickou bunkou – **mal jadro, ER, GA, mitochondrie, bol schopný pohlavného rozmnožovania** a jeho jadrový genóm obsahoval **spliceozómové introny**, ktoré vystrihoval z pre-mRNA **spliceozóm**. LECA mal pravdepodobne aj schopnosť **fagocytózy**. **Jadro, ER a GA sú autogénneho pôvodu** – nevznikli endosymbiózou. Naopak **mitochondrie vznikli endosymbiózou** z prokaryotických baktérií, konkrétne **z alfaproteobakterií** (α-proteobaktérií).

Existuje viacero nespochybniteľných dôkazov o endosymbiotickom pôvode mitochondrií z α-proteobaktérií. V mitochondriách je prítomný samostatný genóm, ktorý je **zvyčajne kruhový** a **gény** v ňom sú **usporiadané do operónov rovnako ako u baktérií**. Navyše **sekvencie génov kódované mitochondriovým genómom** (resp. sekvencie proteínov kódované mitochondriovými génmi) sú **najpodobnejšie sekvenciám génov** (resp. proteínov) **α-proteobaktérií** (Andersson a kol., 1998, 2003; Gray a kol., 1999, Lang a kol., 1999). **Mitochondrie sú rovnako ako α-proteobaktérie** (a iné G^--baktérie) **obalené dvomi membránami** a **obsahujú ribozómy baktériového typu** (70S). Delenie mitochondrií je proces veľmi podobný deleniu baktérií. Mnohé metabolické dráhy, ktoré zvyčajne prebiehajú v mitochondriách (napr. Krebsov cyklus alebo oxidatívna fosforylácia) prebiehajú aj v α-proteobaktériách a iných aeróbnych baktériách. Endosymbiotický **proces premeny α-proteobaktérií na mitochondrie bol sprevádzaný transferom génov z genómu α-proteobaktérie do genómu hostiteľa** (tzv. endosymbiotický génový transfer – EGT) (Timmis a kol., 2004) **a redukciou mitochondriového genómu**.

Ešte donedávna sa prítomnosť mitochondrií u viacerých anaeróbnych prvokov (ako napr. *Giardia* alebo *Trichomonas*) spochybňovala. Viacerí vedci predpokladali, že tieto línie eukaryotov bez mitochondrií sú starobylé a navrhovali ich spoločne klasifikovať do taxónu Archaezoa. Podľa tejto tzv. „Archaezoa hypotézy“ boli teda α-proteobaktérie pohltené fagocytózou nejakou líniou, ktorá už mala všetky definujúce znaky eukaryotickej bunky okrem mitochondrií. Z tejto línie následne vznikli všetky eukaryoty s mitochondriami. U takmer všetkých prvokov, o ktorých sa predpokladalo, že mitochondrie nemajú, však boli neskôr pozostatky mitochondrií (hydrogenozómy alebo mitozómy) identifikované (Makiuchi a Nozaki, 2014), prípadne sa našli aspoň gény mitochondriového pôvodu v jadre. Jedinou výnimkou je rod *Monocercomonoides* z taxónu Excavata, u ktorého sa dodnes nenašli žiadne stopy po mitochondriách ani gény mitochondriového pôvodu (Karnkowska a kol., 2016). V súčasnosti väčšina vedcov nepochybuje o tom, že LECA mitochondrie mal, pričom u niektorých anaeróbnych línií prvokov došlo nezávisle k ich masívnej redukcii a v prípade rodu *Monocercomonoides* k ich úplnej strate. O endosymbióze α-proteobaktérií a ich premene na mitochondrie je tak možné uvažovať ako o jednom z kľúčových procesov vedúcich k vzniku LECA.

Hoci je endosymbiotický pôvod mitochondrií z α-proteobaktérií dobre objasnený, už menej je jasné, ako vyzerala hostiteľská bunka pre α-proteobaktériu. O jej povahe a o spôsobe, akým sa do nej α-proteobaktéria dostala, sa vedú rozsiahle vedecké diskusie. Asi **najpopulárnejšia hypotéza** predpokladá, že **hostiteľskou bunkou pre α-proteobaktériu bol prokaryotický archeón** z nejakej konkrétnej línie archeónov (Guy a Ettema, 2011). Druhá najznámejšia a zároveň najčastejšia **konfrontačná hypotéza** voči tej najpopulárnejšej

predpokladá, že **hostiteľskou bunkou nebol archeón, ale sesterská línia domény Archaea, tzv. „protoeukaryot“ alebo „pre-karyot“** (Poole a Neumann, 2010) (obr. 21.1). Pre-karyot sa však mohol vyvinúť aj z niektorej línie archeónov.



Obr. 21.1. Dve najznámejšie hypotézy o pôvode eukaryotov *(upravené podľa Krajčovič a Vesteg, 2008)*

Hypotézu o pôvode eukaryotov predpokladajúcu, že hostiteľom pre α-proteobaktériového predka bol archeón, ako prví formulovali Martin a Müller (1998). Podľa ich tzv. vodíkovej hypotézy bol hostiteľom pre α-proteobaktériu metanogénny (metán produkujúci) archeón závislý na vodíku, ktorý produkovala práve symbiotická α-proteobaktéria. Hostiteľský archeón a symbiotická α-proteobaktéria však mohli byť aj v inom trofickom vzťahu. Viacero recentných fylogenetických analýz naznačuje, že hľadaným hostiteľom pre α-proteobaktériu by mohla byť niektorá z nedávno objavených skupín archeónov zo skupiny Asgard Archaea. Zástupcovia Asgard archeónov obsahujú spomedzi všetkých skupín archeónov najviac génov a proteínov, o ktorých sa donedávna predpokladalo, že sú špecifické len pre eukaryoty. Vzhľadom na tento fakt, ale aj najnovšie fylogenetické analýzy ribozómových proteínov sa väčšina vedcov zaoberajúcich sa touto problematikouv súčasnosti prikláňa k názoru, že najbližšími príbuznými eukaryotov boli Heimdallarchaeota zo skupiny Asgard (Spang a kol., 2015, 2017, 2019; Zaremba-Niedzwiedzka a kol., 2017; Seitz a kol., 2019). Eukarya by tak boli len taxonomickou podmnožinou skupiny Archaea a nie samostatnou doménou.

Hypotézu o pôvode eukaryotov z archeónov však komplikuje fakt, že membránové fosfolipidy baktérií a eukaryotov sú estery mastných kyselín a glycerol-3-fosfátu, pričom lipidy archeónov majú izoprénové reťazce naviazané na glycerol-1-fosfát éterovou väzbou. Lipidy archeónov sú stabilnejšie než lipidy baktérií a eukaryotov. Hypotézy o pôvode eukaryotov z archeónov tak musia nutne predpokladať zámenu stabilnejších archeónových lipidov za menej stabilné baktériové u hostiteľskej línie archeónov. Väčšina zástancov pôvodu eukaryotov z archeónov sa však k otázke, akým spôsobom (resp. pod akými selekčnými tlakmi) prebehlo nahradenie stabilnejších lipidov za menej stabilné vôbec nevyjadruje (Vesteg a Krajčovič, 2011).

Zástancovia archeónového pôvodu eukaryotov sa zvyčajne domnievajú, že sa všetky znaky typické pre eukaryoty (jadro, ER, GA a spliceozómové intróny, schopnosť fagocytózy a pohlavného rozmnožovania) vyvinuli až po endosymbióze archeóna s α-proteobaktériovým predkom mitochondrií. Neuvažujú však napr. o tom, žeby predok archeónov a eukaryotov

mohol byť komplexný „protoeukaryotický“ mikroorganizmus, ktorý už mal viaceré znaky eukaryotov. Všetky línie archeónov teoreticky mohli vzniknúť diferenciálnou (väčšou či menšou) redukciou takéhoto predka (Forterre, 2015). Takýto „protoeukaryotický“ predchodca mohol obsahovať všetky gény kódujúce tzv. „eukaryotické“ proteíny prítomné u rôznych línií archeónov, pričom u jednotlivých línií archeónov došlo k diferenciálnej (väčšej či menšej) strate týchto génov. Fylogenetické analýzy, v ktorých sú eukaryoty sesterskou líniou niektorej z Asgard línií archaeónov, by tak mohli byť odrazom stupňa redukcie translačného aparátu u jednotlivých archeónových línií (najviac zredukované línie archeónov na báze archeo-eukaryotického stromu, najmenej zredukované najbližšie k eukaryotom) a nie reálne fylogenetické vzťahy.

Alternatívna skupina hypotéz o pôvode eukaryotov teda predpokladá, že hostiteľom pre α-proteobaktériu bola sesterská línia domény Archaea. Hostiteľ sa tak už mohol vyznačovať aspoň niektorými znakmi eukaryotov ako napr. schopnosťou pohlcovať bunky procesom fagocytózy (Cavalier-Smith, 2002), prítomnosťou spliceozómových intrónov a spliceozómov alebo schopnosťou sexuálneho rozmnožovania (Vesteg a Krajčovič, 2007, 2008, 2011; Vesteg a kol., 2012). α-proteobaktéria taktiež nemusela byť pôvodne obligátnym endosymbiontom, ale mohla byť najprv len pohltenou korisťou alebo dokonca len intracelulárnym parazitom. Hostiteľská bunka tak mohla byť akýmsi proto-eukaryotom alebo pre-karyotom.

Väčšina hypotéz o pôvode endomembránového systému LECA, čiže jadra, ER a GA, predpokladá, že sa tieto štruktúry vyvinuli z endocytických vezikúl derivovaných z plazmatické membrány. Väčšina hypotéz o pôvodu LECA taktiež predpokladá, že hostiteľ pre α-proteobaktérie bol obalený len jednou membránou, podobne ako Gram-pozitívne baktérie alebo väčšina archeónov. Iná hypotéza (Vesteg a kol., 2006; Vesteg a Krajčovič, 2008, 2011) predpokladá, že hostiteľ pre α-proteobaktérie bol obalený dvomi membránami podobne ako Gram-negatívne baktérie alebo archeón *Ignicoccus* sp. Podľa tejto hypotézy bola α-proteobaktéria pôvodne parazitom medzimembránového priestoru (periplazmy) hostiteľskej (pre-karyotickej) bunky, pričom endomembránový systém LECA vznikol z vnútornej membrány hostiteľa (Vesteg a kol., 2006; Vesteg a Krajčovič, 2008, 2011).

Literatúra

ANDERSSON, S. G. E. a kol. 1998. The genome sequence of *Rickettsia prowazekii* and the origin of mitochondria. Nature 396, 133-140

ANDERSSON, S. G. E. a kol. 2003. On the origin of mitochondria: a genomics perspective. Phil Trans R Soc London B 358, 165-179.

CAVALIER-SMITH, T. 2002. The phagotrophic origin of eukaryotes and the phylogenetic classification of Protozoa. Int J Syst Evol Microbiol 52, 297-354.

FORTERRE, P. 2015. The universal tree of life: an update. Front Microbiol 6, 717.

GRAY, M. W. – BURGER, G. – LANG, B. F. 1999. Mitochondrial evolution. Nature 283, 1476-1481.

GUY, L. – ETTEMA, T. J. 2011. The archael ‘TACK’ superphylum and the origin of eukaryotes. Trends Microbiol 19, 580-587.

KARNKOWSKA, A. a kol. 2016. A eukaryote without a mitochondrial organelle. Curr Biol 26, 1274-1284.

KRAJČOVIČ, J. – VESTEG, M. 2008. Bunka základ života – kde sa vzala? In Magdolen D. a kol. (ed.), Hmota Život Inteligencia: Vznik, Bratislava: VEDA, 85-120.

LANG, B. F. – GRAY, M. W. – BURGER, G. 1999. Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes. Ann Rev Gen 33:351-397.

MAKIUCHI, T. – NOZAKI, T. 2014. Highly divergent mitochondrion-related organelles in anaerobic parasitic protozoa. Biochimie 100, 3-17.
MARTIN, W. – MÜLLER, M. 1998. The hydrogen hypothesis for the first eukaryote. Nature 392, 37-41.
POOLE, A. M. – NEUMANN, N. 2010. Reconciling an archaeal origin of eukaryotes with engulfment: a biologically plausible update of the Eocyte hypothesis. Res Microbiol 162, 71-76.
SEITZ, K. W. a kol., 2019. Asgard archaea capable of anaerobic hydrocarbon cycling. Nat Commun 10, 1822.
SPANG, A. a kol. 2015. Complex archaea that bridge the gap between prokaryotes and eukaryotes. Nature 521, 173-179.
SPANG, A. a kol. 2017. Genomic exploration of the diversity, ecology, and evolution of the archaeal domain of life. Science 357, eaaf3883.
SPANG, A. a kol. 2019. Proposal of the reverse flow model for the origin of the eukaryotic cell based on comparative analyses of Asgard archaeal metabolism. Nat Microbiol 4, 1138-1148.
TIMMIS, J. N. a kol. 2004. Endosymbiotic gene transfer: organelle genomes forge eukaryotic chromosomes. Nat Rev Genet 5, 123-135.
VESTEG, M. – KRAJČOVIČ, J. – EBRINGER, L. 2006. On the origin of eukaryotes and their endomembranes. Riv Biol 99, 445-466.
VESTEG, M. – KRAJČOVIČ, J. 2007. On the origin of meiosis and sex. Riv Biol 100, 147-161.
VESTEG, M. – KRAJČOVIČ, J. 2008. Origin of eukaryotic cells as a symbiosis of parasitic α-proteobacteria in the periplasm of two-membrane-bounded sexual pre-karyotes. Commun Integr Biol 1, 104-113.
VESTEG, M. – KRAJČOVIČ, J. 2011. The falsifiability of the models for the origin of eukaryotes. Curr Genet 57, 367-390.
VESTEG, M. – ŠÁNDOROVÁ, Z. – KRAJČOVIČ, J. 2012. Selective forces for the origin of spliceosomes. J Mol Evol 74, 226-231.
ZAREMBA-NIEDZWIEDZKA, K. a kol. 2017. Asgard archaea illuminate the origin of eukaryotic cellular complexity. Nature 541, 353-358.

22 PÔVOD CHLOROPLASTOV ENDOSYMBIÓZOU FOTOTROFOV A DIVERZITA EUKARYOTOV S PLASTIDMI

Dominika Ihradská, Matej Vesteg

Začiatky systematiky živých organizmov boli venované klasifikácii makroskopických eukaryotov na základe ich morfologických podobností. Koncom šesťdesiatych rokov dvadsiateho storočia bola celá biodiverzita živých organizmov rozdelená **do piatich taxonomických ríš** (kingdoms): **Monera** (prokaryoty), **Plantae** (rastliny), **Animalia** (živočíchy), **Fungi** (huby) a **Protista** (jednobunkové eukaryoty) (Whittaker, 1969). Dnes už táto klasifikácia neplatí. Organizmy sa klasifikujú **do troch domén**: **Bacteria, Archaea a Eukarya**. **Eukaryoty** sa na základe fylogenetických analýz ešte donedávna najčastejšie rozdeľovali na skupiny **Amoebozoa, Opisthokonta, Archaeplastida, Excavata, SAR** a ďalšie skupiny **eukaryotov nejasného taxonomického postavenia (*incertae sedis*)** ako napr. Haptophyta a Cryptophyta (Adl a kol., 2012). V roku 2019 však došlo k relatívne rozsiahlej revízii tohto systému (Adl a kol., 2019; viď kapitola 28).

Väčšina prokaryotov (domény Bacteria a Archaea) je nefotosyntetických. Drvivá **väčšina fotosyntetických prokaryotov** patrí medzi **cyanobaktérie (Cyanobacteria)**. Sú to **Gram-negatívne baktérie**, teda majú **dve membrány, medzi ktorými sa nachádza peptidoglykánová (mureínová) bunková stena**. Obyčajne majú **modrozelené sfarbenie**, obsahujú **chlorofyl *a*** a u väčšiny z nich sa **na jednotlivých tylakoidoch** (derivátoch vnútornej membrány) nachádzajú f**ykobilizómy s farbivami fykobilínmi – modrý fykocyanín a červený fykoerytrín** (viď kapitola 19). **Najstaršie zaznamenané fosílie na Zemi (stromatolity) staré 3,5 miliardy rokov** (obdobie prekambria) **vznikli pravdepodobne činnosťou cyanobaktérií**, prípadne im príbuzných resp. podobných prokaryotov (Allwood a kol., 2009). Sinice sú teda možno aj najstaršie fotosyntetizujúce organizmy, ktoré boli **zodpovedné za vytvorenie kyslíkatej atmosféry na Zemi**, kde boli počas prvej 1,5 miliardy rokov existencie života dominantnou formou. **Približne pred 1-2 miliardami rokov z nich vznikli endosymbiózou primárne plastidy (chloroplasty) s dvomi membránami u spoločného predka skupiny Plantae (Archaeplastida)** (viď kapitola 22.1).

Okrem skupiny Archaeplastida, ktorá zahrňuje takmer výhradne fotosyntetických zástupcov (len niektorí obsahujú nefotosyntetické plastidy) sa **organizmy s chloroplastami** vyskytujú **aj u niektorých, ale nie všetkých taxónov zo skupín SAR** (zoskupenie Stramenopiles, Alveolata a Rhizaria) a u niektorých ďalších taxónov – konkrétne u skupín **Haptophyta a Cryptophyta**. **Plastidy týchto taxónov** však na rozdiel od plastidov skupiny Archaeplastida obalených dvoma membránami **majú zvyčajne tri alebo štyri mebrány – tzv. sekundárne, prípadne terciárne plastidy**. Drvivá **väčšina zástupcov skupiny Excavata je nefotosyntetických**, len **niektorí zástupcovia skupiny Euglenida (Euglenophyta) obsahujú sekundárne plastidy obalené tromi membránami**. **Sekundárne (resp. terciárne) plastidy sú podstatne evolučne mladšie ako primárne plastidy skupiny Archaeplastida** (viď kapitoly 22.2 a 22.3). **U skupiny Amoebozoa** zahrňujúcej **prevažne amébovité organizmy** (prípadne amébovité bičíkovce) a **u skupiny Opisthokonta** zahrňujúcej **živočíchy, huby a im príbuzné Protista sa chloroplasty nikdy nevyskytujú**. V zriedkavých prípadoch však môžu bunky niektorých taxónov z týchto dvoch skupín obsahovať endosymbiotické fotosyntetické mikroorganizmy.

22.1 Primárna endosymbióza

Autorom myšlienky, že plastidy vznikli endosymbiózou z fotosyntetických baktérií je Konstantin Mereschkowski (1905). Endosymbiotická teória bola dlho neuznanou, až v sedemdesiatych rokoch ju spopularizovala Lynn Margulis. Jej prvá publikácia (Sagan, 1967) propagovala najmä pôvod bičíkov a mitotického vretienka zo spirochét, čo sa nepotvrdilo, zatiaľ čo endosymbiotický pôvod plastidov a mitochondrií sa potvrdil.

Primárne plastidy skupiny Archaeplastida sú ancestrálne fotosyntetické organely, ktoré **vznikli endosymbiózou z cyanobaktérií (siníc)** a sú rovnako ako ony **obalené dvomi membránami**. Sinica bola pravdepodobne pohltená fagotrofným heterotrofným eukaryotom s dvomi bičíkmi (bikontný eukaryot) a následne sa z nej vyvinul primárny chloroplast. Primárne plastidy si podobne ako mitochondrie zachovali **genóm prokaryotického typu** a **prokaryotický typ ribozómov** (70S) (Katz, 2012). **Plastidový genóm** obsahuje zvyčajne **100-120 génov**, ktorých produkty sa zúčastňujú fotosyntézy, transkripcie a translácie chloroplastových génov. Fylogenetické analýzy chloroplastových génov skupiny Archaeplastida jednoznačne potvrdzujú cyanobaktériový pôvod chloroplastového genómu.

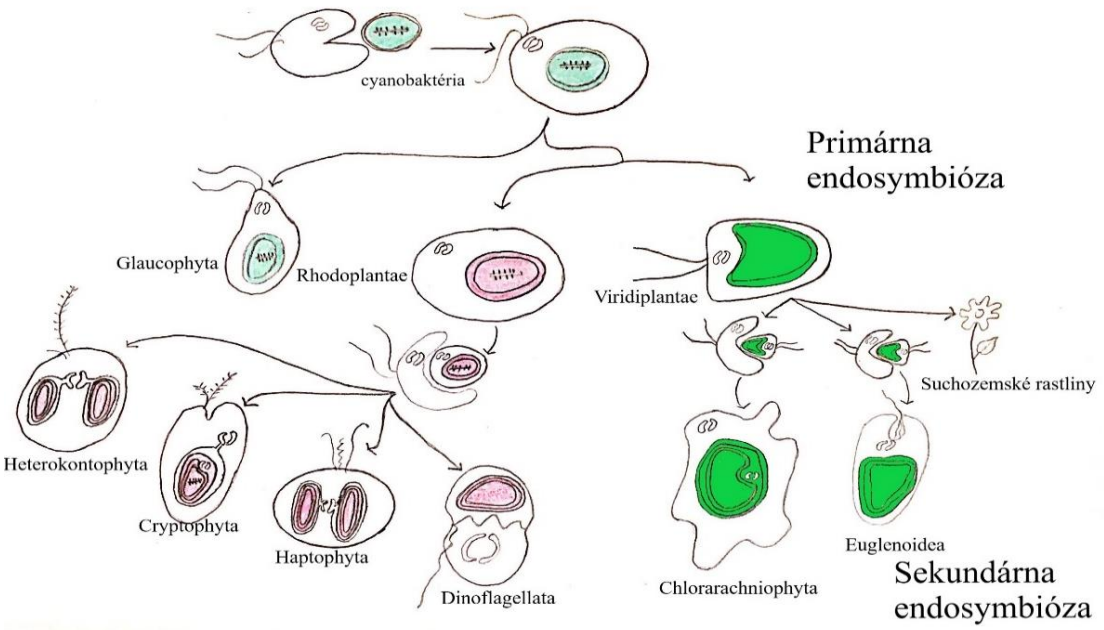
V prvých fázach endosymbiózy sinice v eukaryotickom hostiteľovi došlo k strate a/alebo **prenosu veľkého množstva génov symbiotickej sinice do jadra hostiteľa** (Katz, 2012). Veľkosť chloroplastových genómov je zredukovaná z cca 2500 kb (u voľne žijúcich siníc) na cca 200 kb. **Väčšina proteínov potrebných pre funkcie primárnych chloroplastov je kódovaná v jadre, syntetizovaná v cytoplazme (cytosole) a následne importovaná do plastidu. Import proteínov cez vonkajšiu membránu** zabezpečuje proteínový komplex označovaný ako **Toc** (translocon of outer chloroplast membrane) a **import cez vnútornú membránu zabezpečuje** proteínový komplex označovaný ako **Tic** (translocon of intron chloroplast membrane). Pre membrány primárnych plastidov je charakteristický vysoký obsah galaktoglycerolipidov, napr. mono- a digalaktosyldiacylglycerol (MGDG a DGDG). Po primárnej endosymbióze **fotosyntetický predchodca Archaeplastida divergoval na tri línie: Glaucophyta, Rhodophyta** (Rhodoplantae, červené riasy) **a Chloroplastida** (Viridiplantae, zelené riasy a suchozemské rastliny) (obr. 22.1).

Glaucophyta sú bazálnou líniou Archaeplastida, ktorá sa od spoločného predka Archaeplastida oddelila ako prvá. Ostatné Archaeplastida potom divergovali na Rhodoplantae a Viridiplantae. Glaucophyta sú monadoidné (bičíkaté, napr. rod *Cyanophora*) alebo kokálne (bez bičíkov, napr. rod *Glaucosystis*) jednobunkovce. Ich **plastidy obalené dvomi membránami** majú **modrozelené sfarbenie** ako sinice a sú **štruktúrne podobné voľne žijúcim siniciam**. **Rovnako ako sinice majú zachovanú baktériovú peptidoglykánovú (mureínovú) bunkovú stenu medzi dvomi membránami**. Takéto plastidy nazývame **cyanelly** alebo **muroplasty**. Plastidy ostatných zástupcov Archaeplastida (až na malé výnimky, viď Hirano a kol., 2016) peptidoglykánovú bunkovú stenu nemajú. Pigmentové zloženie cyanell tvorí iba chlorofyl *a* a fykobilíny (fykocyanín a fykoerytrín) vo fykobilizómoch na povrchu tylakoidov podobne ako u väčšiny siníc. Tylakoidy sú usporiadané koncentricky ako u siníc rodu *Synechococcus*.

Bunky zástupcov skupiny **Rhodoplantae (Rhodophyta, červené riasy)** sú vždy bez bičíkatých štádií. Plastidy skupiny Rhodophyta, nazývané rhodoplasty, sú obalené dvomi membránami rovnako ako všetky primárne plastidy Archaeplastida. **Rhodoplasty obsahujú pigment chlorofyl *a* a fykobilíny** rovnako ako plastidy Glaucophyta. Na rozdiel od Glaucophyta však už ich **plastidy nemajú mureínovú bunkovú stenu**.

Viridiplantae (**Chloroplastida**: zelené riasy a suchozemské rastliny) sú treťou líniou zo skupiny Archaeplastida **s primárnymi chloroplastami obalenými dvomi membránami**.

Ich spoločný predchodca pravdepodobne stratil fykobilíny, keďže u žiadneho z recentných zástupcov ich nenachádzame. Obsahoval však pravdepodobne okrem **chlorofylu *a* aj chlorofyl *b***, keďže tento nachádzame u všetkých fotosyntetických zástupcov Chloroplastida. **Jednou z najmladších vývojových vetiev skupiny Chloroplastida sú suchozemské rastliny (Embryophyta)**.



Obr. 22.1. Primárna a sekundárna endosymbióza. *Primárnou endosymbiózou s cyanobaktériou vznikli primárne plastidy (obalené dvomi membránami) predchodcu skupiny Archaeplastida, ktorý následne divergoval na Glaucophyta, červené riasy (Rhodoplantae) a zelené riasy (Viridiplantae). Sekundárnou endosymbiózou s červenou riasou vznikli sekundárne plastidy skupín Heterokontophyta, Cryptophyta, Haptophyta a predchodcu Dinoflagellata. Sekundárne plastidy Chlorarachniophyta a Euglenophyta vznikli zo zelených rias. Sekundárne plastidy majú tri alebo štyri membrány.*

Paulinella chromatophora (obr. 22.2a) je fototrofný zástupca zo skupiny **SAR**, konkrétne zo skupiny **Rhizaria**, kam sa radia prevažne amébovité organizmy. V rámci Rhizaria patrí do taxónu **Cercozoa**, konkrétne **Euglyphida**, kam patria prevažne heterotrofné jednobunkovce bez chloroplastov s kremičitými schránkami, z ktorých spodnej strany vybiehajú tenké vetvené panôžky (filopódie). *P. chromatofora* má na rozdiel od ostatných zástupcov skupiny Euglyphida **primárne plastidy**, ktoré sú **štruktúrne podobné plastidom organizmov zo skupiny Glaucophyta** a taktiež ich nazývame **cyanelly** (obr. 22.2a). Cyanelly si na rozdiel od väčšiny chloroplastov zachovali pôvodom baktériovú (sinicovú) **peptidoglykánovú (mureínovú) bunkovú stenu medzi svojimi dvomi membránami a sú modrozeleného sfarbenia**. V prípade *P. chromatophora* sa ale jedná o **evolučne mladšiu nezávislú endosymbiózu siníc** (~ 60-200 miliónov rokov) (Marin a kol., 2005; Nowack, 2014; Nowack a kol., 2008) než v prípade plastidov spoločného predka skupiny Archaeplastida (~ 1-2 miliardy rokov) (Falkowski a kol., 2004; Parfrey a kol., 2011; Yoon a kol., 2004).

22.2 Sekundárna endosymbióza

Sekundárna endosymbióza je pohltenie zelenej alebo červenej riasy heterotrofným hostiteľom. **Zo zelenej alebo červenej riasy sa následne vyvinuli tzv. sekundárne plastidy**, ktoré majú na rozdiel od primárnych plastidov až **tri alebo štyri membrány** (obr. 22.1). V prípade niektorých línií so sekundárnymi plastidmi obalenými štyrmi membránami, zostáva medzi druhou a treťou membránou zachovaný aj **pozostatok jadra zelenej alebo červenej riasy – nukleomorf**. **U väčšiny línií so sekundárnymi plastidmi však už nukleomorf zanikol**. Takmer u všetkých sekundárnych plastidov však **zostáva zachovaný plastidový, pôvodom sinicový genóm**.

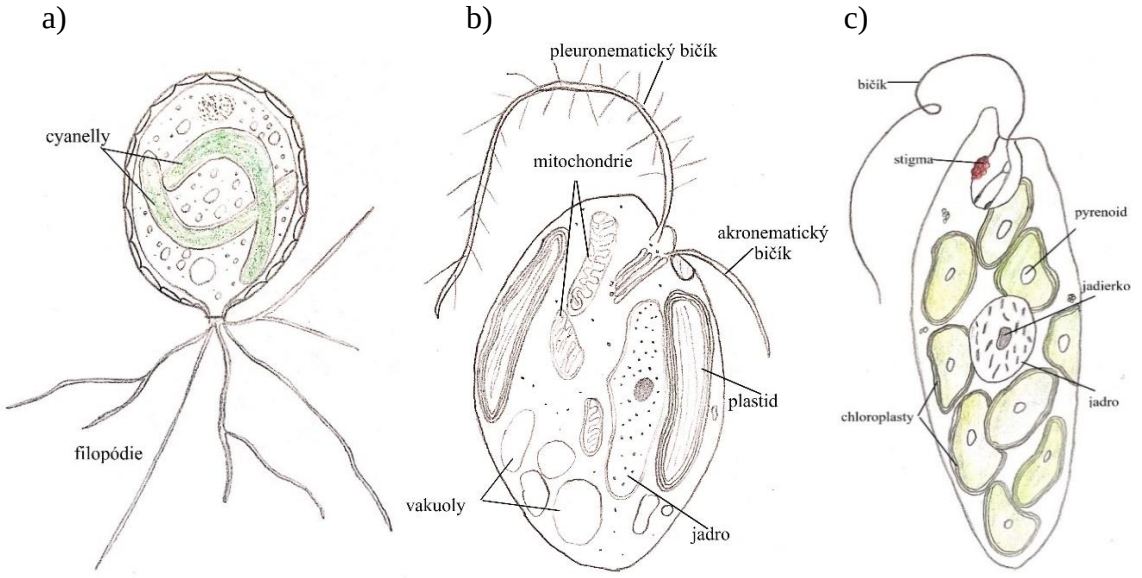
Chromalveolátová hypotéza predpokladala, že **k sekundárnej endosymbióze s červenou riasou došlo v evolúcii iba raz u spoločného predka** všetkých organizmov z taxónu, ktorý sa označoval ako **„Chromalveolata“** (Cavalier-Smith, 1999, 2002). Do taxón Chromalveolata sa zaraďovali dve skupiny – **Alveolata a Chromista**. Najznámejšími skupinami zo skupiny **Alveolata** sú skupiny **Dinoflagellata** (synonymá Dinozoa a Dinophyta, panciernatky), **Apicomplexa** (apikomplexné parazity) a **Ciliophora** (synonymum Ciliata, riasničkavce, resp. nálevníky). Najznámejšími skupinami v minulosti zaraďovanými do skupiny **Chromista** sú skupiny **Stramenopiles** (synonymum Heterokontophyta, rôznobičíkaté riasy), **Haptophyta** a **Cryptophyta** (Cavalier-Smith, 2002).

Zástupcovia skupiny **Chromista s plastidmi ich majú obalené štyrmi membránami**. **Štvrtá membrána plastidu je kontinuálna s membránou drsného ER hostiteľskej bunky**, ktorá je kontinuálna s jadrovou membránou. Na túto štvrtú membránu sú teda naviazané ribozómy hostiteľskej bunky. U zástupcov zo skupiny **Cryptophyta sa medzi druhou a treťou membránou chloroplastu nachádza aj zvyšok jadra endosymbiotickej riasy – nukleomorf**. Zástupcovia skupín **Stramenopiles** (obr. 22.2b) **a Haptophyta** majú **plastidy** so štyrmi membránami **bez nukleomorfu**.

U zástupcov skupiny **Alveolata vonkajšia membrána plastidu nie je kontinuálna s membránou drsného ER hostiteľskej bunky** (nie sú na ňu naviazané ribozómy). A **ich plastidy nemajú nukleomorf. Nefotosyntetické plastidy** (viď kapitola 22.4) skupín **Apicomplexa a Perkinsea majú štyri membrány** a **pôvodné sekundárne plastidy skupiny Dinoflagellata majú tri membrány**, hoci mnohé Dinoflagellata ich nahradili za tzv. terciárne, prípadne iné sekundárne plastidy (viď kapitola 22.3). **Ciliata plastidy nemajú**, hoci môžu obsahovať symbiotické fototrofné mikroorganizmi (prípadne ich plastidy).

Chromalveolata boli **ešte do roku 2012 považované za jednu zo šiestich veľkých skupín eukaryotov** (tzv. „supergroups“). Zvyšnými piatimi boli Opisthokonta, Amoebozoa, Archaeplastida, Excavata a Rhizaria. **Podľa chromalveolátovej hypotézy mali všetky organizmy zo skupiny Chromalveolata spoločného predka, ktorý mal sekundárne chloroplasty obalené štyrmi membránami** a medzi druhou a treťou membránou chloroplastu nukleomorf. Tento sekundárny chloroplast podľa tejto hypotézy **vznikol jednou jedinou sekundárnou endosymbiózou s červenou riasou** (Cavalier-Smith, 1999, 2002). Niektoré Chromalveolata podľa tejto hypotézy stratili nukleomorf a niektoré Alveolata aj jednu z dvoch vonkajších membrán chloroplastu. Keďže niektoré skupiny Chromista (napr. Opalinata) a Alveolata (napr. Ciliophora) žiadne plastidy nemajú, **chromalveolátna hypotéza** tak **musela** aj nutne **predpokladať úplnú stratu sekundárnych chloroplastov u viacerých chromalveolátnych línií**. Všetky fotosyntetické Chromalveolata si zachovali chloroplastový genóm, ktorý bol predtým chloroplastovým genómom červenej riasy a ešte predtým genómom sinice. **Niektoré fylogenetické analýzy chloroplastových génov naozaj chromalveolátnu hypotézu podporovali, fylogenetické analýzy jadrových génov však nie** (Katz, 2012). **Na základe fylogenetických analýz jadrových génov pôvodom z potenciálneho hostiteľa pre červenú riasu sa ukázalo, že Stramenopiles a Alveolata sú**

príbuzné s Rhizaria. Stramenopiles, Alveolata a Rhizaria boli preto zoskupené do taxónu SAR (Adl a kol., 2012; Burki, 2014). **Superskupiny Chromalaveolata a Rhizaria tak zanikli** a eukaryoty boli od roku 2012 do roku 2019 najčastejšie rozdeľované do piatich „superskupín“ (Opisthokonta, Amoebozoa, Archaeplastida, Excavata a SAR) a do viacerých skupín nejasného taxonomického postavenia (*incertae sedis*) (Adl a kol., 2012). Haptophyta a Cryptophyta z pôvodného taxónu Chromalveolata boli ešte donedávna najčastejšie považované za skupiny *incertae sedis* (Adl a kol., 2012; Burki, 2014). V najnovšom, systéme sú však Haptophyta spoločne s Centrohelida radené do taxónu Haptista a Cryptophyta spoločne s Katablepharida do taxónu Cryptista (Adl a kol., 2019; viď kapitola 28). **Chromalveolátna hypotéza je tak s najväčšou pravdepodobnosťou nesprávna. Plastidy Cryptophyta, Haptophyta, Heterokontophyta (Stramenopiles), Dinophyta a Apicomplexa vznikli pravdepodobne niekoľkými nezávislými sekundárnymi endosymbiózami s červenými riasami**, **prípadne** u niektorých z týchto skupín **aj sériovými terciárnymi endosymbiózami** (viď kapitola 22.3).



Obr. 22.2. Príklady organizmov, ktorých chloroplasty vznikli nezávisle od primárnych chloroplastov predchodcu skupiny Archaeplastida. *a)* Paulinella *sp. je organizmus zo skupiny Rhizaria (superskupiny SAR), ktorého primárne plastidy s dvomi membránami a mureínovou bunkovou stenou (cyanelly) vznikli zo siníc primárnou endosymbiózou podstatne mladšou, ako bola tá, ktorá viedla k vzniku primárnych plastidov predchodcu skupiny Archaeplastida. b) Spoločný predchodca fotosyntetických skupín (Ochrophyta) zo skupiny Heterokontophyta (Stramenopiles) mal sekundárne chloroplasty obalené štyrmi membránami, ktoré vznikli sekundárnou endosymbiózou z červenej riasy. c)* Euglena *sp. zo skupiny Euglenophyta (fotosyntetické Euglenida, resp. Euglenoidea) má sekundárne chloroplasty obalené tromi membránami, ktoré vznikli sekundárnou endosymbiózou zo zelenej riasy.*

Chloroplasty skupiny Chlorarachniophyta (zo skupiny SAR, Rhizaria, Chlorarachnea, Reticulophylosa) **vznikli sekundárnou endosymbiózou zelenej riasy a sú obalené štyrmi membránami**. **Medzi druhou a treťou chloroplastovou membránou sa nachádza zvyšok jadra (nukleomorf) endosymbiotickej zelenej riasy**. Bunky obsahujú niekoľko zelených chloroplastov s pyrenoidom, chlorofyl *a* a chlorofyl *b*. Chloroplasty

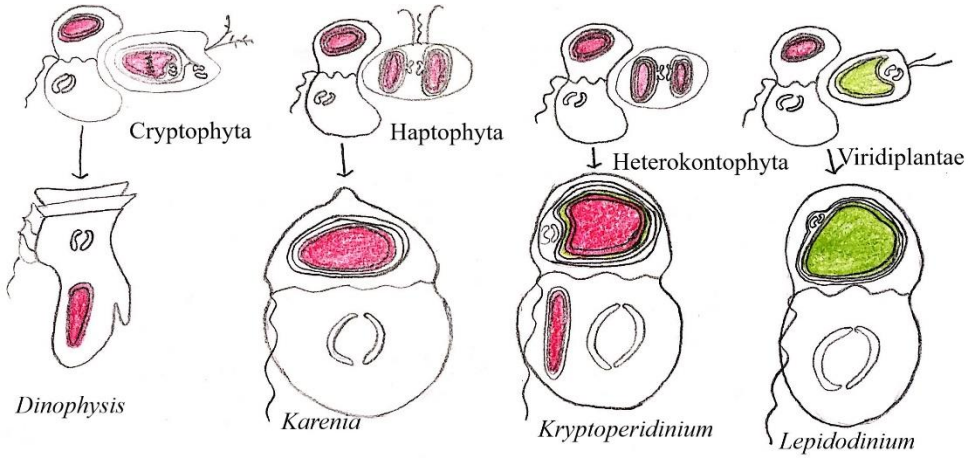
obsahujú aj chloroplastový genóm (pôvodný chloroplastový genóm zelenej riasy a ešte predtým genóm prokaryotickej sinice). Endosymbiotická zelená riasa, z ktorej vznikli plastidy Chlorarachniophyta, bola pravdepodobne zo skupiny Ulvophyceae (Turmel a kol., 2009).

Celkom nezávislou sekundárnou endosymbiózou so zelenou riasou vznikli chloroplasty Euglenophyta (jediná fotosyntetická skupina z taxónu Excavata) (Turmel a kol., 2009). Plastidy tejto skupiny vznikli zo zelenej riasy príbuznej rodu *Pyramimonas* (Turmel a kol., 2009). Hostiteľ bol pôvodne heterotrofný bičíkovec zo skupiny Euglenoidea (synonymum Euglenida). **Sekundárne plastidy Euglenophyta sú obalené tromi membránami a nemajú nukleomorf** (obr. 22.2c). Podľa predpokladov boli dve vnútorné plastidové membrány pôvodnými membránami primárnych plastidov skupiny Chlorophyta. Vonkajšia tretia membrána bola pôvodne buď fagozómová membrána hostiteľskej bunky, alebo cytoplazmatická membrána zelenej riasy, pričom jedna z nich sa musela stratiť (Sulli a kol., 1999).

Zaujímavým je aj rod *Hatena* (zo skupiny Katablepharida, príbuznej Cryptophyta), u ktorého je popísaná recentná sekundárna endosymbióza v progrese so zelenou riasou rodu *Nephroselmis*. Po pohltení bunky rodu *Nephroselmis* sa jeho plastid zväčší a ostatné organely zaniknú. Po delení hostiteľskej bunky si jedna bunka rodu *Hatena* zachová symbionta a druhá bunka nie (viď kapitola 28.4.2).

22.3 Terciárna endosymbióza a nahrádzanie plastidov

Terciárnou endosymbiózou vznikajú tzv. terciárne chloroplasty zo skupín už obsahujúcich sekundárny chloroplast (napr. zo zástupcov skupín Haptophyta, Cryptophyta alebo Stramenopiles). Najčastejšie sa s ňou stretávame **u skupiny Dinoflagellata** (synonymá Dinozoa a Dinophyta, panciernatky) zo skupiny Alveolata. **Spoločný predchodca Dinoflagellata pravdepodobne obsahoval sekundárny tzv. peridinínový plastid** (plastid obsahujúci peridinín) **obalený tromi membránami**, **ktorý bol pôvodom z červených rias**. **Mnoho zástupcov Dinoglagellata už takýto chloroplast nemá, ale nahradili svoj pôvodný sekundárny chloroplast za terciárny chloroplast**, prípadne iný sekundárny chloroplast (obr. 22.3).



Obr. 22.3. Terciárna endosymbióza a nahrádzanie sekundárnych chloroplastov za iné u skupiny Dinoflagellata

Panciernatka rodu *Dinophysis* obsahuje terciárne plastidy, ktoré vznikli zo symbiotických kryptomonád (Cryptophyta). Terciárne plastidy panciernatiek rodov *Karenia* a *Karlodinium* pochádzajú zo symbiotickej riasy patriacej do skupiny Haptophyta (Keeling, 2013) (obr. 22.3).

Zaujímavým prípadom je panciernatka rodu *Kryptoperidinium*, ktorej terciárne plastidy vznikli z rozsievky (Bacillariophyceae) zo skupiny Stramenopiles (synonymum Heterokontophyta). Terciárny endosymbiont je pomerne málo redukovaný. Zachovalo sa nielen jeho jadro (nukleomorf) a jeho sekundárne plastidy so štyrmi membránami, ale aj jeho mitochondrie. Možno povedať, že tieto terciárne plastidy majú teda až päť membrán, pričom piata bola buď pôvodne cytoplazmatickou membránou endosymbiotickej rozsievky alebo fagozómu (resp. myzozómu) hostiteľskej bunky. Zaujímavosťou je, že stigma nachádzajúca sa v cytoplazme rodu *Kryptoperidinium*, je obalená tromi membránami. Pravdepodobne ide o redukovaný pôvodný sekundárny peridinínový plastid pôvodom z červených rias, z ktorého sa už zachovala iba stigma (obr. 22.3).

Za zmienku stojí aj panciernatka rodu *Lepidodinium*, ktorá má sekundárne chloroplasty derivované zo zelených rias. Došlo u nej teda k nahradeniu sekundárneho peridinínového plastidu derivovaného z červených rias za sekundárny chloroplast derivovaný zo zelených rias (Takishita a kol., 2008) (obr. 22.3).

22.4 Strácanie schopnosti fotosyntézy

Nefotosyntetické plastidy sa vyskytujú pomerne často u mnohých príbuzných aj nepríbuzných skupín organizmov. Väčšinou sa zachoval redukovaný chloroplastový genóm, v niektorých prípadoch sa však stratil úplne. Nefotosyntetické plastidy sa našli u niektorých heterotrofných suchozemských rastlín, ale aj u parazitických (napr. Apicomplexa) a voľne žijúcich (napr. *Euglena longa*) prvokov a rias (Hadariová a kol., 2018).

V skupine červených (Rhodoplantae) aj **zelených rias (Chloroplastida) došlo k viacerým nezávislým stratám fotosyntézy**. Kryptický plastid parazitického prvoka *Helicosporidium* sp. zo skupiny Chloroplastida má vysoko redukovaný plastidový genóm. Hoci sa z jadrového genómu rodu ***Helicosporidium*** väčšina génov zodpovedných za fotosyntézu stratila, niektoré fotosyntetické gény, ako napr. gény kódujúce enzýmy Calvinovho cyklu sa zachovali (Pombert a kol., 2014). Ďalším oportunistickým patogénom zo skupiny Chloroplastida, ktorý stratil schopnosť fotosyntézy, ale zachoval si nefotosyntetický chloroplast s genómom je rod ***Prototheca***, ktorý je príbuzný fotosyntetického rodu *Auxenochlorella* (Yan a kol., 2015).

U bezfarebných voľne žijúcich jednobunkovcov ***Polytoma*** *obtusum* a *Polytoma uvella* zo skupiny Chloroplastida sa zachovali nefotosyntetické plastidy s genómom a funkčnými ribozómami (Vernon a kol., 2001). Plastidový genóm *P. uvella* s veľkosťou 230 kb je najväčší sekvenovaný plastidový genóm spomedzi nefotosyntetických organizmov. Taká veľkosť genómu *P. uvella* je dôsledkom expanzie medzigénových repetitívnych sekvencií a akumulácie samovystrihujúcich sa intrónov. Repetitívne oblasti mohli pomocou homologickej rekombinácie prispieť k strácaniu génov a viesť k redukcii počtu génov v plastidovom genóme *P. uvella* (Hadariová a kol., 2018).

Úplná strata plastidových genómov bola dlho považovaná za nemožnú, pretože neboli známe žiadne prípady plastidov bez genómov. Nedávno boli také plastidy nájdené v štyroch druhoch **rodu *Polytomella*** zo skupiny Chloroplastida. Jadrom kódované gény, ktorých produkty sú potrebné pre delenie plastidu alebo replikáciu a opravu plastidovej DNA neboli objavené, ale gény kódujúce iné plastidové proteíny sú prítomné a exprimované (Smith a Lee, 2014). Strata plastidového genómu nemusí byť jednoduchá záležitosť ani u sekundárne

heterotrofných organizmoch, pretože aj niektoré gény funkčne nesúvisiace s fotosyntézou sú životne dôležité v mnohých fotosyntetických zelených riasach (Hadariová a kol., 2018).

Apikoplast je **obligátny nefotosyntetický plastid Apicomplexa** (zo skupiny Alveolata), ale **prebiehajú v ňom životne dôležité nefotosyntetické biosyntetické procesy** typické pre iné plastidy (metabolizmus lipidov, izoprenoidov a iné). Pôvodom je to **sekundárny plastid**, **ktorý vznikol zo symbiotickej červenej riasy**. Nebol však nájdený u všetkých Apicomplexa. Predpokladá sa, že napr. rody ***Cryptosporidium*** (Abrahamsen a kol., 2004; Zhu a kol., 2000) alebo ***Ascogregarina*** (Templeton a kol., 2010) **apikoplast sekundárne úplne stratili**. **Apikoplast má štyri membrány**, vyskytuje sa v blízkosti mitochondrie a **nemá nukleomorf**. Obsahuje **značne redukovaný plastidový genóm**. Cirkulárny plastidový genóm pôvodcu malárie *Plasmodium falciparum* má 35 kb. Štúdie u *Toxoplasma gondi* (pôvodca toxoplazmózy) a *P. falciparum* ukazujú, že apikoplast a jeho genóm sú nevyhnutné pre prežitie týchto parazitických Apicomplexa (Hadariová a kol., 2018).

Napriek skutočnosti, že asi polovica **Dinoflagellata** nie je fotosyntetických, tieto organizmy mali fotosyntetického predchodcu, ktorý mal komplexné plastidy obalené tromi membránami obsahujúce peridinín, pôvodom z červených rias (Cavalier-Smith, 2002). V línii dinoflagelát tak došlo k viacnásobným stratám schopnosti fotosyntézy a pravdepodobne tiež plastidov. **Úplná strata plastidu** však bola doposiaľ exaktne preukázaná len u jediného zástupcu Dinoflagellata, **u parazita *Hematodinium*** sp. (Gornik a kol., 2015). Viaceré línie dinoflagelát však nahradili svoje plastidy s peridinínom inými sekundárnymi alebo terciárnymi plastidmi (viď kapitola 22.3). Toto nahradenie bolo sprevádzané redukciou alebo úplnou stratou plastidu obsahujúceho peridín (Hadariová a kol., 2018). K sekundárnej strate fotosyntézy došlo aj u parazita ustríc *Perkinsus* sp., ktorý obsahuje nefotosyntetické plastidy obalené štyrmi membránami a je blízky príbuzný Dinoflagellata.

V prípade sladkovodného rodu *Cryptomonas* zo skupiny **Cryptophyta** boli popísané najmenej **tri nezávislé straty fotosyntézy**. Je zaujímavé, že nukleomorf, teda pozostatok jadra sekundárneho endosymbionta, je zachovaný vo všetkých troch nefotosyntetických druhoch rodu *Cryptomonas* (Hoef-Emden, 2015).

Najmenej päť vetiev skupiny **Euglenophyta** druhotne stratilo schopnosť fotosyntézy. V súčasnosti nie je vo väčšine prípadov známe, či stratili plastidy úplne alebo stále majú pozostatok plastidov a plastidových genómov. **Voľne žijúca bezfarebná *Euglena longa*, blízka príbuzná fotosyntetickej *Euglena gracilis*, má nefotosyntetický plastid obalený tromi membránami a obsahujúci plastidový genóm.** Kruhová plastidová DNA *E. longa* s veľkosťou 73 kb je približne polovičnej veľkosti chloroplastového genómu *E. gracilis* (143 kb). Existujú tiež výrazné rozdiely v poradí génov medzi chloroplastovými genómami *E. gracilis* a *E. longa*. Všetky gény pre fotosyntetické proteíny sa stratili z plastidového genómu *E. longa* s výnimkou veľkej podjednotky RuBisCo (ribulóza 1,5-bis-fosfátkarboxyláza), ktorá má obyčajne úlohu v Calvinovom cykle. Transkripčný a translačný aparát v plastidoch *E. longa* je funkčný (Hadariová a kol., 2018). Zaujímavosťou je, že **pomocou antibiotík je možné experimentálne navodiť stratu fotosyntézy u *E. gracilis* (vybieľovanie, bleaching)**, **pričom dochádza k degradácii chloroplastového genómu**. V médiu s dostatočným množstvom zdroja uhlíka však **strata fotosyntézy nemá na životaschopnosť *E. gracilis* žiadny vplyv**. **Pôsobenie antibiotík na nefotosyntetického bičíkovca *E. longa* ho však zabíja**, čo naznačuje, že nefotosyntetické chloroplasty s neporušeným chloroplastovým genómom sú pre tohto bičíkovca esenciálne na rozdiel od fotosyntetických chloroplastov *E. gracilis* (Hadariová a kol., 2017).

Viaceré straty fotosyntézy boli popísané aj u zástupcov skupiny Stramenopiles, napr. v prípade rodov *Nitzschia* a *Spumella*.

Redukované nefotosyntetické plastidy sa vyskytujú u parazitických aj voľne žijúcich, jednobunkových i mnohobunkových organizmov. Parazitické organizmy sú vo všeobecnosti často redukované v dôsledku prispôsobenia sa parazitickému životnému štýlu. Keďže môžu využívať metabolity hostiteľov, mnoho z ich vlastných metabolických dráh môže úplne vymiznúť. Na druhej strane prítomnosť redukovaných plastidov (alebo mitochondrií) vo voľne žijúcich eukaryotických líniách naznačuje, že reduktívna evolúcia organel nie je obmedzená na parazity. **V zriedkavých prípadoch sa chloroplasty môžu úplne stratiť** (ako napr. v prípade niektorých apikomplexných parazitov, viď vyššie). Úplná strata plastidov je možná len v prípade, že ich genóm nekóduje žiadny esenciálny génový produkt a v plastidoch ani neprebieha žiadna esenciálna metabolická dráha (Hadariová a kol., 2018).

Literatúra

ABRAHAMSEN, M. S. a kol. 2004. Complete genome sequence of the apicomplexan, *Cryptosporidium parvum*. Science 16, 441-445.

ADL, S. M. a kol. 2012. The revised classification of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 5, 429-493.

ADL, S. M. a kol. 2019. Revisions to the classification, nomenclature and diversity of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 66, 4-119.

ALLWOOD, A. C. a kol. 2009. Controls on development and diversity of Early Archean stromatolites. Proc Nat Acad Sci USA 106, 9548-9555.

BURKI, F. 2014. The eukaryotic tree of life from a global phylogenomic perspective. Cold Spring Harb Perspect Biol 6, a016147.

CAVALIER-SMITH, T. 1999. Principles of protein and lipid targeting in secondary symbiogenesis: euglenoid, dinoflagellate, and sporozoan plastid origins and the eukaryote family tree. J Eukaryot Microbiol 46, 347-366.

CAVALIER-SMITH, T. 2002. The phagotrophic origin of eukaryotes and the phylogenetic classification of Protozoa. Int J Syst Evol Microbiol 52, 297-354.

FALKOWSKI, P.G. a kol. 2004. The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. Science 305, 354-360.

GORNIK, S.G. a kol., 2015. Endosymbiosis undone by stepwise elimination of the plastid in a parasitic dinoflagellate. Proc Natl Acad Sci 112, 5767-5772.

HADARIOVÁ, L. a kol. 2017. An intact plastid genome is essential for the survival of colorless *Euglena longa* but not *Euglena gracilis*. Curr Genet 63, 331-341.

HADARIOVÁ, L. a kol. 2018. Reductive evolution of chloroplasts in non-photosyntetic plants, algae and protists. Curr Genet 64, 365-387.

HIRANO, T. a kol. 2016. Moss chloroplasts are surrounded by a peptidoglycan wall containing D-amino acids. Plant Cell 28, 1521-1532.

HOEF-EMDEN, K. 2005. Multiply independent losses of photosynthesis and differing evolutionary in the genus *Cryptomonas* (Cryptophyceae): Combined phylogenetic analyses of DNA sequences of the nuclear and the nucleomorph ribosomal operons. J Mol Evol 60, 183-195.

KATZ, L.A. 2012. Origin and diversification of eukaryotes. Ann Rev Microbiol 66, 411-427.

KEELING, P. J. 2013. The number, speed, and impact of plastid endosymbioses in eukaryotic evolution. Annu Rev Plant Biol 64, 583-607.

MARIN, B. – NOWACK, E. C. – MELKONIAN, M. 2005. A plastid in the making: evidence for a second primary endosymbiosis. Protist 156, 425-432.

MERESCHKOWSKI, C. 1905. Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. Biol Centralbl 25, 593-604. (Preložené do angličtiny v Martin, W., Kowallik, K.V., 1999. Eur J Phycol 34, 287-295).

NOWACK, E. C. 2014. *Paulinella chromatophora* – rethinking the transition from endosymbiont to organelle. Acta Soc Bot Pol 83, 387-397.

NOWACK, E.C. – MELKONIAN, M. – GLÖCKNER, G. 2008. Chromatophore genome sequence of *Paulinella* sheds light on acquisition of photosynthesis by eukaryotes. Curr Biol 18, 410-418.

PARFREY, L.W. a kol. 2011. Estimating the timing of early eukaryotic diversification with multigene molecular clocks. Proc Natl Acad Sci 108, 13624-13629.

POMBERT, J.F. a kol. 2014. A lack of parasitic reduction in the obligate parasitic green alga *Helicosporidium*. PLoS Genet 10, e1004355.

SAGAN, L. 1967. On the origin of mitosing cells. J Theor Biol 14, 225-274.

SMITH, D. R. – Lee, R. W. 2014. A plastid without a genome: evidence from the nonphotosynthetic green algal genus *Polytomella*. Plant Physiol 164, 1812-1819.

SULLI, C. a kol. 1999. Topology of *Euglena* chloroplast protein precursors within endoplasmic reticulum to Golgi to chloroplast transport vesicles. J Biol Chem 274, 457-463.

TAKISHITA, K. a kol. 2008. Origins of plastids and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase genes in the green-colored dinoflagellate *Lepidodinium chlorophorum*. Gene 410, 26-36.

TEMPLETON, T.J. a kol. 2010. A genome-sequence survey for *Ascogregarina taiwanensis* supports evolutionary affiliation but metabolic diversity between a gregarine and *Cryptosporidium*. Mol Biol Evol 27, 235-248.

TURMEL, M. a kol. 2009. The chloroplast genomes of the green algae *Pyramimonas*, *Monomastix*, and *Pycnococcus* shed new light on the evolutionary history of prasinophytes and the origin of the secondary chloroplasts of euglenids. Mol Biol Evol 26, 631-648.

VERNON, D. a kol. 2001. Accelerated evolution of functional plastid rRNA and elongational factor genes due to reduced protein synthetic load after the loss of photosynthesis in the chlorophyte alga *Polytoma*. Mol Biol Evol 18, 1810-1822.

WHITTAKER, R. H. 1969. New concepts of kingdoms of organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. Science 163, 150-160.

YAN, D. a kol. 2015. *Auxenochlorella protothecoides* and *Prototheca wickerhamii* plastid genome sequences give insight into the origins of non-photosynthetic algae. Sci Rep 5, 14465.

YOON, H.S. a kol. 2004. A molecular timeline for the origin of photosynthetic eukaryotes. Mol Biol Evol 21, 809-818.

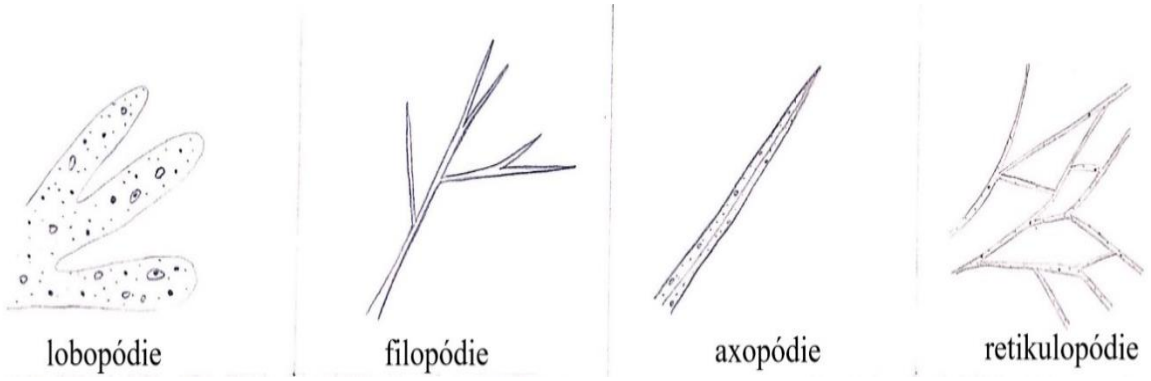
ZHU, G. – MARCHEWKA, M.J. – KEITHLY, J.S. 2000. *Cryptosporidium parvum* appears to lack a plastid genome. Microbiology 146, 315-321.

23 AMOEBOZOA

Matej Vesteg, Dominika Ihradská

Protista s panôžkami (pseudopódiami) nazývame **meňavky (améby)**. **Panôžky** sú zodpovedné za **pomalý amébovitý pohyb** a slúžia aj na **prijímanie potravy pomocou fagocytózy**. **Za amébovitý pohyb** je zodpovedná **polymerizácia a depolymerizácia aktínu** pod plazmatickou membránou (aktínový komplex). Najčastejšími **typmi panôžok** sú **laločnaté panôžoky (lobopódie), tenké vetvené panôžky (filopódie), tenké nevetvené panôžky vystužené mikrotubulami z tubulínu (axopódie) a zosieťované panôžky (retikulopódie)** (obr. 23.1).

Kedysi boli všetky meňavky radené do polyfyletickej skupiny Rhizopoda („Koreňonožce“) resp. Sarcodina (meňavky). V dnešnej dobe radíme na základe fylogenetických analýz amébovité organizmy medzi rôzne skupiny – Amoebozoa, Rhizaria, Heterolobosea, Stramenopiles, Opisthokonta, prípadne aj do iných skupín. **Najviac meňavkovitých organizmov patrí práve do skupín Amoebozoa a Rhizaria** (zo supeskupiny SAR). Zástupcovia skupiny Rhizaria majú iné typy panôžok ako Amoebozoa. **U zástupcov Amoebozoa sa môžu vyskytovať lobopódie alebo filopódie, no nevyskytujú sa u nich axopódie ani typické retikulopódie**. U zástupcov Rhizaria sa zase nevyskytujú lobopódie, no sú pre nich typické filopódie, axopódie a retikulopódie (obr. 23.1).



***Obr. 23.1. Typy panôžok (pseudopódií)**. U zástupcov skupiny Amoebozoa sa vyskytujú lobopódie a filopódie. U zástupcov Rhizaria (zo skupiny SAR) sa vyskytujú filopódie, axopódie a retikulopódie.*

Skupina Amoebozoa bola po prvýkrát navrhnutá na základe porovnávacích molekulových analýz (Cavalier-Smith, 1997). Táto skupina zostáva dobre podporenou aj vo fylogenetických analýzach väčšieho množstva dát z viacerých taxónov (Katz, 2012). Mnohé fylogenetické analýzy naznačujú, že skupina **Amoebozoa** je **najbližšie príbuzná skupine Obazoa** – **zoskupenie Opisthokonta** (viď kapitola 24)**, Breviatea a Apusozoa** (viď kapitola 28.1). **Amoebozoa a Obazoa** sú v súčasnosti spoločne radené do taxónu **Amorphea** (Adl a kol., 2019; viď kapitola 28).

Takmer u všetkých zástupcov sa počas ich životného cyklu vyskytuje štádium améby. U niektorých je známe výhradne štádium jednobunkovej améby bez schránky (napr. *Amoeba proteus*). Skupina **Amoebozoa** je však známa svojou obrovskou morfologickou diverzitou

a zahrňuje **améby bez schránky aj so schránkami, ale aj bičíkovce alebo amébovité bičíkovce**. Niektorí zástupcovia sú parazitickí. Spoločný predchodca bol pravdepodobne amébovitý bičíkovec s dvomi bazálnymi telieskami a dvomi bičíkmi (alebo možno len jedným bičíkom).

U niektorých je známe aj pohlavné rozmnožovanie, u mnohých však nie je popísané. **V ich životnom cykle** sa môžu (ale aj nemusia) striedať **rôzne morfologické štádiá** a mnohé môžu vytvárať aj **dormantné (odpočinkové) cysty**. Viacerí zástupcovia **môžu vytvárať aj rozmnožovacie útvary pripomínajúce plodnice (sporokarp a sorokarp)**. **Sporokarp** je **útvar nesúci jednu alebo viacero spór, obyčajne na stopke, ktorý vzniká diferenciáciou jedinej meňavky**. **Sorokarp je mnohobunkový rozmnožovací útvar so stopkou, ktorý sa formuje po agregácii (zhlukovaní) viacerých améb** (Adl a kol., 2012, 2019; Kang a kol. 2017).

Ich mitochondriové kristy sú tubulárne, prípadne tubulárne vetvené alebo u anaeróbnych zástupcov chýbajú. Väčšinou obsahujú len jedno jadro, zriedkavo dve a viac (napr. rody *Pelomyxa* a *Chaos* sú mnohojadrové). Niektoré majú obrovské genómy, aj sto až dvestokrát väčšie ako človek (napr. *A. proteus* alebo *Polychaos dubium*).

„Tradične“ sa Amoebozoa rozdeľovali na dve skupiny: 1) Lobosa, ktoré nemajú bičíky a 2) Conosa, ktoré obvykle majú jeden alebo dva bičíky, ale nemusia ich mať. Ich systém na základe fylogenetických analýz je však podstatne komplexnejší (Adl a kol., 2012, 2019; Kang a kol., 2017). Najnovšie fylogenetické analýzy podporujú rozdelenie **Amoebozoa na dve skupiny – Tevosa a Discosea**. **Tevosa sa** ďalej **delia na Tubulinea** a **Evosea**. Ukázalo sa teda, že taxón Lobosa, ktorý zahŕňal Tubulinea a Discosea, je parafyletický. Taxón **Evosea zahŕňa** taxón **Conosa (Variosea, Eumycetozoa a Archamoebae)** a taxón **Cutosea** (Kang a kol., 2017; Adl a kol., 2019). V prehľade systému Amoebozoa sú uvedené len niektoré z najznámejších taxónov.

23.1 Discosea

Medzi Discosea patria **améby bez schránok**, ktoré sú **pomerne sploštené**. Mnohí zástupcovia sú vejárovitého tvaru (skupina Flabellinia). **Pohyblivé formy buniek ani ich panôžky nikdy nemajú tubulárny (valcovitý) tvar**. Panôžky môžu alebo nemusia mať výbežky (subpseudopódie). Ak sú subpseudopódie prítomné, sú krátke. **Nikdy sa u nich nevyskytujú bičíkaté štádiá**. Niektorí zástupcovia môžu mať vo svojom životnom cykle štádium sporokarpu, nikdy sa však u nich nevyskytuje sorokarp. Pohlavné rozmnožovanie bolo zatiaľ popísané len u rodu *Sappinia* (Thecamoebida) (Adl a kol., 2012, 2019; Kang a kol., 2017).

Na základe nedávnych fylogenetických analýz ich možno rozdeliť na – **Flabellinia** (zahrňujúcej skupiny Dactylopodida, Vannellida, Thecamoebida a Dermamoebida) a **Centramoebia** (zahrňuje skupiny Himatismenida, Pellitida a Acanthamoebidae, synonymum Acanthopodida) (Kang a kol., 2017), prípadne aj Stygamoebida (Adl a kol., 2019).

Príkladom voľne žijúceho zástupcu je rod *Vannella* (Flabellinia, Vannellida). Rod ***Acanthamoeba*** (Centramoebia, Acantamoebidae) je obyčajne bakteriovorný, v nepriaznivých podmienkach môže však vytvárať aj odolné cysty a niekedy môže spôsobiť **infekcie** kože, centrálnej nervovej sústavy a **rohovky oka**, ktorá môže viesť až k slepote (ochorenie nazývané akantamébová keratitída). K infekcii oka obyčajne dochádza prostredníctvom kontaktných šošoviek.

23.2 Tubulinea

V minulosti bol taxón Tubulinea radený spoločne s Discosea do parafyletického taxónu Lobosa. Podľa najnovších sú však Tubulinea príbuzné Evosea (zoskupenie Conosa a Cutosea) a spolu s ním tvoria taxón Tevosa (Kang a kol., 2017).

Väčšina zástupcov taxónu Tubulinea sú **voľne žijúce bezbičíkaté améby tubulárneho (valcovitého) tvaru s lobopódiami (bez subpseudopódií)**. **Niektorí zástupcovia** však **môžu byť aj ploskí so subpseudopódiami**. Viacerí zástupcovia vedia **meniť morfológiu bunky z ploskej na valcovitú** (Adl a kol., 2012, 2019; Kang a kol., 2017).

Patria sem taxóny Elardia (zahrňujúci Euamoebida, Arcellinida a Leptomyxida), Echinamoebidia (zahrňujúci Vermamoebidae a Echinamoebidae) a Corycida (zahrňujúci Microcoryciidae a Trichosida) (Kang a kol., 2017; Adl a kol., 2019). Najznámejší zástupcovia patria do taxónov Euamoebida, Leptomyxida a Arcellinida.

23.2.1 Euamoebida

Do tohto taxónu patria améby **bez schránok s lobopódiami, prípadne len jednou laločnatou panôžkou** (monopodiálne améby), u ktorých sa nevyskytujú ploské morfologické formy. Ak je prítomná štruktúra guľovitého tvaru na posteriornom konci (uroid), neslúži na adhéziu (priľnutie) k povrchu (Adl a kol., 2012, 2019).

Patria sem napr. rody *Amoeba*, *Saccamoeba*, *Hartmanella*, *Chaos*, *Polychaos* alebo *Copromyxa*. Niektorí zástupcovia môžu byť pomerne veľkí, napr. **rod *Chaos* môže dosiahnuť dĺžku až 5 mm**. **Niektorí zástupcovia majú len jedno jadro** (napr. rody *Amoeba* alebo *Polychaos*), **iní majú jadier mnoho** (napr. rod *Chaos* ich môže mať až 1000). Zástupcovia tejto skupiny majú veľké jadrové genómy. **Genóm améby *Polychaos dubium*** (v minulosti označovaná ako *Amoeba dubia*) **je pravdepodobne až dvestokrát väčší ako ľudský genóm** (McGrath a Katz, 2004). Väčšina zástupcov nemá v životnom cykle mnohobunkové štádiá. V prípade **rodu *Copromyxa*** však za určitých okolností dochádza k agregácii améb a k **tvorbe** mnohobunkového rozmnožovacieho útvaru – **sorokarpu** (Brown a kol., 2011).

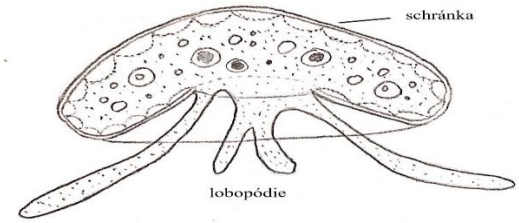
23.2.2 Leptomyxida

Zástupcovia tejto skupiny sú **ploské améby bez schránok** a hýbu sa veľmi pomaly, ale **za určitých podmienok** sú **schopné vytvoriť tubulárnu monopodiálnu formu**, ktorá sa pohybuje rýchlejšie. Majú **adhezívny uroid**. Môžu mať jedno alebo viac jadier. Patria sem napr. rody *Flabellula*, *Rhizamoeba* alebo *Leptomyxa*. Rod *Leptomyxa* má vždy mnoho jadier (Adl a kol., 2012, 2019).

23.2.3 Arcellinida

Do skupiny Arcellinida (synonymum Testacealobosia) patria **améby s extracelulárnymi schránkami z organického alebo anorganického materiálu**, ktorý buď sekretuje samotná bunka (vápenaté, kremičité alebo chitínové schránky) alebo ide o recyklovaný minerálny materiál z prostredia. **Schránka má jediný otvor, odkiaľ**

vychádzajú lobopódie (Adl a kol., 2012, 2019). Patria sem napr. rody *Arcella*, *Nebela* alebo *Difflugia*. Na obr. 23.2 je rod *Arcella*, ktorý sa pomerne hojne vyskytuje aj u nás.



Obr. 23.2.* Arcella *sp.

23.3 Conosa

Táto skupiny **je mimoriadne morfologicky variabilná**. Mnohí zástupcovia majú komplexné životné cykly zahrňujúce štádium améby, bičíkovca (alebo amébobičíkovca) a sorokarpu alebo sporokarpu, aj keď u väčšiny zástupcovia sú známe len niektoré alebo len jedno z týchto štádií.

Táto skupiny zahrňuje tri taxóny – **Archamoebae, Variosea** a **Eumycetozoa**. Skupina Conosa je pravdepodobne najbližšie príbuznou skupine Cutosea, spoločne s ktorou tvorí taxón Evosea (Kang a kol., 2017; Adl. a kol. 2019).

23.3.1 Archamoebae

Patria sem **améby bez bičíkov alebo s jedným bičíkom** (zriedkavo s viacerými bičíkmi). Bičík má len jedno bazálne teliesko (kinetozóm), ktoré je prepojené s kužeľovitou mikrotubulovou štruktúrou. Kinetozóm aj mikrotubuly bičíka (axonéma) majú často atypickú organizáciu. Zástupcovia sú **anaeróbni alebo mikroaerofilní bez typických mitochondrií.** U viacerých zástupcov bola dokázaná prítomnosť modifikovaných redukovaných anaeróbnymi mitochondrií (mitozómov)**,** u mnohých zástupcov však zatiaľ nebola zisťovaná ich prítomnosť. Zástupcovia sú buď voľne žijúci alebo sú to endobionti živočíchov. V súčasnosti sa rozdeľujú na Mastigamoebida a Pelobiontida a tri rody na rovnakej taxonomickej úrovni ako tieto dve skupiny – *Entamoeba*, *Tricholimax* a *Rhizomastix* (Adl a kol., 2019).

Medzi voľne žijúcich zástupcov patria napr. rody *Mastigamoeba* (Mastigamoebida) a *Pelomyxa* (Pelobiontida). ***Mastigamoeba*** je **améba s jedným anteriornym** (predným) **bičíkom, ktorého báza je prepojená kužeľovitou mikrotubulárnou štruktúrou až s jadrom**. Celá táto mikrotubulová štruktúra sa nazýva **karyomastigont**. Veľké jadierko ostáva v strede jadra a jadrová membrána ostávajú počas mitózy zachované. Mitotické vretienko sa vytvára v jadre. V niektorých štádiách životného cyklu bičík nie je pozorovateľný. Môže tvoriť aj cysty. *Pelomyxa* sp. je voľne žijúca améba obyčajne s viacerými jadrami a môže mať aj viacero bičíkov. Zástupcovia rodu ***Entamoeba*** sú **endobiotickí**, prípadne až **parazitickí**, **nemajú bičíky**, kinetozómy ani peroxizómy, majú redukovaný GA a ich mitóza je uzatvorená s tvorbou intranukleárneho deliaceho vretienka a centrozómu. *Entamoeba histolytica* je črevným parazitom človeka.

23.3.2 Variosea

Skupina zahrňuje **améby pretiahnutého alebo vejárovitého tvaru s dlhými špicatými, často rozvetvenými a niekedy aj zosieťovanými subpseudopodiami**. Môžu mať **jedno alebo mnoho jadier**. Niektorí zástupcovia môžu byť počas celého životného cyklu iba v štádiu bičíkovca, amébobičíkovce (s jedným alebo dvoma bičíkmi) alebo améby, u iných sa môžu striedať rôzne tieto štádiá, prípadne aj štádium sporokarpu. Patria sem skupiny Flamellidae, Protosteliida, Fractovitellida, Cavosteliida, Holomastigida a viacero rodov, ktoré sú taxonomicky na tej istej úrovni ako tieto skupiny (napr. rod *Phalansterium* – bičíkovec s jedným bičíkom). Flamellidae (napr. rod *Flamella*) sú ploské améby bez štádia bičíkovca. Protosteliida (napr. rod *Protostelium*) a Cavosteliida (napr. rod *Cavostelium*) sú améby so štádiom sporokarpu (Adl a kol., 2019).

23.3.3 Eumycetozoa

U všetkých známych zástupcov tejto skupiny sa **strieda jednobunkové štádium améby s mnohobunkovým štádiom sporokarpu alebo sorokarpu**. Patria sem skupiny **Dictyostelia, Myxogastria a Protosporangiida** (Kang a kol., 2017; Adl a kol., 2019).

23.3.3.1 Dictyostelia

U zástupcov **Dictyostelia** (angl. slime moulds) sú známe aj ako **sociálne améby. Strieda sa** u nich **štádium jednobunkovej jednojadrovej** (s periférne uloženým sieťovitým jadierkom) **haploidnej améby bez bičíka a mnohobunkového makroskopického sorokarpu**. Jednobunkové améby sa môžu rozmnožovať nepohlavne delením. **Počas nepriaznivých podmienok** (napr. počas hladovania) však **môžu améby** za pomoci chemických signálnych molekúl, ktoré vylučujú, **agregovať do mnohobunkového útvaru**, z ktorého **následne vyrastie sorokarp – nepohlavný rozmnožovací útvar so stopkou nesúci terminálne spóry.** V priaznivých podmienkach sa spóra opäť premení na amébu. U viacerých zástupcov je popísané aj **pohlavné rozmnožovanie**, počas ktorého **po fúzii dvoch haploidných améb vznikne diploidná zygota**, ktorá **chemickými signálmi priláka haploidné améby vlastného druhu**, **požiera ich** (kanibalizmus) **a vytvára hrubú bunkovú stenu** – štádium tzv. **makrocysty**, v ktorej prebehne meióza (Adl a kol., 2019). Typickým **pohlavne sa rozmnožujúcim zástupcom** je ***Dictyostelium discoideum***. V jeho makrocyste prebehne po meióze ešte niekoľko mitóz a následne sa uvoľňuje do prostredia väčší počet buniek. Jeho **sorokarp je veľký 1-2 mm**. **Jednobunkové haploidné améby sa živia baktériami**.

23.3.3.2 Myxogastria

Myxogastria sú **v haploidnom štádiu bikontné améby** (s dvomi bičíkmi). Ich typický životný cyklus zahŕňa **fúziu dvoch haploidných buniek** (plazmogamiu). **Po splynutí jadier** (karyogamii) **vznikne diploidná zygota**. Následne dôjde k **mnohonásobnému deleniu diploidných jadier** (bez následnej cytokinézy) a vzniku **jednej veľkej mnohojadrovej** (bezbičíkatej) **bunky** – tzv. **plazmódium**. Toto **plazmódium sa vyživuje fagocytózou** – požiera prokaryotické a iné eukaryotické bunky, ale aj organický materiál

a **rastie**. V niektorých prípadoch môže mať táto jediná bunka aj viac ako 1 m^2. Následne začne plazmódium **formovať jeden alebo viac sporokarpov**, v ktorých **po meióze vznikajú haploidné spóry**, ktoré sa premenia na bikontné améby. Sporokarpy sú zyčajne makroskopické, so stopkou alebo bez nej a u rôznych zástupcov môžu mať značne rôznorodú morfológiu (Adl a kol., 2019). U niektorých zástupcov nie je známe pohlavné rozmnožovanie a sú stále v diploidnom štádiu (jadrá plazmódií aj améby). Príkladmi zástupcov s makroskopickými sporokarpami sú rody *Physarum* a *Lycogala*.

23.3.3.3 Protosporangiida

U zástupcov **Protosporangiida** sa **strieda štádium bikontnej** (dvojbičíkatej) **améby a štádium mikroskopického** (tzv. protosteloidného) mnohobunkové **sporokarpu**. Štádium, z ktorého sa vyvíja jeden alebo viac sporokarpov, je však už jednojadrová alebo viacjadrová améba bez bičíkov. **Sporokarp má stopku** a produkuje **1-4**, **prípadne viac spór**. Príkladmi zástupcov sú rody *Protosporangium* a *Ceratiomyxa* (Adl a kol., 2019).

Literatúra

ADL, S. M. a kol. 2012. The revised classification of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 59, 429-493.

ADL, S. M. a kol. 2019. Revisions to the classification, nomenclature and diversity of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 66, 4-119.

BROWN, M. W. – SILBERMAN, J. D. – SPIEGEL, F. W. 2011. “Slime molds” among the Tubulinea (Amoebozoa): molecular systematics and taxonomy of *Copromyxa*. Protist 162, 277-287.

CAVALIER-SMITH, T. 1997. Amoeboflagellates and mitochondrial cristae in eukaryote evolution: megasystematics of the new protozoan subkingdoms Eozoa and Neozoa. Arch Protistenkd 147, 237-258.

KANG, S. a kol. 2017. Between a pod and a hard test: the deep evolution of amoebae. Mol Biol Evol 34, 2258-2270.

KATZ, L.A. 2012. Origin and diversification of eukaryotes. Annu Rev Microbiol 66, 411-427.

McGRATH, C. L. – KATZ, L. A. 2004. Genome diversity in microbial eukaryotes. Trends Ecol Evol 19, 32-38.

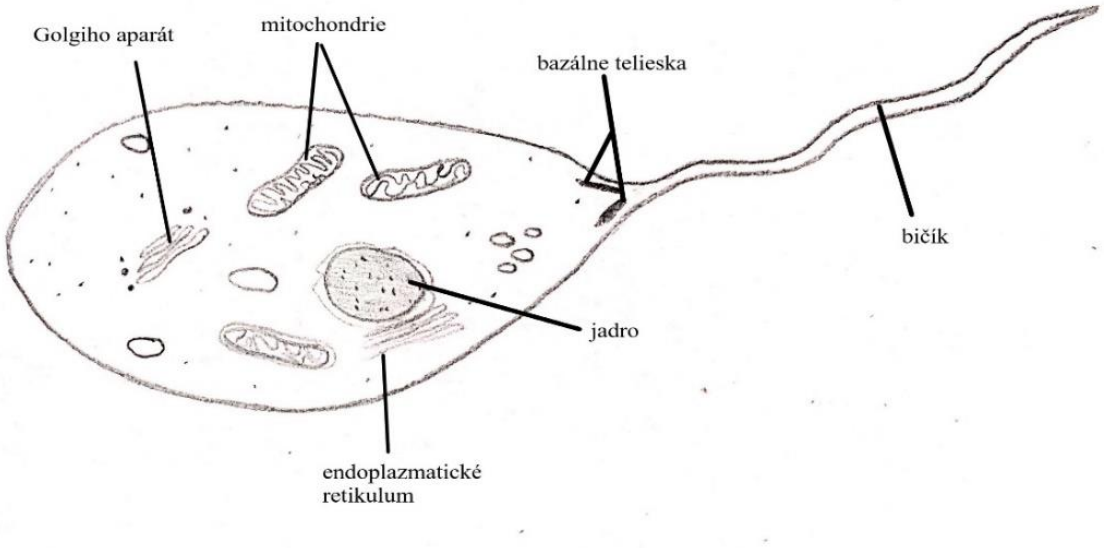
24 OPISTHOKONTA

Dominika Ihradská, Matej Vesteg

Do skupiny **Opisthokonta** patria **živočíchy (Animalia, Metazoa)**, **huby (Fungi) a eukaryoty**, ktoré sú **príbuzné týmto dvom skupinám** (Baldauf a Palmer, 1993). Zoskupenie týchto organizmov je podporené spoločnými morfologickými, ale najmä molekulovými znakmi a fylogenetickými analýzami (Katz, 2012). **Spoločný predchodca** skupiny **Opisthokonta** bol pravdepodobne (minimálne v určitom štádiu svojho životného cyklu) **eukaryotický jednobunkovec s dvomi bazálnymi telieskami a jedným nahým zadným (posteriorným**, resp. **opisthokontným) bičíkom** (obr. 24.1). Svojou morfológiou pravdepodobne pripomínal spermiu živočíchov. Živočíchy majú dodnes bičík zachovaný okrem spermií aj u choanocytov hubiek (Porifera), plamienkových buniek protonefrídií (vylučovacích orgánov) ploskavcov a riasinkového epitelu. V prípade húb sa s bičíkom stretávame len u zoospór najbazálnejších línií, ktoré boli ešte donedávna všetky radené do taxónu Chytridiomycota. Keďže u viacerých bazálnych línií Opisthokonta sa vyskytujú amébovité štádiá, pravdepodobne bol spoločný predchodca Opisthokonta schopný prechádzať z bičíkatého do amébovitého štádia, resp. do štádia amébobičíkovca. Živil sa fagotrofne.

Pre mnohých zástupcov Opisthokonta sú charakteristické: syntéza chitínu (napr. bunková stena húb a exoskelety článkonožcov), zásobný polysacharid glykogén a ploché mitochondriové kristy. Jedným z univerzálnych molekulových znakov Opisthokonta je napr. unikátna inzercia v subjednotke translačného elongačného faktoru EF-1α dlhá okolo dvanásť aminokyselín (Baldauf a Palmer, 1993).

Skupina **Opisthokonta sa rozdeľuje na Holozoa a Holomycota** (Holofungi, resp. Nucletmycea). Medzi **Holozoa** patria **živočíchy a im príbuzné organizmy** a medzi **Holomycota huby a im príbuzné organizmy**.



Obr. 24.1. Spoločný predchodca skupiny Opisthokonta

24.1 Holozoa

Do tejto skupiny patria taxóny **Ichthyosporea, Pluriformea Filasterea, Choanomonada (Choanoflagellatea) a Metazoa** (živočíchy). Skupiny Ichthyosporea, Pluriformea a Filasterea sú pravdepodobne bazálnymi skupinami v rámci Holozoa, pričom monofyletická vetva predstavovaná zoskupením Choanomonada a Metazoa je pravdepodobne evolučne najmladšou líniou v rámci Holozoa (Paps a kol., 2013; Cavalier-Smith a kol., 2014). Všetky Holozoa bez Metazoa (jednobunkové Holozoa) sa ešte donedávna zvykli označovať aj ako Choanozoa, tento taxón je však parafyletický.

24.1.1 Ichthyosporea

Ichthyosporea (Mesomycetozoea) sú morské alebo sladkovodné **jednobunkové améby alebo bičíkovce s jedným bičíkom**. Sú to prevažne **parazity živočíchov,** najmä rýb (napr. rod *Dermocystidium*) a článkonožcov, len niektoré sú voľne žijúce alebo saprofytické. Ich bunková stena obsahuje chitín. Sú pravdepodobne najbazálnejšou líniou Holozoa.

24.1.2 Pluriformea

Do skupiny **Pluriformea** patria len dva rody – ***Corallochytrium*** a len nedávno objavený rod ***Syssomonas***. Táto skupina je pravdepodobne tiež jednou z bazálnych línií Holozoa (Hehenberger a kol., 2017). V systéme podľa Adl a kol. (2019) sú však tieto dva rody uvedené ako samostatné skupiny nejasného taxonomického postavenia, pretože fylogenetická štúdia Toruella a kol. (2015) naznačovala, že Ichthyosporea a rod *Corallochytrium* tvoria monofyletickú skupinou Teretosporea. V tejto fylogenetickej analýze však ešte nebol zahrnutý novoobjavený rod *Syssomonas*.

Rod ***Corallochytrium*** je **voľne žijúci saprofytický morský jednobunkovec**, vyskytujúci sa **v koralových útesoch v Indickom oceáne**. Počas rozmnožovania dochádza k vzniku mnohých amébovitých buniek vo vnútri jednej oválnej bunky. Dcérske améby unikajú z materskej bunky cez otvory v chitinóznej bunkovej stene. Bičík bol pozorovaný zatiaľ iba počas kultivácie v laboratórnych podmienkach (Adl a kol., 2019).

Rod ***Syssomonas*** je **voľne žijúci sladkovodný eukaryovorný predátor**, ktorý počas životného cyklu **prechádza štádiami bičíkovca s jedným bičíkom, amébobičíkovca, améby, cysty a môže vytvárať aj zhluky buniek** (Hehenberger a kol., 2017).

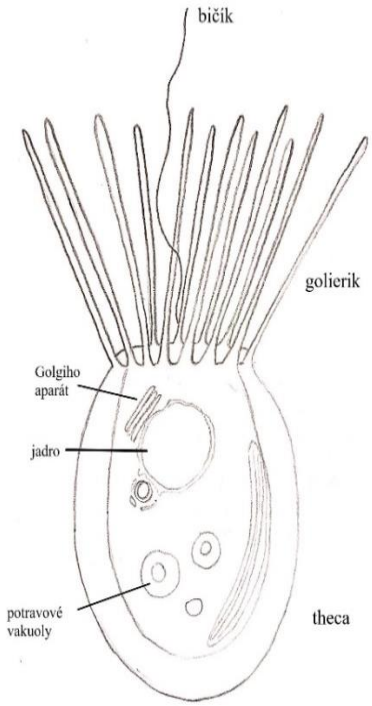
24.1.3 Filasterea

Do skupiny **Filasterea** patria len tri rody – ***Ministeria***, ***Capsaspora*** a len nedávno objavený rod ***Pigoraptor*** (Hehenberger a kol., 2017). ***Ministeria*** a ***Capsaspora*** sú vo vegetatívnych štádiách **jednojadrové jednobunkovce s tenkými vetvenými panôžkami** (filopódiami) **podporenými aktínovými mikrofilamentami** (Adl a kol., 2019). Panôžky sú **rozmiestnené radiálne** (bunka má tvar hviezdy). Rod *Ministeria* („malá morská hviezdička“) je morský a má veľkosť do 5 µm. Žije prisadnuto, k podkladu prisadá pomocou stopky (zrejme modifikovaný bičík). Druh *Capsaspora owczarzaki* bol izolovaný z hemolymfy sladkovodného slimáka *Biomphalaria glabrata*, ktorý je aj medzihostiteľom motolice *Schistosoma mansoni*. *Capsaspora* môže lyzovať a požierať fagocytózou obsah sporocýst (lariev) tejto motolice, ale môže sa živiť aj baktériami. Rod ***Pigoraptor*** je **sladkovodný**

eukaryovorný predátor s jedným bičíkom, ktorý môže podobne ako rod *Capsaspora* vytvárať aj zhluky buniek a cysty (Hehenberger a kol., 2017). Skupina Filasterea je pravdepodobne sesterskou skupinou zoskupenia Choanomonada a Metazoa.

24.1.4 Choanoflagellata

Choanoflagellata (Choanoflagellatea resp. **Choanomonada)** sú kozmopolitné morské aj sladkovodné **fagotrofné Protista s jedným opisthokontným bičíkom** a s rovnakou morfológiou bunky, ako majú choanocyty živočíchov zo skupiny hubiek (Porifera). **Prednú časť bunky** môže (ale aj nemusí) pokrývať organická schránka – **théka** (theca). Niektorí zástupcovia majú schránku tvorenú pásmi SiO_2 – tzv. loriku. **V zadnej časti bunky sa nachádzajú výbežky (mikrovilli)** vyplnené aktínom, **formujúce** tzv. **golierik (choanos)**. **Zo stredu golierika vychádza bičík** (obr. 24.2). Bunky **môžu plávať thékou orientovanou dopredu alebo byť thékou** (resp. jej výbežkom) **prisadnuté o substrát** a priháňať si potravu bičíkom. Okrem jednobunkových štádií môžu vytvárať aj **koloniálne štádiá – radiálne symetrické rozety alebo retiazky**. Typickými zástupcami sú napr. rody *Monosiga* a *Salpingoeca*. Choanomonada sú evolučne najbližšou skupinou živočíchov (Metazoa) (Adl a kol., 2012, 2019).



Obr. 24.2. Morfológia buniek zástupcov Choanoflagellata

24.1.5 Metazoa

Medzi **Metazoa (Animalia)** patria **živočíchy**. Sú predmetom štúdia **zoológie**. Sú to mnohobunkové organizmy, u ktorých sa vyskytujú medzibunkové spoje a medzibunková hmota, ktorá obyčajne obsahuje kolagén. Ich bunky nemajú bunkovú steny. Majú značne pozmenený mitochondriový genóm, ktorý je malý (~ 16 kb, 37 génov) a jeho genetický kód sa čiastočne odchyľuje od štandardného genetického kódu. Medzi najbazálnejšie skupiny

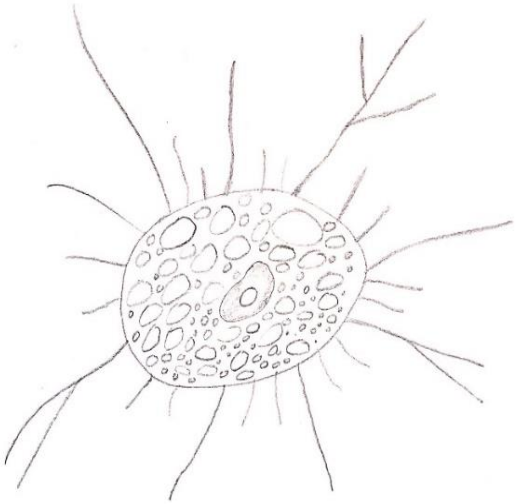
živočíchov patria Porifera (hubky), Ctenophora (rebrovky, resp. Acnidaria – nepŕhlivce), Cnidaria (pŕhlivce) a Placozoa (napr. rod *Trichoplax*).

24.2 Holomycota

Do tejto skupiny patria huby a im príbuzné organizmy. Systematika tejto skupiny nie je ustálená a podlieha neustálym revíziám. Najbazálnejšou líniou Holomycota je **Cristidiscoidea (Nucleariae)**, kam patria napr. rody *Nuclearia* a *Fonticula*. Ďalšími dobre popísanými líniami v rámci Holomycota sú **Cryptomycota (Rozellida)**, **Microsporidia**, **Aphelida (Aphelidea)** a **Fungi** (huby). Okrem týchto línií sú však známe z environmentálnych sekvencií aj ďalšie samostatné línie, ktoré nie sú zatiaľ morfologicky popísané. Ešte donedávna sa predpokladalo, že druhou najbazálnejšou skupinou Holomycota je **zoskupenie Cryptomycota, Microsporidia a Aphelida**, ktoré bolo (je) označované ako **Opisthosporidia** (Karpov a kol., 2014; Adl a kol., 2019). Novšie fylogenetické analýzy však naznačujú, že Aphelida sú bližšie príbuzné Fungi, pričom Microsporidia sú bližšie príbuzné Cryptomycota (Bass a kol., 2018).

24.2.1 Cristidiscoidea

Synonymnými názvami tejto skupiny sú Rotosphaerida, Nucleariae alebo Cristidiscodida. Sú to ploché alebo oválne fagotrofné améby, ktoré majú ploché diskoidné mitochondriové kristy. Majú jedno, prípadne viac jadier. Najznámejšími rodmi sú *Nuclearia* a *Fonticula*. Zástupcovia rodu ***Nuclearia*** sú **jednobunkové fagotrofné amébovité jednobunkovce s lúčovitými (radiálnymi) filopódiami** (tenké vetvené panôžky) (obr. 24.3). Zástupcovia rodu ***Fonticula*** sú **amébovité organizmy s agregátnou mnohobunkovosťou**. Pôvodne boli radené medzi Acrasida (Excavata), keďže vytvárajú podobné rozmnožovacie mnohobunkové útvary so stopkou. Jednobunkové štádium je améba podobná zástupcom rodu *Nuclearia*. Formovanie mnohobunkového štádia prebieha prostredníctvom agregácie (zhlukovania) améb (Brown a kol., 2009; Adl a kol., 2012, 2019).



Obr. 24.3. **Nuclearia *sp.***

24.2.2 Cryptomycota

Cryptomycota (synonymum Rosellida) sú drobné **jednobunkové** organizmy (3-5 µm) s bičíkatými štádiami **s jedným opisthokontným bičíkom**, ktoré pravdepodobne nemajú chitinóznu bunkovú stenu. Sú to prevažne **intracelulárne parazity húb**. Vyskytujú sa vo vodnom prostredí, prípadne v pôde a prisadajú na hostiteľské bunky. V hostiteľských bunkách môžu vytvárajú odpočinkové cysty s chitínovou bunkovou stenou alebo zoosporangiá naplnené bičíkatými zoospórami, ktoré sa uvoľnia do prostredia. Patrí sem mnoho línií, ktoré však nie sú dobre morfologicky popísané (Adl a kol., 2012, 2019). Príkladom zástupcu je *Rosella allomycis*, ktorá parazituje na rode *Allomyces* zo skupiny Blastocladiales (pôvodne radenej medzi Chytridiomycota).

24.2.3 Microsporidia

Do tejto skupiny patrí asi 1200 **výhradne vnútrobunkových parazitov** (prevažne živočíchov) **bez bičíkatých štádií**. Bunky obsahujú **mitozóm**, teda **anaeróbnu redukovanú mitochondriu bez genómu**. Ich **spóry** majú **dvojvrstvovú bunkovú stenu**, pričom **vnútorná vrstva obsahuje chitín** a vonkajšia je proteínová. **Spóra obsahuje duté polárne vlákno**, pomocou ktorého **vstrekne svoju cytoplazmu do hostiteľskej bunky** (Adl a kol., 2012, 2019). Microsporidia obsahujú **pomerne malý genóm** (2.5-50 Mb, len zriedkavo viac) (Corradi, 2015). Genóm niektorých zástupcov je teda menší než genómy niektorých baktérií (Corradi a Selman, 2013). Veľkosť týchto parazitov je od 1 µm. Ich najbližšími príbuznými sú pravdepodobne Cryptomycota (Bass a kol., 2018). Medzi parazity človeka patrí napr. rod *Encephalitozoon* a medzi parazity hmyzu napr. rod *Nosema*.

24.2.4 Aphelida

Aphelida sú **jednobunkové fagotrofné intracelulárne parazity rias**. Životný cyklus začína prisadnutím jednojadrovej zoospóry s jedným bičíkom alebo améby (v závislosti od druhu) na hostiteľskú riasu a vytvorí tzv. epibiotickú cystu. Po určitom čase prenikne protoplazma z cysty do hostiteľskej bunky, vytvorí sa amébovitá bunka s veľkou centrálnou potravovou vakuolou, ktorá fagocytózou pohlcuje cytoplazmu hostiteľskej bunky. Vytvorí sa mnohojadrové plazmódium. V tomto štádiu sa môže vytvoriť odolná cysta alebo sa plazmódium rozdelí na viacero jednojadrových bičíkatých zoospór, resp. améb, ktoré môžu napádať ďalšie riasy. Patria sem napr. rody *Aphelidium*, *Amoeboaphelidium* a *Pseudaphelidium* (Karpov a kol., 2014). Zástupcovia Aphelida sú pravdepodobne najbližší príbuzní húb (Fungi) (Tedersoo a kol., 2018). Ich životný cyklus pripomína životný cyklus mnohých intracelulárnych zástupcov chytridiomycét.

24.2.5 Fungi

Fungi (huby) sú **predmetom štúdia** biologického vedného odboru nazývaného **mykológia**. Sú to osmotrofné (resp. saprotrofné), prevažne mnohobunkové organizmy s plochými mitochondriovými kristami a väčšinou aj s chitínovou bunkovou stenou. Mnohobunkové štádiá obyčajne vytvárajú hýfy. Z húb je známych asi 100 000 druhov, ale odhaduje sa, že skutočný počet presahuje 5 miliónov. Tradične sa rozdeľovali na Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota a Basidiomycota, súčasný systém je však

podstatne komplikovanejší (viď Adl a kol., 2012, 2019; Tedersoo a kol., 2018). Pôvodné taxóny Chytridiomycota a Zygomycota sa rozpadli na viacero samostatných skupín a Ascomycota a Basidiomycota sú si natoľko príbuzné, že ich možno zaradiť do spoločného taxónu Dikarya. Bičíkaté štádiá sa vyskytujú len u húb z najbazálnejších línií, ktoré boli pôvodne všetky radené medzi Chytridiomycota. Mikroskopický modelový jednobunkový mikroorganizmus kvasinka pivná (*Saccharomyces cerevisiae*) patrí medzi Ascomycota.

Literatúra

ADL, S. M. a kol. 2012. The revised classification of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 59, 429-493.

ADL, S. M. a kol. 2019. Revisions to the classification, nomenclature and diversity of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 66, 4-119.

BASS, D. a kol. 2018. Clarifying the relationships between Microsporidia and Cryptomycota. J Eukaryot Microbiol 65, 773-782.

BALDAUF, S. L. – PALMER, J. D. 1993. Animals and fungi are each other's closest relatives: congruent evidence from multiple proteins. Proc Natl Acad Sci USA 90, 11558-11562.

BROWN, M. V. – SPIEGEL, F. W. – SILBERMAN, J. D. 2009. Phylogeny of the „forgotten" cellular slime mold, *Fonticula alba*, reveals a key evolutionary branch within Opisthokonta. Mol Biol Evol 26, 2699-2709.

CAVALIER-SMITH, T. a kol. 2014. Multigene eukaryote phylogeny reveals the likely protozoan ancestors of opisthokonts (animals, fungi, choanozoans) and Amoebozoa. Mol Phylogenet Evol 81, 71-85.

CORRADI, N. 2015. Microsporidia: Eukaryotic intracellular parasites shaped by gene loss and horizontal gene transfers. Ann Rev Microbiol 69, 167-183.

CORRADI, N. – SELMAN, M. 2013. Latest progres in microsporadian genome research. J Eukyot Microbiol 60, 309-312.

HEHENBERGER, E. a kol. 2017. Novel predators reshape holozoan phylogeny and reveal the presence of a two-component signaling system in the ancestor of animals. Curr Biol 27, 2043–2050.

KARPOV, S. A. a kol. 2014. Morphology, phylogeny,and ecology of the aphelids (Aphelidea, Opisthokonta) and proposal for the new superphylum Opisthosporidia. Front Microbiol 5, 112.

KATZ, L.A. 2012. Origin and diversification of eukaryotes. Annu Rev Microbiol 66, 411-427.

PAPS, J. a kol. 2013. Molecular phylogeny of unikonts: New insights into the position of apusomonads and ancyromonads and the internal relationships of opisthokonts. Protist 164, 2-12.

TEDERSOO, L. a kol. 2018. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. Fungal Diversity 90, 135-159.

TORUELLA, G. a kol. 2015. Phylogenomics reveals convergent evolution of lifestyles in close relatives of animals and fungi. Curr Biol 25, 2404-2410.

25 ARCHAEPLASTIDA

Karin Zajacová, Matej Vesteg

Superskupina Archaeplastida niekedy nazývaná aj Plantae je jednou z piatich hlavných skupín organizmov patriacich do domény Eukarya. Vznikla približne pred 1.2-2 miliardami rokov. Ich **spoločný predchodca** bol s najväčšou pravdepodobnosťou **dvojbičíkatý (bikontný)** jednobunkový eukaryot **s celulózovou bunkovú stenou**, ktorá je zachovaná aj u väčšiny recentných zástupcov. Už názov tejto skupiny poukazuje na najvýznamnejší spoločný znak. Termín **Archaeplastida** znamená, že ide o **organizmy so „starobylými plastidmi“**, čiže pravdepodobne vôbec o prvú líniu eukaryotov, ktoré mali plastidy.

Zástupcovia tejto skupiny naozaj majú tzv. **primárne plastidy** (primárne chloroplasty), ktoré **vznikli primárnou endosymbiózou zo siníc** a **sú obalené dvomi membránami**. **Primárne plastidy obsahujú** aj **plastidový (pôvodne sinicový) genóm a ribozómy prokaryotického typu**. Plastidy môžu mať rôzny tvar napr. sieťované, osové, hviezdicovité a iné. Plastidy obsahujú farbivá, najmä **chlorofyl *a***, ktoré im umožňujú **fotosyntetizovať** (Reyes-Prieto a kol., 2007; Price a kol., 2012).

Do skupiny Archaeplastida zaraďujeme tri veľké skupiny resp. „oddelenia“ fotosyntetických organizmov: **Glaucophyta (glaukofyty), Rhodophyta (červené riasy) a Chloroplastida (zelené riasy a suchozemské rastliny)** (Adl a kol., 2005). Aj keď má skupina Archaeplastida obrovské zastúpenie fotosyntetických organizmov, čo do počtu známych druhov, ani zďaleka sem nepatria všetky fotosyntetické organizmy. Ďalšími významnými fototrofmi sú zástupcovia prokaryotickej skupiny Cyanobacteria – sinice (viď kapitola 19) alebo eukaryoty s tzv. sekundárnymi plastidmi, ktoré vznikli endosymbiózou z červených alebo zelených rias (viď kapitola 22). **Všetky fotosyntetické organizmy s výnimkou suchozemských rastlín sú predmetom štúdia biologického vedného odboru** nazývaného **algológia**.

25.1 Úvod do algológie

V tejto podkapitole sú stručne vysvetlené základné pojmy a princípy taxonómie využívané nielen v rámci skupiny Archaeplastida, ale v algológii vo všeobecnosti.

25.1.1 Typy stielok rias

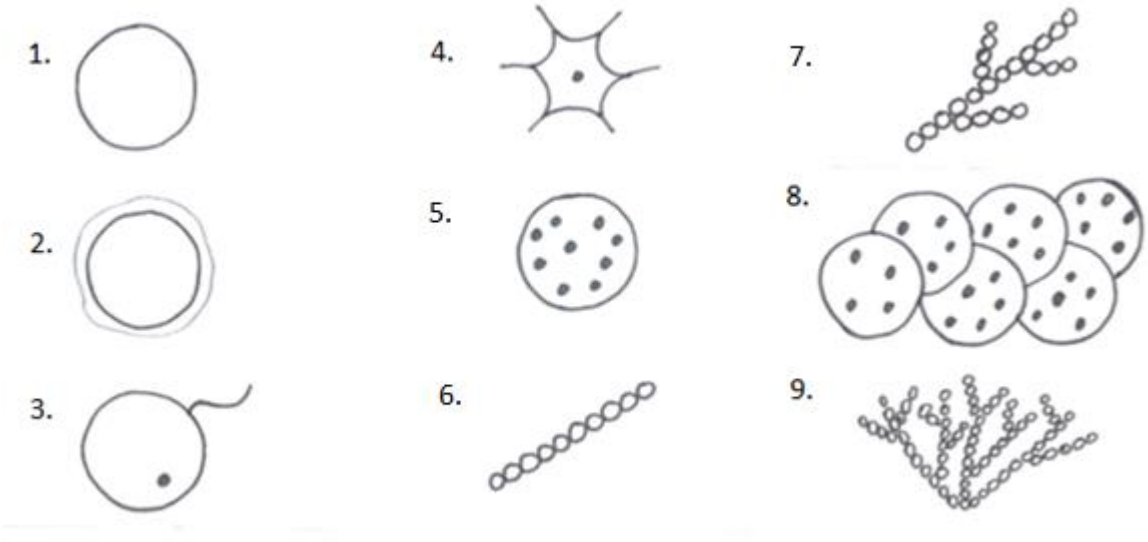
Pod pojmom **stielka** rozumieme **telo riasy**. Typy stielok rias rozdeľujeme na (Kalina, 2001) (obr. 25.1):

a) Jednobunkové (obr. 25.1, 1-5):

1. **Kokálne** (bunkové) – jednobunkové bez bičíkov a panôžok a bez slizového obalu.
2. **Kapsálne** (slizové) – jednobunkové bez bičíkov a panôžok so slizovým obalom.
3. **Monadoidné** (bičíkaté) – jednobunkové s bičíkmi.
4. **Rizopodové** (meňavkovité, amébovité) – jednobunkové s panôžkami.
5. **Sifonálne** (rúrkovité) – mnohojadrové jednobunkové.

b) Mnohobunkové (obr. 25.1, 6-9):

6. **Trichálne** (vláknité) – mnohobunkové vláknité jednoosové.
7. **Heterotrichálne** – odvodené od trichálnych, mnohobunkové vláknité vetvené (hlavné vlákno a bočné vlákna).
8. **Sifonokladálne** – mnohojadrové mnohobunkové.
9. **Pletivové** – odvodené od jednoduchého alebo heterotrichálneho vlákna, ale delia sa vo viacerých rovinách, diferenciácia na pletivá.



Obr. 25.1. Typy stielok rias

25.1.2 Spôsoby rozmnožovania rias

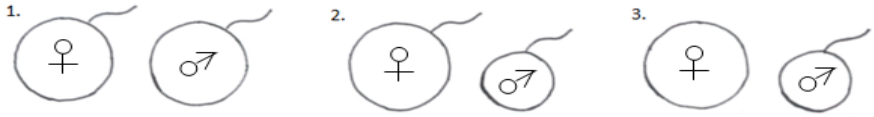
Riasy sa môžu rozmnožovať pohlavne aj nepohlavne.

Nepohlavne:

1. **Mitózou** (jednobunkové)
2. **Spórami** (napr. tzv. bičíkaté zoospóry)
3. **Fragmentáciou** (z úlomkov stielok)

Pohlavne (obr. 25.2):

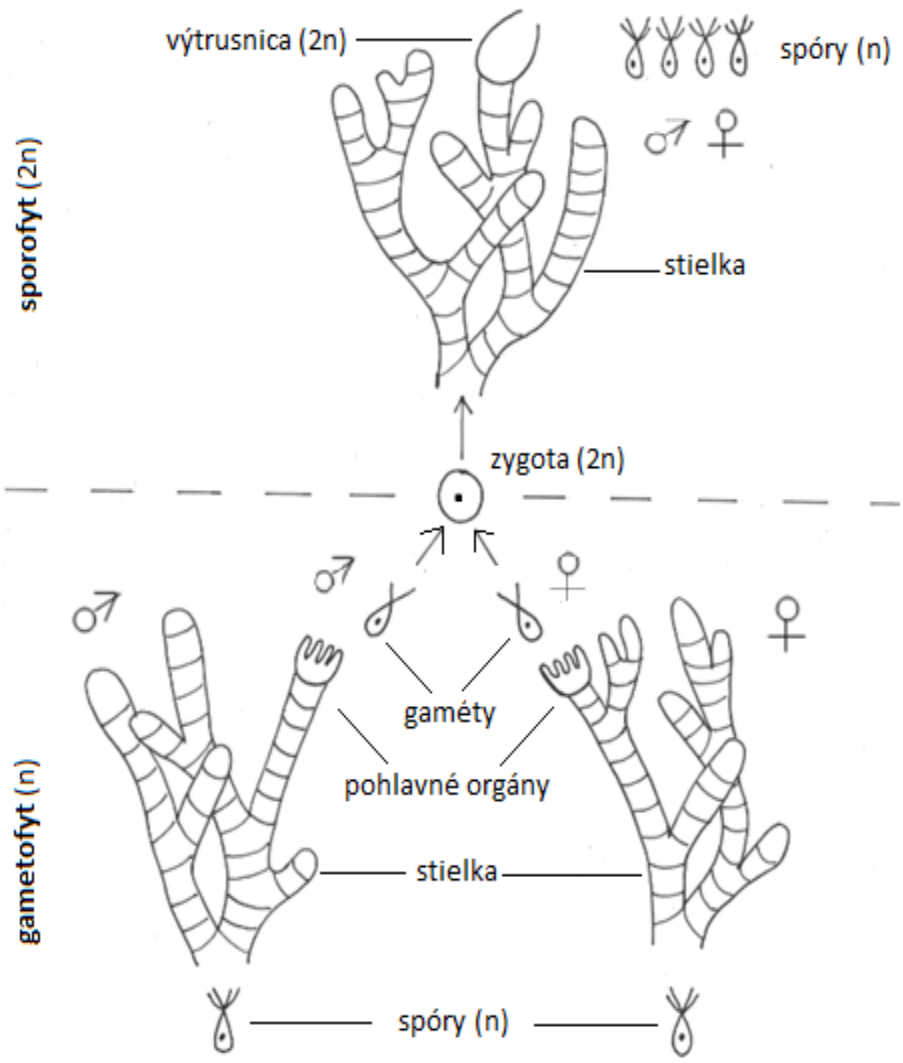
1. **Izogamiou** – splynutie bičíkatých gamét, ktoré sú si podobné tvarom i veľkosťou.
2. **Anizogamiou** – splynutie bičíkatých gamét, ktoré sú odlišné veľkosťou.
3. **Oogamiou** – splynutie bičíkatej samčej (spermia) a bezbičíkatej nepohyblivej samičej gaméty (vajíčko).



Obr. 25.2. Typy pohlavného rozmnožovania rias

Veľké množstvo druhov rias, ale aj suchozemských rastlín podlieha **metagenéze (rodozmene)**, teda **striedaniu haploidnej (n) pohlavnej (gametofyt) a diploidnej (2n) nepohlavnej (sporofyt) generácie** (obr. 25.3). Rodozmena môže byť izomorfná (ak sa sporofyt a gametofyt morfologicky neodlišujú), ale častejšie je heteromorfná (sporofyt a gametofyt vyzerajú inak).

1. **Gametofyt** – **pohlavná generácia, haploidná (n), mitózou produkuje gaméty**. Vzniká z haploidných spór produkovaných sporofytom. Môže byť **jednodomý** (ak produkuje samčie aj samičie gaméty) alebo **dvojdomý** (ak produkuje len gaméty jedného pohlavia). V niektorých prípadoch môže produkovať mitózou haploidné spóry, z ktorých vyrastie opäť gametofyt.
2. **Sporofyt** – **nepohlavná generácia, diploidná (2n), meiózou (redukčným delením) produkuje haploidné spóry (n)**, z ktorých vyrastie gametofyt. Sporofyt vzniká z diploidnej zygoty (2n), ktorá vznikla splynutím haploidných gamét (izogamiou, anizogamiou alebo oogamiou).



Obr. 25.3. Rodozmena rias

25.1.3 Taxonomické kategórie a ich koncovky v algológii

Taxonomické koncovky tradične využívané v systematike fototrofných organizmov (siníc, rias a suchozemských rastlín) sú uvedené v Tabuľke 25.1. V systematike živočíchov, húb a mikróbov sa používajú odlišné koncovky. V súčasnosti sa však v biológií používa skôr **kladistický systém**, ktorý **upúšťa od klasifikácie organizmov do tradičných taxonomických kategórií ako oddelenia, triedy a rady**. V kladistickom systéme je rozhodujúce len poradie rozvetvovania jednotlivých línií bez nutnosti použitia tradičných taxonomických jednotiek. **Rozlišujú sa len nadradené a im podradené taxóny**. Na taxonomické koncovky už sa v súčasnej modernej systematike dôraz nekladie**.** Napriek tomu sa z tradičných historických dôvodov v mnohých učebniciach algológie a botaniky ešte stále využívajú taxonomické kategórie a koncovky uvedené v Tabuľke 25.1.

Tabuľka 25.1. Taxonomické kategórie a ich koncovky v algológií

Taxonomická jednotka	Koncovka	Príklad
oddelenie (divisio)	**- phyta**	Rhodophyta
pododdelenie (subdivisio)	**- phytina**	Rhodophytina
trieda (classis)	**- phyceae**	Florideophyceae
podtrieda (subclassis)	**- phycidae**	Corallinophycidae
rad (ordo)	**- ales**	Corallinales
podrad (subordo)	**- ineae**	Corallinineae
čeľaď (familia)	**- aceae**	Corallinaceae
podčeľaď (subfamilia)	**- oideae**	Corallinoideae
rod (genus)		*Corallina*
druh (species)		*Corallina officinalis*

25.2 Prehľad systému skupiny Archaeplastida

V tejto podkapitole je uvedený súčasný systém skupiny Archaeplastida upravený podľa Adl a kol. (2019). Tento systém je príkladom moderného systému, v ktorom nie sú dôležité tradičné taxonomické kategórie a ich koncovky, ale dôraz sa kladie len na nadradené a podradené taxóny. Takýto systém sa vytvára na základe fylogenetických analýz a odráža mieru príbuznosti jednotlivých taxónov, ktorá veľmi často nekoreluje s tradične využívanými systematickými kategóriami. Nadradenosť taxónov v nižšie uvedenom systéme klesá (resp.

podradenosť taxónov stúpa v poradí: 1. čierny plný krúžok (●), 2. svetlý prázdny krúžok (○), 3. Tmavý štvorček (▪), 4. pomlčka (–). Uvedené sú aj rody (kurzívou), do ktorých patria niektorí z najznámejších zástupcov jednotlivých skupín. V tomto systéme však môžu mať niekedy napr. aj niektoré rody (napr. rod *Nephroselmis*) rovnakú taxonomickú váhu ako trieda alebo rad.

- **Glaucophyta** (synonymum Glaucocystophyta, glaukofyty)
  Cyanophora, Glaucocystis

- **Rhodophyceae** (synonymá Rhodophyta a Rhodoplantae, červené riasy)
  - Cyanidiales (synonymá Cyanidiophyta, Cyanidiophytina)
    Cyanidioschyzon, Cyanidium, Galdieria
  - Proteorhodophytina
    - Rhodellophyceae (synonymum Rhodellophytina)
      Glaucosphaera, Rhodella
    - Stylonematales (synonymum Stylonematophyceae)
      Chroodactylon, Chroothece, Purpureofilum, Stylonema
    - Porphyridiophyceae
      Porphyridium
    - Compsopogonales (synonymum Compsopogonophyceae)
      Compsopogon
  - Eurhodophytina
    - Bangiales
      Bangia, Porphyra
    - Florideophycidae
      - Hildenbrandiaceae
        Hildenbrandia
      - Corallinophycidae
        Corallina
      - Nemaliophycidae
        Nemalion, Palmaria, Batrachospermum
      - Ahnfeltiophycidae
        Ahnfeltia
      - Rhodymeniophycidae
        Ceramium, Gelidium, Gigartina, Gracilaria, Plocamium, Rhodymenia

- **Chloroplastida** (synonymum Viridiplantae, zelené riasy)
  - Chlorophyta
    - Pyramimonadales
      Pyramimonas
    - Mamiellophyceae
      Mamiella
    - *Nephroselmis*
    - Pedinophyceae
      Pedinomonas
    - Chlorodendrophyceae
      Tetraselmis

- Chloropicophyceae
  Chloropicon
- Picocystophyceae
  Picocystis
- Pycnococcaceae
  Pycnococcus
- Chlorophyceae
  Chlamydomonas, Volvox, Scenedesmus, Desmodesmus, Pediastrum
- Trebouxiophyceae
  Trebouxia, Chlorella, Prasiola
- Ulvophyceae
  Ulva, Cladophora, Acetabularia, Codium
- Palmophyllales
  Palmophyllum

- Charophyta (synonymum Streptophyta)
  - *Mesostigma*
  - *Chlorokybus*
  - Klebsormidiophyceae
    Klebsormidium
  - Phragmoplastophyta
    - Zygnematophyceae
      Spirogyra, Zygnema, Closterium, Euastrum, Cosmarium
    - Coleochaetophyceae
      Coleochaete
    - Charophyceae
      Chara, Nitella, Tolypella
    - Embryophyta (suchozemské rastliny)

25.2.1 Glaucophyta

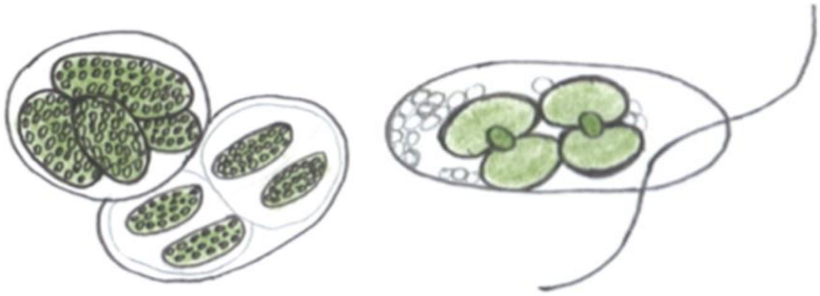
Glaucophyta (synonymá Glaucophyceae, Glaucocystophyta) (Kies a Kremer, 1986; Kies, 1992) predstavujú jednu z najstarších skupín fototrofných eukaryotov (Martin a kol., 1998; Reyes-Prieto a Bhattacharya, 2007; Price a kol., 2012, 2017). Ak zanedbáme všetky línie Archaeplastida, ktoré vymreli a neprežili do súčasnosti, možno povedať, že Glaucophyta sa pravdepodobne oddelili od línie spoločného predka Archaeplastida ako prvé a ostatné Archaeplastida sa potom rozdelili na dve línie – na červené a zelené riasy.

Glaucophyta môžu byť **monadoidné** (bičíkaté) i **kokálne** (bezbičíkaté) **jednobunkovce**. Majú **primárne plastidy**, ktoré vznikli endosymbiózou z **cyanobaktérií**. Tieto **plastidy** sa označujú ako **cyanely** (Pasher, 1929) alebo ako **muroplasty** (Schenk, 1994). **Plastidy** sú **štruktúrne podobné voľne žijúcim siniciam**, pretože tiež **obsahujú dve membrány a medzi nimi aj peptidoglykánovú (mureínovú) bunkovú stenu**. **Tylakoidy** v plastidoch sú **usporiadané koncentricky**, tak ako u sinice rodu *Synechococcus* sp. Navyše **chloroplasty** Glaucophyta majú tiež **modrozelené** sfarbenie, ktoré spôsobuje kombinácia farbív **chlorofylu *a*** a **fykobilínov** (fykocyanín a fykoerytrín) uložených vo fikobilizómoch, vďaka ktorým môžu fotosyntetizovať. V chloroplastoch sa podobne ako v cytoplazme siníc nachádza tzv. karboxyzóm obsahujúci enzým RuBisCo slúžiaci na fixáciu CO_2.

Do skupiny Glaucophyta zaraďujeme len zopár zástupcov. Patria sem rody *Glaucocystis*, *Cyanophora*, *Gloeochaete* a *Cyanoptyche*. Mnohí odborníci sa však domnievajú, že viacerí zástupcovia tejto skupiny zatiaľ neboli objavení. Všetci doteraz známi

zástupcovia sú **sladkovodní**. Môžu byť súčasťou planktónu alebo bentosu jazier a rybníkov. Nájdeme ich však najmä v rašeliniskách a vrchoviskách. Vo všeobecnosti je však ich výskyt pomerne zriedkavý. Praktické využitie majú pri skúmaní antibiotík (Berenguer a kol., 1987). Pohlavné rozmnožovanie nie je známe.

Glaucocystis sp. (obr. 22.4) je **kokálna riasa** s oválnymi bunkami, ktoré obsahujú dva alebo viac muroplastov. Rozmnožuje sa nepohlavne pomocou autospór (Price a kol., 2017). *Cyanophora* sp. (obr. 22.5) je **monádoidná riasy s dvomi bičíkmi**. Bunky obsahujú obyčajne **dva muroplasty**. Rozmnožuje sa vegetatívnym delením, pričom delenie cyanel predchádza deleniu bunky. *Cyanophora paradoxa* slúži už 30 rokov ako modelový organizmus (Kies a Kremer, 1986, 1990) najmä pre štúdium endosymbiózy a evolúcie eukaryotickej bunky. Je jediným druhom spomedzi Glaucophyta, ktorý má osekvenovaný genóm. Jeho veľkosť je približne 70 Mb (Price a kol., 2012).



Obr. 25.4.* Glaucocystis *sp. ***Obr. 25.5.* Cyanophora *sp.***

25.2.2 Rhodophyta

Skupina **Rhodophyta** (synonymá **Rhodoplantae** resp. **Rhodophyceae**) je ďalšou vývinovou vetvou superskupiny Archaeplastida. Patria sem tzv. **červené riasy**. Skupina je relatívne dobre zastúpená vo fosílnom zázname, pričom jej pôvod datujeme až do obdobia približne 1.05 miliardy rokov PNL (Gibson a kol., 2017). Červené riasy sú veľmi významné z hľadiska vzniku nových fotosyntetických línií eukaryotov, pretože z nich vznikli sekundárnou endosymbiózou plastidy ďalších skupín ako napr. Stramenopiles, Cryptophyta, Dinoflagellata a Haptophyta (viď kapitola 22).

Do tejto skupiny zaraďujeme približne 7100 druhov. Aj keď sa táto skupina pýši pomerne veľkou druhovou rozmanitosťou, nemôžeme to isté povedať o jej genóme, pretože v porovnaní s ostatnými voľne žijúcimi eukaryotmi majú všetci zástupcovia Rhodoplantae **relatívne malý genóm** s relatívne malým počtom génov (6000-10000 génov). Predpokladá sa, že k redukcii jadrového genómu došlo už spoločného predka červených rias, ktorý bol pravdepodobne extrémofilom obývajúcim horúce pramene v blízkosti sopiek podobne ako dnešní zástupcovia Cyanidales (synonymá Cyanidiophyta, Cyanidiophytina alebo Cyanidiophyceaea) – bazálna línia v rámci Rhodophyta. Ancestrálna redukcia genómu tak mohla byť adaptáciou na takéto prostredie (Yoon a kol., 2017). Evolučne mladšie línie už osídlili najmä morské prostredie, ale jadrový genóm už ostal redukovaný.

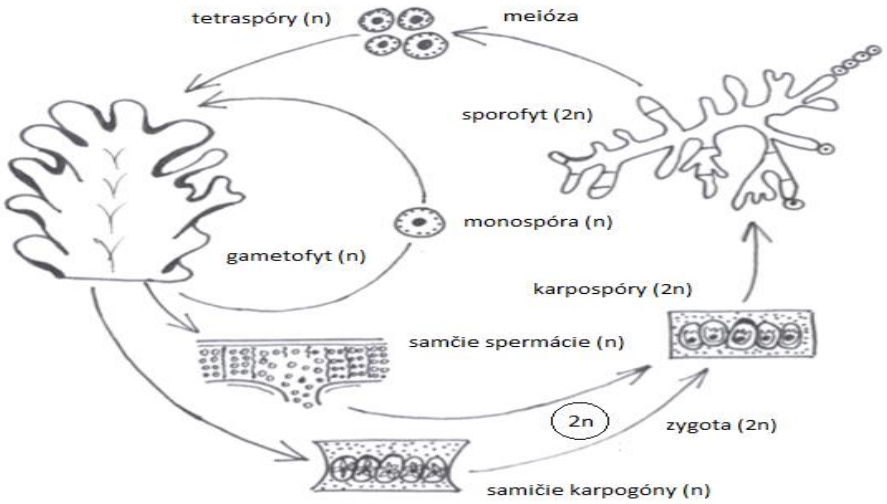
Plastidy červených rias, tzv. **rhodoplasty**, sú potomkami siníc, ktoré boli prijaté v procese primárnej endosymbiózy spoločným predchodcom Archaeplastida a sú teda obalené dvomi membránami. Rhodoplasty obsahujú **chlorofyl *a*** a ich **tylakoidy** sú **usporiadané jednotlivo**. Vytvárajú rovnobežné lamely. Medzi ich najvýznamnejšie farbivá uložené vo fykobilizómoch patrí **fykocyanín** a **fykoerytrín.** Ďalšími farbivami sú α- a β-karotén, luteín a

zeaxantín. Niektorí zástupcovia majú modrozelené, prípadne purpurové alebo aj hnedé sfarbenie, väčšina zástupcov Rhodophyta je však sfarbená skôr do červena. Zásobnou látkou je **florideový škrob** (α-1,4-glukán).

Patria sem **jednobunkové aj mnohobunkové** riasy, často makroskopické. Ich **stielky** môžu byť teda **kokálne, vláknité,** rozkonárené aj nerozkonárené alebo **pletivové** (napr. foliózne – listovité). Niektoré makroskopické druhy majú stielky kalcifikované $CaCO_3$. U zástupcov červených rias sa **nikdy nevyskytujú bičíkaté štádiá**. Mitóza je uzatvorená.

Zástupcovia sú prevažne **morskí**, nájdeme ich pri pobreží aj v hlbších vodách, skôr v trópoch a smerom k pólom ich počet klesá. Makroskopické druhy sú aj **súčasťou koralových ekosystémov** (napr. v Červenom mori). Tvoria tzv. „morské trávniky", čím poskytujú prostredie pre život ďalších morských organizmov. Nájdeme tu však aj niektoré sladkovodné (*Batrachospermum* spp.) a suchozemské druhy (Yoon a kol., 2017).

Rozmnožujú sa **nepohlavne (monospórami)** alebo **pohlavne oogamiou**. **Oogamia sa líši od klasickej tým, že ani menšia samčia bunka (spermácia) nemá bičík**. **Mnohobunkové červené riasy** môžu mať buď **dvojfázový** (zástupcovia skupiny Bangiales, napr. *Porphyra* spp.) alebo **trojfázový životný cyklus** (zástupcovia zo skupiny Florideophycidae). **Dvojfázový životný cyklus zahŕňa jednu nepohlavnú (diploidný sporofyt) a jednu pohlavnú generáciu (haploidný jednodomý gametofyt)** (Obr. 25.6). **Trojfázový životný cyklus zahŕňa jednu haploidnú (samčí a samičí gametofyt) a dve diploidné generácie (karposporofyt a tetrasporofyt)**. Stielky gametofytu a tetrasporofytu sa morfologicky odlišujú. Diploidný karposporofyt je vlastne len pletivo, ktoré vzniká na samičom gametofyte zo zygoty po oplodnení karpogónu (vajíčka) bezbičíkatou spermáciou (spermiou). Oplodnenie začína zachytením spermácie na trichogýne (výbežok karpogónu). Diploidný karposporofyt, ktorý vznikne po mitotickom delení zygoty, produkuje diploidné karpospóry, z ktorých vyrastie diploidný tetrasporofyt. Diploidný tetrasporofyt produkuje meiózou haploidné tetraspóry, z ktorých vyrastie samčí a samičí gametofyt. Tento cyklus však môže mať viacero modifikácií (Yoon a kol., 2017).



Obr. 25.6. Dvojfázový životný cyklus červených rias. *Haploidný gametofyt (n) môže produkovať haploidné monospóry (n), z ktorých vyrastie opäť haploidný gametofyt. Gametofyt je jednodomý, takže môže produkovať samčie nepohyblivé haploidné spermácie (n) aj samičie nepohyblivé karpogóny (n). Po oplodnení karpogónu spermáciou vzniká diploidná zygota (2n), z ktorej vznikajú diploidné karpospóry (2n). Z diploidných karpospór vyrastie diploidný sporofyt (2n), ktorý meiózou produkuje haploidné tetraspóry (n). Z haploidných tetraspór vyrastie opäť haploidný gametofyt (n).*

Viaceré makroskopické druhy patriace do tejto skupiny sú zdrojom ekonomicky významných produktov ako napr. **agar** a **karagén.** Agar aj karagén sú popri celulóze taktiež **zložkou bunkových stien** červených rias a majú využitie v potravinárstve. **Agar** sa využíva aj ako **živná pôda pre kultiváciu mikroorganizmov**. Jednou zo zložiek agaru je aj **agaróza**, ktorá sa využíva molekulovej biológii na **prípravu gélov pre elektroforézu nukleových kyselín**. V ázijských krajinách sú súčasťou tradičného **jedálnička**. Ich využitie je široké aj v medicíne napr. na výrobu liekov proti rakovine a antivírusových liekov. Často sa používajú aj v kozmetike alebo ako biomateriály.

Tradične sa Rhodophyta rozdeľovali na dve skupiny Bangiophycidae (resp. Bangiophyceae) a Florideophycidae (resp. Florideophyceae). Na základe fylogenetických analýz sa však v súčasnosti rozdeľujú až na sedem skupín: **Cyanidiales (Cyanidiophyceae, Cyanidiophyta), Rhodellophyceae, Stylonematales (Stylonematophyceae), Porphyridiophyceae, Compsopogonales (Compsopogonophyceae), Bangiales (Bangiophyceae) a Florideophycidae** (Adl a kol., 2012), pričom prvých šesť skupín sa podľa starého systému zaraďovalo do skupiny Bangiophycidae. Novšie fylogenetické štúdie však naznačujú, že Rhodophyta môžu byť rozdelené do dvoch monofyletických skupín – bazálne **Cyanidiophytina** (resp. Cyanidiales, Cyanidiophyceae, Cyanidiophyta) a **Rhodophytina** zahrňujúce zvyšných šesť skupín (Yoon a kol., 2017). Na základe fylogenetických analýz chloroplastových genómov možno zasa skupinu Rhodophytina rozdeliť na dva monofyletické taxóny – **Proteorhodophytina** (zahrňujúci Rhodellophyceae, Stylonematales, Porphyridiophyceae a Compsopogonales) a **Eurhodophytina** (zahrňujúci Bangiales a Florideophycidae) (Muños-Gómez a kol., 2017). Rozdelenie Rhodophyta na Cyanidiophytina a Rhodophytina a taxónu Rhodophytina na Proteorhodophytina a Eurhodophytina je príkladom moderného prirodzeného kladistického systému, ktorý je odrazom príbuzenských vzťahov medzi jednotlivými taxónmi červených rias.

25.2.2.1 Cyanidiophytina

Cyanidiales (Cyanidiophyceae, Cyanidiophytina, Cyanidiophyta) sú pomerne malé jednobunkové riasy (~ 5 μm), obyčajne modrozeleného sfarbenia, s tenkou alebo žiadnou bunkovou stenou. Zástupcovia sú obligátni autotrofi alebo fakultatívni heterotrofi. Žijú v horúcich prameňoch a pôde (napr. v blízkosti sopiek) pri nízkom pH. Patria sem napr. rody *Cyanidium, Galdieria* a *Cyanidioschyzon* (Adl a kol., 2012, 2019). Rod *Cyanidium* žije pri teplotách až do 57 °C. Zástupca *Cyanidioschyzon merolae* žije pri teplote okolo 45 °C a pH aj nižšom ako 2. Má len jedno jadro, jednu mitochondriu, jeden chloroplast a jeden peroxizóm. Jeho genóm je redukovaný len na 16.5 Mb. Redukovaný je aj spliceozóm (chýba napr. U1 snRNA a má len 43 proteínov, pričom kvasinka má okolo 90 a človek 140) a len 26 jadrových génov obsahuje intróny (Matsuzaki a kol., 2004).

25.2.2.2 Proteorhodophytina

Tento monofyletický taxón zahrňuje skupiny Rhodellophyceae, Stylonematales (Stylonematophyceae), Porphyridiophyceae a Compsopogonales (Compsopogonophyceae) (Muños-Gómez a kol., 2017; Adl a kol. 2019).

Rhodellophyceae sú jednobunkové prevažne morské červené riasy s laločnatým plastidom s centrickým pyrenoidom. Všetci zástupcovia obsahujú manitol. Patria sem napr.

rody *Glaucosphaera* a *Rhodella* (Adl. a kol., 2012). Zástupca *Corynoplastis japonica* má najväčší chloroplastový genóm spomedzi všetkých doposiaľ osekvenovaných chloroplastových genómov. Jeho veľkosť je 1.13 Mb (Muños-Gómez a kol., 2017). Je teda väčší ako genómy niektorých prokaryotov. Až 88% z neho však predstavuje nekódujúca DNA (Muños-Gómez a kol., 2017).

Stylonematales (Stylonematophyceae) sú skupinou morských, sladkovodných a terestrických červených rias. Môžu vytvárať nárasty na rastlinách a makroskopických riasach (tzv. epifyton). Stielka môže byť kokálna alebo vláknitá. Plastid môže mať pyrenoid alebo nemusí. Rozmnožujú sa delením alebo monospórami. Sfarbenie môže byť modrozelené až purpurové. Patria sem napr. rody *Bangiopsis, Chroodactylon, Chroothece, Purpureofilum* a *Stylonema* (Adl a kol., 2012, 2019).

Porphyridiophyceae sú kokálne morské, sladkovodné aj pôdne červené riasy a niektoré žijú epifyticky. Sfarbenie môže byť modrozelené alebo červené. Majú len jeden zosieťovaný alebo hviezdicovitý chloroplast s pyrenoidom alebo bez neho. Rozmnožujú sa delením (Adl a kol., 2012). V nepriaznivých podmienkach môžu bunky vytvárať zhluky – tzv. palmeloidné (odpočinkové) štádiá (Muños-Gómez a kol., 2017). Patria sem napr. rody *Porphyridium* a *Flintiella*.

Compsopogonales (Compsopogonophyceae) sú skupinou vláknitých rias s nerozvetvenými alebo rozvetvenými vláknami a s dvojfázovým životným cyklom (ak je známy) (Adl a kol., 2012, 2019). Patrí sem napr. rod *Compsopogon*, ktorí sa vyskytuje v sladkých vodách trópov a subtrópov. Často vytvára vláknité modrozelené nárasty na vodných rastlinách v akváriách.

25.2.2.3 Eurhodophytina

Tento monofyletický taxón zahrňuje skupiny Bangiales (Bangiophyceae) a Florideophycidae (Florideophyceae) (Muños-Gómez a kol., 2017, Adl. a kol. 2019).

25.2.2.3.1 Bangiales

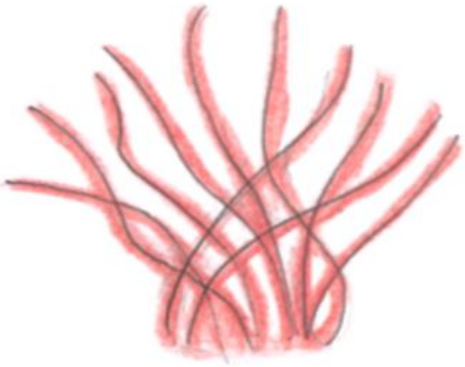
Do skupiny Bangiales (Bangiophyceae) zaraďujeme prevažne morské druhy červených rias s dvojfázovým životným cyklom. Gametofyt je makroskopický, počas vývinu spočiatku tvorený vláknom pozostávajúcim z jednej rady buniek, neskôr viacerými radmi buniek, až sa napokon stielka môže vyvinúť až na folióznu (pletivovú listovitú). Sporofyt je vláknitý. Patria sem napr. rody *Bangia*, *Minerva*, *Porphyra* a *Pyropia* (Adl a kol., 2012, 2019).

Do tejto skupiny patrí aj najstaršia známa fosília červených rias *Bangiomorpha pubescens*, ktorá je stará viac ako 1 miliardu rokov. Svojou morfológiou nápadne pripomína recentný rod *Bangia* (Gibson a kol., 2017).

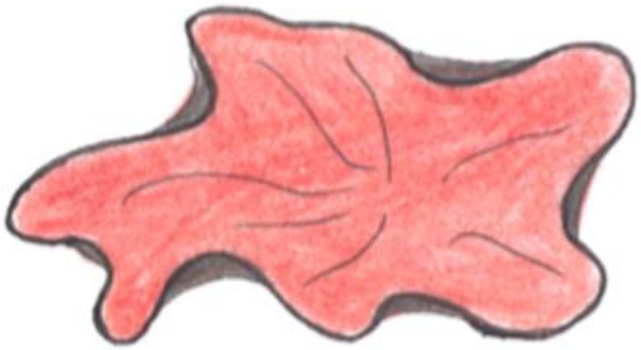
Do rodu ***Bangia*** patria najmä morskí zástupcovia. Stielka dominantného gametofytu (obr. 25.7) je tvorená viacerými nevetvenými vláknami tvorenými v dospelosti viacerými radmi buniek. Farba môže byť v závislosti od druhu zelená, purpurová až šedá, ale väčšina druhov je červená v dôsledku dominancie fykoerytrínu.

Rod ***Porphyra*** sa vyskytuje sa kozmopolitne v litoráli teplejších morí. **V dvojfázovom životnom cykle** tohto rodu **sa strieda makroskopický pletivový listovitý gametofyt** (obr. 25.8) **a vláknitý sporofyt** (obr. 25.6). **Sporofyt** bol kedysi popísaný ako samostatný rod ***Conchcelis*.** Neskôr sa zistilo, že je to len jedno štádium životného cyklu rodu *Porphyra*. Prevládajúci listovitý haploidný (n) gametofyt sa môže rozmnožovať nepohlavne haploidnými

monospórami, ktoré vznikajú v monosporangiách. Gametofyt však môže obsahovať aj samčie a samičie gametangiá (spermatogóniá a karpogóniá). Spermatogóniá produkujú nepohyblivé spermie (spermácie), ktoré sa zachytia na trichogýnoch (výrastkoch) karpogónov (samičie vajíčka) a následne ich oplodnia. Mitotickým delením vzniknutej diploidnej zygoty vznikajú v karposporangiách diploidné (2n) karpospóry. Následne vyrastá z diploidných karpospór vláknitý diploidný sporofyt (štádium „*Conchocelis*“). Po meiotickom delení sa na ňom vytvárajú haploidné tetraspóry (konchospóry). Z haploidných konchospór vzniká haploidný gametofyt (Kalina, 2001) (obr. 25.6). Sušené listovité stielky (gametofyt) rodu *Porphyra* (po japonsky – nori) sú významnou súčasťou východoázijskej kuchyne. Používajú sa na prípravu **suši**. Vo veľkom sa aj pestujú najmä na pobreží Číny, Kórey, Japonska a Filipín v otvorených alebo uzavretých morských kultivačných systémoch.



***Obr. 25.7. Gametofyt rodu* Bangia**



***Obr. 25.8. Gametofyt rodu* Porphyra**

25.2.2.3.2 Florideophycidae

Florideophycidae (Florideophyceae) sú najpočetnejšou skupina červených rias. Patrí sem až 95% doposiaľ popísaných zástupcov červených rias. Do tejto skupiny patria prevažne morské červené riasy s makroskopickým mnohobunkovým gametofytom. Životný cyklus je v zásade u väčšiny zástupcov, u ktorých bol študovaný, trojfázový. Strieda sa v ňom prevládajúce štádium haploidného gametofytu a diploidného karposporofytu a tetrasporofytu. Monosporangiá, spermatangia, karpogóniá, karposporangiá a tetrasporangiá sú väčšinou umiestnené na koncoch alebo z boku stielok príslušných vývinových štádií. Diploidný karposporofyt vyrastá priamo z karpogónia (resp. jeho derivátu) po oplodnení karpogónu spermáciou (Adl a kol., 2012, 2019).

Hildenbrandiaceae sú riasy s vláknitou stielka, ktorá má dve vrstvy. Spodnou prirastá k substrátu (obyčajne kamene) a druhú vrstvu predstavujú vertikálne vzpriamené vlákna zrastené do tzv. pseudoparenchýmu. Na rozdiel od väčšiny ostatných zástupcov Florideophycidae nie je stielka morfologicky diferencovaná a pohlavné rozmnožovanie nie je známe. Nepohlavne sa rozmnožujú monospórami alebo fragmentáciou stielok. Väčšina druhov je morských. Patria sem rody *Hildenbrandia* (obr. 25.9) a *Apopholoea* (Adl a kol., 2019).

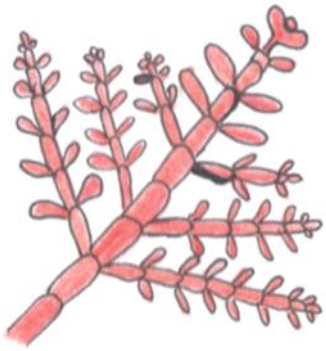
Corallinophycidae sú červené riasy typické svojimi makroskopickými kríčkovitými vetvenými, segmentovanými, zväčša dichotomicky sa rozkonárujúcimi stielkami. Stielky sú kalcifikované $CaCO_3$. Pohlavné rozmnožovacie útvary sa vytvárajú v koncových častiach stielok guľovitého tvaru – konceptákulách. Sú významnou súčasťou koralových útesov

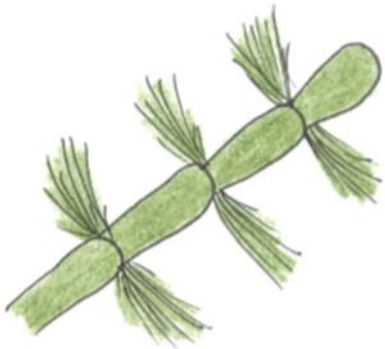
litorálu a sublitorálu tropických a subtropických morí (napr. Červené more a Stredozemné more). Patria sem napr. rody *Corallina* (obr. 25.10), *Jania* a *Haliptilon*.

Rhodymeniophycidae sú riasy s makroskopickými kríčkovitými stielkami, ktoré však obyčajne nie sú segmentované. Časté je dichotomické rozkonárovanie stielok ako napr. v prípade efemérneho rodu *Ceramium* s klieštikovitým zakončením vetví. Mnohé rody zo skupiny Rhodymeniophycidae majú značný ekonomický význam. Zo stielok rodov *Gelidium* a *Gracilaria* sa priemyselne extrahuje agar s využitím v mikrobiológii na prípravu kultivačných médií a v potravinárstve. Zo stielok rodu *Chondrus* a *Gigartina* sa extrahuje karagén s využitím v potravinárstve.

Ahnfeltiophycidae sú makroskopické riasy s terminálne ukotvenými karpogóniami. Karposporofyt sa vyvíja na ich povrchu. Patria sem napr. rody *Ahnfeltia* a *Pihiella* (Adl a kol., 2012, 2019). Z kríčkovitých stielok rodu *Ahnfeltia* sa taktiež extrahuje agar.

Nemaliophycidae sú relatívne rôznorodou skupinou makroskopických červených rias. Vnútorné pletivo stielky sa označuje ako medulla a vonkajšie ako cortex. Zástupcovia sú prevažne morskí (napr. rody *Nemalion*, *Palmaria* a *Galaxaura*). Stielka druhu *Nemalion helmithoides* je zvyčajne tvorená viacerými hadovitými nerozkonárujúcimi sa vetvami vyrastajúcimi zo substrátu. Rod *Palmaria* má dlaňovitú stielku a môže rásť aj epifyticky napr. na hnedých riasach (Phaeophyceae). Rod *Galaxaura* má kríčkovitú, dichotomicky sa rozkonárujúcu stielku. Rod *Batrachospermum* (žabie semä) (obr. 25.11) je sladkovodný. Má typickú heterotrichálnu stielku, ktorá má hlavnú os a bočné vlákna. Vyskytuje sa najmä v čistých tečúcich vodách.





Obr. 25.9. **Hildenbrandia** ***sp.*** ***Obr. 25.10.*** **Corallina** ***sp.*** ***Obr. 25.11.*** **Batrachospermum** ***sp.***

25.2.3 Chloroplastida

Chloroplastida (zelené riasy) sú poslednou vývojovou líniou zo skupiny Archaeplastida. Niekedy je nazývaná aj **Viridiplantae,** čo však môže označovať aj suchozemské rastliny, ktoré sú len jednou z mnohých skupín (najmladšou vývojovou vetvou) v rámci Chloroplastida, u ktorej došlo k prechodu z vodného prostredia na súš. Zelené riasy sa oddelili od línie červených rias niekedy v období 1.2 miliardy až 750 miliónov rokov PNL (Knoll, 2003). Najstaršou známou fosíliou, ktorú možno už jednoznačne zaradiť do skupiny zelených rias, je zástupca *Proterocladus* sp. so sifonokladálnou (mnohobunkovou mnohojadrovou) stielkou (podobnou recentnému rodu *Cladophora*) z obdobia spred 750 miliónov rokov (Butterfield, 2009).

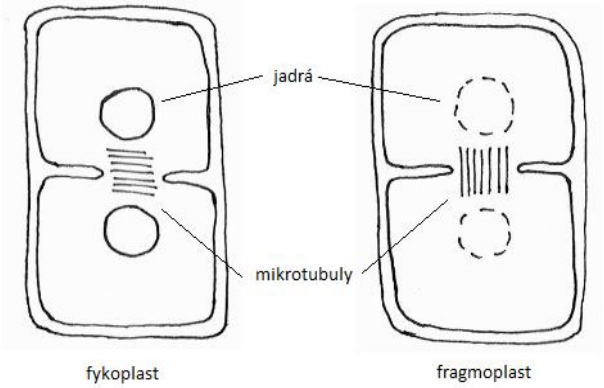
Táto skupina je najpočetnejšou a najrozmanitejšou v rámci Archaeplastida. Chloroplastida rozdeľujeme na dve hlavné vývojové línie: **Chlorophyta** a **Charophyta**

(Streptophyta) (Leliaert a kol., 2012). **Chlorophyta** boli **pôvodne morskou líniou**, avšak v evolúcií bola **častá invázia do sladkovodných prostredí**. **Charophyta boli pôvodne sladkovodnou líniou**, no v súčasnosti sem patri aj niektoré morské druhy. Do skupiny Charophyta radíme aj suchozemské rastliny (Becker a Marin, 2009).

Pre túto skupinu sú typické **chloroplasty obalené dvomi membránami**, ktoré vznikli primárnou endosymbiózou z cyanobaktérií ešte u spoločného predka Archaeplastida. Obsahujú fotosyntetické farbivá **chlorofyl *a*** a ***b*** a karotenoidy. **Tylakoidy** majú usporiadané obyčajne **v skupinách**. Zásobnou látkou je **škrob**. V chloroplastoch sa nachádza tzv. **pyrenoid**, oblasť obsahujúca enzým ribulózu-1,5-bisfosfát karboxylázu (RuBisCo), ktorý je zodpovedný za fixáciu oxidu uhličitého z atmosféry (tzv. Calvinov cyklus alebo tmavá fáza fotosyntézy, ktorá nevyžaduje svetlo, ale prebieha aj za svetla).

Bunková stena Chloroplastida je obyčajne **z celulózy**. Výnimočne môže chýbať. U niektorých jednobunkovcov môžu byť na povrchu šupiny. Vo všeobecnosti sa predpokladá, že spoločný predchodca skupiny Chloroplastida mal celulózovú bunkovú stenu.

Bunky zástupcov Chloroplastida sa môžu deliť otvorenou, polouzatvorenou alebo uzatvorenou mitózou. Počas delenia buniek zástupcov skupiny Chloroplastida sa môžu vytvárať charakteristické mikrotubulové štruktúry ako fykoplast a fragmoplast (obr. 25.12), ktorých prítomnosť(resp. neprítomnosť) sa využíva v systematike zelených rias. **Fykoplast** je **systém mikrotubulov, ktorý sa vyvíja medzi dvomi deliacimi sa dcérskymi bunkami** (počas cytokinézy) **až po rozdelení jadra**. **Počas cytokinézy sú mikrotubuly fykoplastu rovnobežné s deliacou rovinou**. Táto štruktúra vzniká počas delenia buniek **niektorých línií zo skupiny Chlorophyta, konkrétne u skupín Chlorophyceae, Trebouxiophyceae a Chlorodendrophyceae** (Adl a kol., 2012; Leliaert a kol., 2012). U väčšiny bazálnych línií skupiny Chlorophyta, súborne označovaných ako „Prasinophyta“ sa však táto štruktúra počas delenia buniek spravidla nevyskytuje. **Fykoplast** sa vyskytuje **aj u väčšiny línií zo skupiny Charophyta**. **Fragmoplast** je tiež systém mikrotubulov vznikajúci počas cytokinézy **u skupín Charophyta s otvorenou mitózou** a **vzniká** ešte **pred obnovením jadrovej membrány**. **Počas cytokinézy sú mikrotubuly fragmoplastu kolmé na deliacu rovinu** (obr. 25.12). Táto štruktúra vzniká počas delenia buniek **u línií zo skupiny Charophyta** súborne označovaných ako **Phragmoplastophyta**, konkrétne u skupín **Zygnematophyceae, Coleochaetophyceae, Charophyceae a Embryophyta** (suchozemské rastliny) (Adl a kol., 2012; Leliaert a kol., 2012). U bazálnych línií skupiny Charophyta sa však táto štruktúra počas delenia buniek nevyskytuje, ale zvyčajne sa vyskytuje fykoplast (Adl a kol., 2012).



Obr. 25.12. Fykoplast a fragmoplast

Stielky zástupcov zo skupiny Chloroplastida sú naozaj rôznorodé, **od kokálnych až po pletivové**. Jednobunkoví zástupcovia skupiny Chlorophyta majú často dva rovnako dlhé

bičíky (sú bikontní). Takéto dvojbičíkaté môžu byť aj zoospóry alebo gaméty mnohobunkových zástupcov. Zriedkavo majú jednobunkoví zástupcovia štyri bičíky alebo nepárny počet bičíkov. Viaceré línie Chlorophyta však bičíky stratili. Napriek tomu, že bičíkaté štádiá sa vo vegetatívnych štádiách (s výnimkou bazálneho rodu *Mesostigma*) u zástupcov skupiny Charophyta vôbec nevyskytujú, predpokladá sa, že **spoločný predchodca skupiny Chloroplastida bol bikontný rovnako ako spoločný predchodca Archaeplastida**. U Chloroplastida je častá aj rodozmena. Pohlavné rozmnožovanie môže byť izogamia, anizogamia, ale najčastejšie oogamia.

Zelené riasy majú význam v potravinárstve a farmaceutike. Spracované sa užívajú aj ako výživový doplnok (*Chlorella* sp.). Používajú sa aj na výrobu potravinárskych farbív (*Dunaliella* sp.) alebo ako okrasné rastliny akvárií. Využívajú sa aj na výrobu biopalív, ktoré môžu v budúcnosti celkom nahradiť fosílne palivá.

25.2.3.1 Chlorophyta

Táto skupiny je veľmi rozmanitá. U jej zástupcov nájdeme prakticky všetky typy stielok. Typický je **plastid** s dvomi membránami, ktorý **obsahuje škrob**. Tylakoidy sú usporiadané v skupinách, len zriedkavo jednotlivo. Väčšinou majú celulózovú bunkovú stenu. **Počas cytokinézy nevzniká fragmoplast**. **Môže, ale nemusí sa však formovať fykoplast**. Jednobunkovce a **jednobunkové štádiá** majú **obyčajne dva bičíky, prípadne viacero** bičíkov v násobkoch dvoch (Adl a kol. 2012**;** Leliaert a kol., 2012).

Systematika tejto skupiny podlieha neustálym zmenám. **Jednobunkové línie** z tejto skupiny, ktoré boli **považované za bazálne (najstaršie)** boli ešte donedávna označované súborným názvom **„Prasinophyta“**. Väčšina z nich má **bičíky (1 až 8) a na povrchu buniek organické šupiny**. Patrili sem skupiny Pyramimonadales, Mamiellophyceae, Pycnococcales, Prasinococcales, Pedinophyceae, Picocystophyceae, Chloropicophyceae, rod *Nephroselmis*, prípadne aj skupina Chlorodendrophyceae (Becker a Marin, 2009; Leliaert a kol., 2012; Adl a kol., 2019). Okrem spomenutých „Prasinophyta“ medzi Chlorophyta patria ešte skupiny Trebouxiophyceae, Chlorophyceae, Ulvophyceae, kam patria jednobunkové aj mnohobunkové zelené riasy a línia morských makroskopických rias Palmophyllales (Becker a Marin, 2009; Leliaert a kol., 2012). Podľa Adl a kol. (2012) sa skupina Chlorophyta rozdeľovala na 9 skupín: Prasinophytae, Mamiellophyceae, *Nephroselmis*, Pedinophyceae, Chlorodendrophyceae, Trebouxiophyceae, Chlorophyceae, Ulvophyceae a Palmophyllales. Adl a kol. (2012) teda už neradili do skupiny Prasinophytae všetkých zástupcov pôvodne radených do skupiny „Prasinophyta“, ale len niektoré (napr. Pyramimonadales, Pycnococcales a Prasinococcales). Aj taxón Prasinophytae bol však parafyletický. Ako ukazujú najnovšie fylogenetické štúdie, tieto skupiny by nemali tvoriť jeden taxón „Prasinophytae“, pretože Pyramimonadales sú príbuzné Mamiellophyceae a jednobunkové bezbičíkaté Prasinococcales sa prekvapujúco ukazujú byť príbuzné morských makroskopických rias zo skupiny Palmophyllales (Leliaert a kol., 2016). Fylogenetická pozícia skupiny Pycnococcales a Picocystophyceaea (rod *Picocystis*) stále nie je uspokojivo objasnená, ale pravdepodobne ide o samostatné línie najbližšie príbuzné rodu *Nephroselmis* a/alebo monofyletickému zoskupeniu taxónov Pedinophyceae, Chlorodendrophyceae, Trebouxiophyceae, Chlorophyceae a Ulvophyceae (Turmel a kol., 2009; Leliaert a kol., 2016). Podľa Adl a kol. (2019) sa skupina Chlorophyta rozdeľuje až na 12 skupín (viď kapitola 25.2), pričom v tejto kapitole sú zhrnuté charakteristiky len 9 najznámejších z nich.

25.2.3.1.1 Pyramimonadales

Do tejto skupiny patria **jednobunkové bičíkovce** obyčajne **so 4** no niekedy až 16 **bičíkmi**. U niektorých sú známe aj štádiá s jedným bičíkom (pravdepodobne gamety). Povrch bunky aj bičíky sú **pokryté organickými šupinami**. Chloroplast má hrncovitý tvar, pyrenoid je prítomý a niektorí zástupcovia majú aj stigmu. Niektorí zástupcovia vytvárajú cysty (Adl a kol., 2019). Známi sú sladkovodní aj morskí zástupcovia. Patria sem napr. rody *Cymbomonas* a *Pyramimonas*. Rod *Cymbomonas* má unikátny aparát na prijímanie (fagocytovanie) potravy, s akým sa u iných skupín Archaeplastida nestretávame (Leliaert a kol., 2012). Rod *Pyramimonas* sp. bol predchodcom sekundárnych plastidov skupiny Euglenophyta (Turmel a kol., 2009).

25.2.3.1.2 Mamiellophyceae

Patria sem **jednobunkoví** zástupcovia s jedným alebo dvoma chloroplastami, ktorý má dve membrány. Popri chlorofyle *a* a *b* zvyčajne obsahujú aj farbivo prasinoxantín. **Nemusia mať žiaden alebo môžu mať jeden až dva bičíky**, ktoré nemusia byť rovnako dlhé. Bunky a/alebo bičíky môžu byť pokryté jednou alebo dvomi vrstvami ploských oválnych alebo elipsovitých **šupín**. Zástupcovia sú väčšinou morskí, ale nájdeme aj zopár sladkovodných. Patria sem napr. rody *Dolichomastix*, *Mamiella* a *Ostreococcus* (Adl a kol., 2012, 2019). Ide pravdepodobne o **najbližších príbuzných taxónu Pyramimonadales** (Turmel a kol., 2009; Leliaert a kol., 2016), preto je možné očakávať, že budú spoločne s nimi v budúcnosti radení do jedného monofyletického taxónu.

25.2.3.1.3 *Nephroselmis*

Nephroselmis je rod, ktorý je samostatnou skupinou v rámci Chlorophyta. Zástupcovia sú **jednobunkoví**, typickí svojimi **laterálne sploštenými bunkami s dvomi laterálne inzertovanými bičíkmi**. Celú bunku aj s bičíkmi obyčajne pokrývajú obdĺžnikové **šupiny** alebo šupiny diamantového tvaru. Bunky obsahujú **jeden chloroplast hrncovitého tvaru so stigmou a pyrenoidom**. Pohlavne sa rozmnožujú **izogamiou**. Tieto bičíkovce sa vyskytujú prevažne v moriach, ale niektoré žijú aj v sladkovodnom prostredí (Adl a kol., 2012, 2019). Tento rod (resp. jeho chloroplast) sa môže vyskytovať aj ako endosymbiont prvoka rodu *Hatena* zo skupiny Katablepharida (viď kapitola 28).

25.2.3.1.4 Pedinophyceae

Zaraďujeme sem **jednobunkové** monadoidné riasy **s jedným bičíkom**, ktorý je pokrytý tenkými pevnými vláskami. Rozmnožujú sa **uzatvorenou mitózou**, ale **počas cytokinézy sa neformuje fykoplast**. Mitotické vretienko ostáva zachované počas celého bunkového cyklu. Majú len **jeden chloroplast**. Patria sem napr. rody *Pedinomonas* a *Marsupiomonas* (Adl a kol., 2012, 2019). Pedinophyceae sú pravdepodobne najbazálnejšou (evolučne najstaršou) skupinou v rámci monofyletického zoskupenia tzv. **„core (jadro) Chlorophyta“ predstavovaného skupinami Pedinophyceae, Chlorodendrophyceae, Trebouxiophyceae, Chlorophyceae a Ulvophyceae** (Marin a kol., 2012; Leliaert a kol., 2016).

25.2.3.1.5 Chlorodendrophyceae

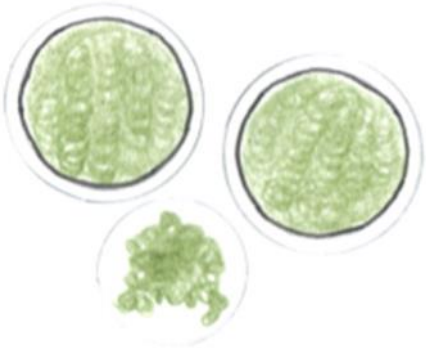
Zástupcovia majú **4 bičíky** (2 páry vychádzajúce z jedného miesta). Taktiež majú obyčajne na povrchu **organické šupiny** podobne ako väčšina zástupcov pôvodne radených medzi Prasinophyta. Na rozdiel od ostatných Prasinophyta je však **vonkajšia vrstva šupín zrastená** a **vytvára** na povrchu buniek **théku** (schránku). Na bičíkoch šupiny nezrastajú. **Majú uzatvorenú mitózu a počas cytokinézy sa formuje fykoplast**. Vyživujú sa autotrofne a osmotrofne. Zástupcovia môžu byť morkí aj sladkovodní, bentickí aj planktónní. Typickým predstaviteľom je rod *Tetraselmis* (Adl a kol., 2012, 2019; Leliaert a kol., 2012). Chlorodendrophyceae sú príbuznými skupín Pedinophyceae, Trebouxiophyceae, Chlorophyceae a Ulvophyceae a vytvárajú spolu s nimi monofyletické zoskupenie „core Chlorophyta“ (Leliaert a kol., 2012, 2016).

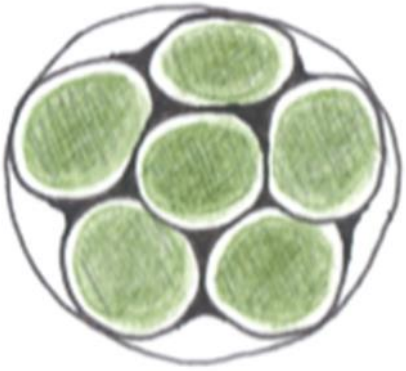
25.2.3.1.6 Trebouxiophyceae

Táto skupina združuje jednobunkových aj mnohobunkových zástupcov, ktorí sa od seba značne odlišujú svojou morfológiu, ekológiou aj rozmnožovaním, ale ich príbuznosť je dobre podporená fylogenetickými analýzami. Jednobunkovce a jednobunkové štádiá mnohobunkových zástupcov môžu mať jeden alebo dva bičíky bez mastigoném, prípadne nemusia mať žiadny. Majú **uzatvorenú alebo polouzatvorenú mitózu** a **počas cytokinézy sa formuje fykoplast**. **Rozmnožujú sa asexuálne pomocou autospór alebo zoospór**. Pravdepodobne sú schopné aj pohlavného rozmnožovania, ale zatiaľ nebolo pozorované. Vyživujú sa autotrofne a osmotrofne. Sú prevažne **sladkovodné a terestrické**. **Mnohí zástupcovia žijú v symbióze s hýfami húb** a spolu s nimi vytvárajú **lišajníky** (Lichenes) (Adl a kol., 2012). Takejto forme endosymbiotickej asociácie húb a rias (niekedy siníc) hovoríme **lichenizmus**. Medzi najznámejšie skupiny (rady) patria **Trebouxiales, Chlorellales, Prasiolales a Microthamiales**. Okrem nich sem však patria aj ďalšie línie, z ktorých niektoré ešte neboli ani pomenované (Leliaert a kol., 2012).

Trebouxiales sú **najhojnejšie symbionty lišajníkov** ako napr. rody *Trebouxia* (obr. 25.13) a *Asterochloris*. Niektoré však žijú voľne v pôde (napr. rod *Myrmecia*) (Leliaert a kol., 2012).

Chlorellales sú prevažne sladkovodné a terestrické kokálne (nepohyblivé, jednobunkové) riasy (Leliaert a kol., 2012). Sú **prevažne fotosyntetické, no viacero zástupcov sekundárne stratilo fotosyntézu**. Príkladmi takýchto nefotosyntetických zástupcov sú parazitické rody *Prototheca* a *Helicosporidium*, ktoré síce fotosyntézu stratili, ale zachovali si nefotosyntetické chloroplasty obalené dvomi membránami aj funkčný chloroplastový genóm. Tieto nefotosyntetické plastidy sú nevyhnutné pre ich prežitie, pretože v nich prebiehajú viaceré esenciálne metabolické dráhy (Hadariová a kol., 2018). Vyživujú sa osmotrofne. Najznámejším fotosyntetickým rodom je ***Chlorella*** (obr. 25.14). Je to riasa **s kokálnym typom stielky** (s veľkosťou bunky ~ 12 μm). Má **jeden hrncovitým chloroplastom** s výrazným pyrenoidom. Rozmnožuje sa nepohlavne autospórami (obr. 25.14). **Žije v pôde, na kameňoch**, ale aj ako súčasť aeroplanktónu. Tiež môže žiť **v symbióze s lišajníkmi**, prípadne aj s niektorými prvokmi. Má rozsiahle **využitie v biotechnológiách**. Pestuje sa vo veľkých kontajneroch a vyrábajú sa z nej kozmetické a farmaceutické prípravky a biopalivá.





Obr. 25.13.* Trebouxia *sp. ***Obr. 25.14. Tvorba autospór u* Chlorella *sp.***

Prasiolales sú ekologicky aj morfologicky najdiverzifikovanejšou skupinou v rámci Trebouxiophyceae. Stielky môžu byť kokálne (napr. *Pseudochlorella, Pseudomarvania, Stichococcus*), vláknité (napr. *Raphidonema*), prípadne môžu vlákna zrastať do pseudoparenchymatických lístkovitých stielok (napr. *Prasiola*). Rod *Prasiola* zahrňuje morských, sladkovodných aj pôdnych zástupcov (Leliaert a kol., 2012).

Microthamniales zahrňujú rod *Microthamnion* s vetvenou vláknitou stielkou a rod *Fusochloris* s kokálnou stielkou (Leliaert a kol., 2012).

25.2.3.1.7 Chlorophyceae

Táto pomerne rozmanitá skupina rias zhrňuje jednobunkové a koloniálne (cenobiálne) riasy s bičíkmi bez mastigoném (jeden až stovky) alebo bez bičíkov, ako aj riasy s vetvenými a nevetvenými trichálnymi a heterotrichálnymi stielkami. Majú **uzatvorenú mitózu a fykoplast počas cytokinézy**. Spôsoby rozmnožovania sú u jednotlivých skupín mimoriadne variabilné. V závislosti od druhu sa môžu nepohlavne rozmnožovať aplanospórami, autospórami alebo akinetami a pohlavne izogamiou, anizogamiou alebo oogamiou (Adl a kol., 2012). Chlorophyceae sú **takmer výhradne sladkovodné a terestrické** organizmy. **Väčšina sladkovodných zástupcov** je **takmer počas celého svojho životného cyklu v haploidnej vegetatívnej fáze** a **diploidná fáza** je obmedzená len na **jednobunkovú zygotu**, ktorá je v mnohých prípadoch dormantným štádiom životného cyklu a **slúži na prečkatie nepriaznivých podmienok**. U terestrických zástupcov pohlavné rozmnožovanie poväčšine nebolo pozorované. Medzi najznámejšie skupiny (rady) patria **Chlamydomonadales, Sphaeropleales, Oedogoniales, Chaetophorales a Chaetopeltidales**, pričom Chlamydomonadales sú si príbuzné so Sphaeropleales, zatiaľ čo Oedogoniales s Chaetophorales a s Chaetopeldiales (Leliaert a kol., 2012).

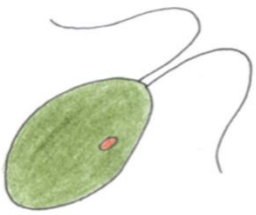
Chlamydomonadales sú najväčšou skupinou v rámci Chlorophyceae. Patria sem nepohyblivé aj pohyblivé jednobunkovce s dvomi alebo štyrmi bičíkmi, kolónie bičíkovcov s dvomi bičíkmi, vláknitý zástupcovia ako aj kapsálne jednobunkovce so slizovým obalom. Poväčšine ide sladkovodné a terestrické organizmy. Niektoré sú psychrofilné (suchomilné) a/alebo halotolerantné (tolerujú vysokú koncentráciu solí) (napr. rod *Dunaliella* a *Chlamydomonas nivalis*) (Leliaert a kol., 2012). Väčšina je fotosyntetických, ale napr. rody *Polytoma* a *Polytomella* sú obligátne heterotrofné, hoci majú zachované nefotosyntetické chloroplasty (Hadariová a kol., 2018). Viaceré rody sú polyfyletické, vrátane rodu *Chlamydomonas*, ktorého zástupcovia patria minimálne do piatich rôznych fylogenetických línii v rámci Chamydomonadales (Leliaert a kol., 2012).

Chlamydomonas sp. (obr. 25.15) je zástupca **s dvomi izomorfnými** (rovnako dlhými) **bičíkmi**. Bunka obsahuje chloroplast, ktorý sa rozprestiera takmer v celej cytoplazme, preto sa často celá bunka v svetelnom mikroskope javí ako zelená. **Súčasťou chloroplastu** je aj **stigma – svetlocitlivá „očná“ škvrna**, ktorá umožňuje reagovať na svetlo (obr. 25.15). *Chlamydomonas* sp. sa nepohlavne obyčajne rozmnožuje viacerými po sebe nasledujúcimi mitózami a následným únikom buniek po rozložení starej bunkovej steny materskej bunky. **Pohlavne sa rozmnožuje,** keď nemá dostatok dusíka, **izogamiou**, splývaním buniek opačných párovacích typov (mt+ a mt-) za vzniku diploidnej zygoty, ktorá sa premení na nepohyblivú zygospóru s hrubou bunkovou stenou. **Zygospóra** slúži **na prečkanie nepriaznivých podmienok**. V priaznivých podmienkach z nej meiózou vzniknú opäť vegetatívne haploidné bunky (2 mt+ a 2 mt-) (Hallmann, 2011). Druh *Chlamydomonas reinhardtii* je významným modelovým organizmom pri výskumoch molekulovej genetiky.

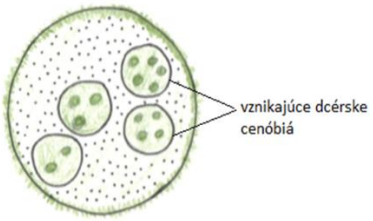
Rod ***Haematococcus*** je jednobunkovec s dvomi bičíkmi, ktorý však môže vytvárať za nepriaznivých podmienok (napr. počas dusíkového hladovania) nepohyblivé cysty. Má biotechnologický význam, pretože v štádiu cysty **produkuje** zásobný červený pigment (karotenoid) **astaxantín**, ktorý má význam vo farmaceutickom priemysle.

Volvox sp. (po slovensky váľač) je **cenobiálna bičíkatá riasa**. **Cenóbium** je **jednoduché mnohobunkové zoskupenie (kolónia) buniek**. Kolónie cenóbií rôznych zelených rias majú **počet buniek 2^n** (napr. 4, 8, 16 atď.). **Kolónie rodu *Volvox* sú guľovitého tvaru** (obr. 25.16), obsahujú obyčajne 500 až tisíce haploidných buniek, môžu byť veľké aj viac ako 1 mm a bunky v nich vzájomne komunikujú prostredníctvom bunkových spojov – plazmodeziem (Bačkor, 2007). U tohto rodu sa **na povrchu cenóbia** vyskytujú **bunky s dvoma bičíkmi**, pomocou ktorých sa celé cenóbium pohybuje. **Vo vnútri materského cenóbia sa vytvárajú dcérske cenóbiá**, **pomocou ktorých sa nepohlavne rozmnožuje** (obr. 25.16). **Pohlavne sa rozmnožuje oogamiou**, kedy sa na povrchu cenóbia vytvárajú nepohyblivé vajíčka a/alebo pohyblivé dvojbičíkaté spermie (kolónie môžu byť aj samčie, samičie alebo obojpohlavné). Po oplodnení vajíčka spermiou vzniká diploidná zygota, ktorá sa premení na diploidnú, odpočinkovú, hrubostennú oranžovú zygospóru. V priaznivých podmienkach sa zygospóra meiózou rozdelí na haploidné bunky, z ktorých vzniká nové haploidné cenóbium (Hallmann, 2011). Rod *Volvox* sa vyskytuje sa v stojatých sladkých, skôr teplejších a čistejších vodách aj u nás.

Ďalšími sladkovodnými cenobiálnymi bičíkatými zelenými riasami zo skupiny Chlamydomonadales s menším počtom buniek v cenóbiu (4, 8, 16, 32 alebo 64) sú zástupcovia rodov *Gonium*, *Pandorina* a *Eudorina*.



Obr. 25.15. **Chlamydomonas** ***sp.***

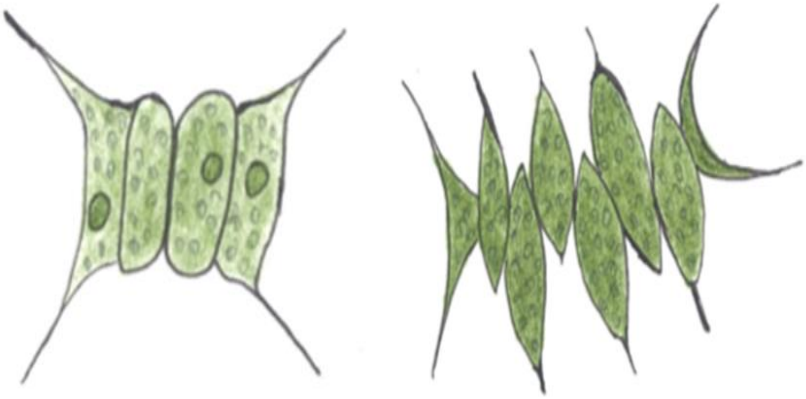


Obr. 25.16. Tvorba dcérskych cenóbií u rodu **Volvox**

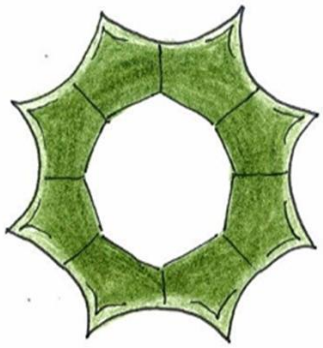
Sphaeropleales je skupina, ktorá zahŕňa **nepohyblivé jednobunkovce, kolónie alebo filamenty (vlákna)**, ktoré môžu produkovať **dvojbičíkaté zoospóry alebo nepohyblivé autospóry slúžiace na rozmnožovanie** (Leliaert a kol., 2012). **Koloniálni zástupcovia**

vytvárajú tiež **cenóbiá s počtom buniek 2^n**, ale ich **cenóbiá** sú na rozdiel od zástupcov skupiny Chlamydomonadales nepohyblivé, teda **nemajú bičíky**. Niektorí zástupcovia majú na bunkách dobre pozorovateľné výbežky (ostne). Patria sem **dominantné rody sladkovodného fytoplanktónu** ako ***Scenedesmus, Desmodesmus* a *Pediastrum*** (obr. 25.17, 25.18, 25.19). Cenóbiá rodov *Scenedesmus* a *Desmodesmus* majú obyčajne 4 alebo 8 buniek (obr. 25.17 a 25.18). Rod *Pediastrum* vytvára radiálne symetrické cenóbiá s počtom buniek 8 a viac v násobkoch dvoch (obr. 25.19).

Chaetophorales sú skupinou zahrňujúcou asi 10 mnohobunkových rodov. Môžu mať vláknité nevetvené (napr. rod *Uronema*) alebo vetvené stielky (napr. rody *Chaetophora* a *Stigeoclonium*). Rozmnožujú sa nepohlavne pomocou štvorbičíkatých zoospór (Leliaert a kol., 2012).



***Obr. 25.17. a 25.18. Rody* Scenedesmus / Desmodesmus**



Obr. 25.19.* Pediastrum *sp.

Chaetopeldiales môžu mať mnohobunkové stielky diskovitého tvaru (napr. rody *Chaetopeltis* a *Pseudulvella*) alebo môžu stielky vytvárať trojrozmerné zhluky buniek (napr. rod *Floydiella*). Rozmnožujú sa taktiež pomocou štvorbičíkatých zoospór (Leliaert a kol., 2012).

Oedogoniales sú skupinou, do ktorej patria rody *Oedogonium*, *Oedocladium* a *Bulbochaete* s vláknitou stielkou. Majú unikátnu formu cytokinézy a unikátne (tzv. stephanokontné) zoospóry, na ktorých prednom konci (anteriorne) sa nachádza viacero bičíkov usporiadaných do kruhu. Rozmnožujú sa aj pohlavne oogamiou, pričom samčia pohyblivá bunka je tiež stephanokontná (Leliaert a kol., 2012).

25.2.3.1.8 Ulvophyceae

Pre túto skupinu je typická **vláknitá vetvená alebo nevetvená, sifonálna** (jednobunková mnohojadrová) **alebo sifonokládna** (mnohobunková mnohojadrová) **viac alebo menej kalcifikovaná stielka** (Adl a kol., 2012), len zriedkavo jednobunková s bičíkmi alebo bez nich (Leliaert a kol., 2012). Patria sem väčšinou **morskí makroskopickí zástupcovia**, ktorí osídľujú najmä teplé moria. **V ich životnom cykle sa zvyčajne strieda haploidný gametofyt a diploidný sporofyt**, ktoré môžu aj nemusia vyzerať rovnako. **Mitóza je uzatvorená a** mitotické vretienko prítomné v jadre ostáva zachované počas celého bunkového cyklu. **Počas cytokinézy dochádza k ryhovaniu buniek a neformuje sa fykoplast**, ktorý pravdepodobne sekundárne stratili, keďže ostatné skupiny z „core Chlorophyta“ ho počas cytokinézy majú (Leliaert a kol., 2012). **Pohyblivé jednobunkové**

rozmnožovacie štádiá majú jeden alebo dva páry bičíkov bez mastigoném (Adl a kol., 2012). Medzi najznámejšie skupiny (rady) v rámci Ulvophyceae patria **Oltmannsiellopsidalles, Ulvales, Ulotrichales, Cladophorales, Bryopsidales, Dasycladales a Trentepohliales**.

Oltmannsiellopsidalles sú malou skupinou morských a sladkovodných mikroskopických rias. Zástupcovia rodu *Oltmannsiellopsis* sú štvorbičíkaté jednobunkovce, prípadne vytvárajú malé kolónie buniek. *Dangemannia microcystis* and *Halochlorococcum marinum* sú nepohyblivé jednobunkovce, ktoré však môžu vytvárať zhluky (napr. diskovitého tvaru). Rozmnožujú sa pomocou štvorbičíkatých zoospór. Táto skupina je pravdepodobne bazálnou líniou zoskupenia Ulvales a Ulotrichales.

Ulvales-Ulotrichales sú **zoskupením jednobunkových a mnohobunkových rias s vláknitou vetvenou alebo nevetvenou, sifonálnou alebo sifonokladálnou stielkou, ktorá môže vytvárať tubulárne alebo lístkovité útvary**. Fylogenetické analýzy nepodporujú rozdelenie zástupcov Ulvales a Ulotrichales do dvoch rôznych taxónov. Tradične sa však uvádza, že Ulvales a Ulotrichales možno rozlíšiť na základe rôznych životných cyklov. **V životnom cykle Ulvales sa spravidla strieda izomorfný** (rovnako vyzerajúci) **mnobunkový gametofyt a sporofyt**, zatiaľčo **v životnom cykle Ulotrichales je gametofyt mnohobunkový a jediné diploidné štádium je jednobunková hrubostenná zygota prichytená stopkou o substrát**, produkujúca meiózou haploidné spóry (Leliaert a kol., 2012). Najznámejším rodom zo skupiny Ulvales je ***Ulva*** (obr. 25.20). **Stielka** je tvorená dvomi vrstvami buniek, je **plochá, listovitá, vysoká aj 20 cm**, prichytená o substrát. **Sporofyt sa morfologicky nelíši od gametofytu** (izomorfná rodozmena). Vyskytuje sa najmä epiliticky (na kameňoch) v morskom litoráli, no toleruje aj brakické vody. Je to kozmopolitný rod. Druh *Ulva lactuca* je nazývaná aj **morský šalát**, pretože v niektorých krajinách (napr. v Škandinávii) sa konzumuje. Najznámejším rodom zo skupiny Ulotrichales je ***Ulothrix*** **s vláknitou stielkou tvorenou jednou radou buniek**. Vyskytuje sa hojne v bentose morí aj sladkých vôd.

Obr. 25.20. **Ulva** ***sp.***

Obr. 25.21. **Cladophora** ***sp.***

Cladophorales sú **poväčšine morské makroskopické riasy so sifonokladálnou** (mnohobunkovou mnohojadrovou) **stielkou** prichytenou o substrát. Vlákna stielok môžu byť nevetvené (napr. rod *Chaetomorpha*) alebo vetvené. ***Cladophora*** (obr. 25.21) je najznámejším rodom **s vetvenou sifonokladálnou stielkou**. Tento rod je polyfyletický (zahrňuje viaceré samostatné fylogenetické línie) (Leliaert a kol., 2012). Chloroplast je sieťovitý s početnými pyrenoidmi. Rozmnožuje sa pomocou pohyblivých dvojbičíkatých zoospór. Väčšina druhov je morská, ale napr. druh *Cladophora glomerata* je sladkovodný. Je jednou z najhojnejších rias u nás a v okolitých krajinách. V tropických a subtropických moriach sa vyskytujú napr.

rody *Siphonocladus* a *Anadyomene*. Rod *Anadyomene* má paralelne zrastené sifonokladálne vlákna, ktoré tak vytvárajú plochú jednovrstvovú pseudoparenchymatickú listovitú stielku.

Bryopsidales sú skupinou zahrňujúcou prevažne **makroskopické morské riasy so sifonálnou** (rúrkovitou, coenocytickou) **stielkou** (mnohojadrovou jednobunkovou). Niektorí zástupcovia majú relatívne jednoduché vetvené sifonálne stielky (napr. rod *Bryopsis*), iné (napr. rod *Caulerpa*) môžu mať stielky diferencované a veľké aj viac ako 3 m. Aj v prípade týchto veľkých zástupcov je cytoplazma celej stielky prepojená, takže ide pravdepodobne o jedny z **najväčších „jednobunkovcov" na svete**. Mnohé druhy sú významnou súčasťou tropických morských ekosystémov. Viaceré druhy majú stielky kalcifikované a podieľajú sa na tvorbe koralových útesov (Leliaert a kol., 2012). Príkladmi ďalších morských rodov z tejto skupiny sú *Codium* a *Halimeda*.

Dasycladales sú skupinou morských rias s kalcifikovanou radiálne symetrickou stielkou (Leliaert a kol., 2012). Z fosílneho záznamu je zrejmé, že ich diverzita v minulosti bola podstatne väčšia ako v súčasnosti. Ich stielky majú v závislosti od druhu od 2 mm do 20 cm. Kuriozitou je, že **celá stielka** je **tvorená len jednou bunkou**, ktorá **vo vegetatívnom štádiu obsahuje len jedno diploidné jadro**. Toto jadro sa nachádza v blízkosti rhizoidu – časti stielky, ktorou je stielka prichytená o substrát. Iba v čase pohlavného rozmnožovania sa jadro rozdelí meiózou a následnými mitózami vznikne mnoho haploidných jadier, ktoré migrujú do gametanglií v terminálnych častiach stielky a stanú sa súčasťou dvojbičíkatých gamét. Po uvoľnení a splynutí gamét vyrastie nová stielka. Patrí sem napr. rod *Acetabularia*.

Trentepohliales sú skupinou **výhradne terestrických rias s vetvenou vláknitou stielkou**. Tvoria nárasty ma skalách, kameňoch, múroch a stromoch. Kvôli svojim špecifikám ako napr. formovaniu štruktúry pripomínajúcej fragmoplast počas cytokinézy, prítomnosťou bunkových spojení (plazmodeziem) medzi bunkami vegetatívnych štádií alebo špeciálnou morfológiu sporangií produkujúcich nepohlavné zoospóry neboli pôvodne radené medzi Ulvophyceae. Predpokladalo sa, že táto skupina je skôr príbuzná Charophyta. Fylogenetické analýzy však naznačujú, že sú príbuzné Cladophorales, Bryopsidales a Dasycladales (Leliaert a kol., 2012). Medzi najznámejšie rody patrí polyfyletický rod *Trentepohlia* s centrom výskytu v trópoch. U nás je relatívne bežný druh *Trentepohlia umbrina*, ktorý vytvára oranžové nárasty na kmeňoch stromov. Oranžová farba je spôsobená prítomnosťou astaxantínu.

25.2.3.1.9 Palmophyllophyceae

Táto skupina **morských rias** pravdepodobne predstavuje úplne **najbazálnejšiu vetvu Chlorophyta**, ktorá sa od ich spoločného oddelila ako prvá. Patria sem kokálne a kapsálne jednobunkovce, prípadne ich voľné kolónie, ale aj makroskopické mnohobunkové bentické riasy. Ich **bunky sú oválne alebo elipsoidné a nikdy nemajú bičíky** ani organické šupiny. Ich bunky majú len **jeden chloroplast** (obalený dvomi membránami a s chlorofylom *a* a *b*) **hrncovitého tvaru**, ktorý obkolesuje jadro a mitochondriu. Golgiho aparát je veľký. **Bunky sa delia asymetrickým binárnym delením**. Patria sem skupiny **Prasinococcales** a **Palmophyllales** (Leliaert a kol., 2016).

Prasinococcales sú **kapsálne** jednobunkovce (so slizovým obalom) s tenkou bunkovou stenou alebo **kokálne** jednobunkovce (bez obalu) s hrubou viacvrstvovou bunkovou stenou, prípadne ich voľné kolónie. Sú **súčasťou morského fytoplanktónu**. Pôvodne boli radené medzi „Prasinophyta", odlišujú sa však od väčšiny taxónov pôvodne radených do „Prasinophyta" **neprítomnosťou organických šupín na povrchu a absenciou bičíkov**. Majú **jeden chloroplast s veľkým pyrenoidom, ktorý obklopuje škrob**. Po asymetrickom delení bunky si jedna dcérska bunka zachováva bunkovú stenu materskej

bunky, pričom druhá dcérska bunka má novú bunkovú stenu. Patria sem rody *Prasinococcus* a *Prasinoderma* (Leliaert a kol., 2016).

Palmophyllales sú **morskou skupinou bentických rias s makroskopickými mnohobunkovými stielkami**, ktoré môžu byť vzpriamené alebo priľahlé k substrátu. Žijú vo väčších hĺbkach, kam už len nepatrne preniká svetlo. Každá ich bunka má veľkosť okolo 6 až 10 μm a obsahuje **jeden chloroplast bez pyrenoidu**. **Stielku vytvárajú jednotlivé** izolované **bunky obklopené amorfnou želatinóznou** (slizovitou) **matrix**. Patria sem rody *Palmophyllum, Verdigellas* a *Palmoclathrus* (Adl a kol., 2012; Leliaert a kol. 2012, 2016).

25.2.3.2 Charophyta

Charophyta, často nazývané aj **Streptophyta** sú rozmanitou skupinou, do ktorej patria zástupcovia s prakticky všetkými typmi stielok. Všetci zástupcovia majú **otvorenú mitózu zvyčajne s fykoplastom, ale u niektorých nájdeme aj fragmoplast**. Ich pohyblivé bunky sú asymetrické, avšak **vegetatívne štádium je** u drvivej väčšiny zástupcov **nepohyblivé**. **Pohyblivé štádiá** majú obyčajne **dva bičíky bez mastigoném**. Tylakoidy sú usporiadané v skupinách. Chloroplasty majú dve membrány a obsahujú škrob. U mnohobunkových foriem sú prítomné bunkové spojenia – plazmodezmy (Adl a kol., 2012).

25.2.3.2.1 *Mesostigma*

Zatiaľ je známy jediný druh *Mesostigma viridae* (obr. 25.22). Je to **jednobunkový sladkovodný bičíkovec**, ktorý má **asymetrický tvar bunky** a **dva laterálne bičíky** (vybiehajúce zboku bunky z jedného miesta) (Adl a kol., 2012). **Na povrchu celulózovej bunkovej steny a bičíkov sú organické šupiny**, preto bol tento zástupca **v minulosti radený medzi Prasinophyta**. Fylogenetické analýzy však naznačujú, že je príbuzný ostatným skupinám z taxónu Charophyta (Streptophyta). Pravdepodobne **ide o najbazálnejšiu** (evolučne najstaršiu) **líniu v rámci skupiny Streptophyta**. Je to **jediný zástupca skupiny Streptophyta, ktorého vegetatívne štádium je monadoidné** (bičíkaté). Spoločný predchodca skupiny Streptophyta tak mal pravdepodobne dva bičíka podobne ako aj spoločný predchodca celej skupiny zelených rias a spoločný predchodca celej skupiny Archaeplastida (Leliaert a kol., 2012).

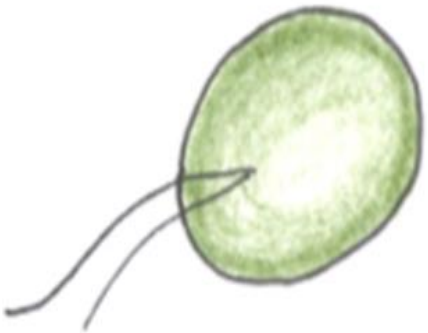
25.2.3.2.2 *Chlorokybus*

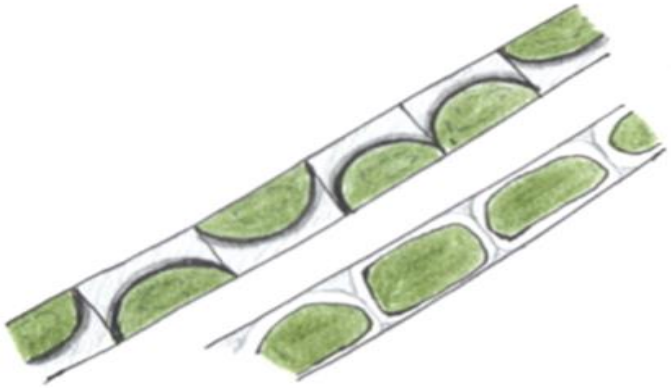
Chlorokybus atmophyticus je zatiaľ jediným známym druhom a je pravdepodobne **druhou najbazálnejšou líniou v rámci skupiny Charophyta**, hoci niektoré analýzy naznačujú aj, žeby sa mohlo jednať o sesterskú líniu rodu *Mesostigma*. Ide o zástupcu žijúceho **vo vlhkých terestrických vysokohorských biotopoch**. **Vo vegetatívnych štádiách** vytvára **nepohyblivé zoskupenia buniek**. **Rozmnožuje sa nepohlavne pomocou dvojbičíkatých zoospór** (Adl a kol., 2012; Leliaert a kol., 2012).

25.2.3.2.3 Klebsormidiophyceae

Zástupcovia tejto skupiny majú prevažne **vláknitú (trichálnu) stielku bez vetvenia**, prípadne ju tvoria len zhluky buniek. Patria sem predovšetkým **sladkovodné a terestrické**

druhy. V bunkách je prítomný **jeden alebo dva chloroplasty s jedným pyrenoidom.** Počas delenia buniek dochádza k ryhovaniu, ale neformuje sa fragmoplast. **Rozmnožujú sa nepohlavne pomocou dvojbičíkatých zoospór**. Pohlavné rozmnožovanie nie je známe. Pravdepodobne **ide o sesterskú líniu skupiny Phragmoplastophyta** (Leliaert a kol., 2012). Do skupiny Klebsormidiophyceae zaraďujeme napr. kozmopolitný rod *Klebsormidium* (obr. 25.23), ktorý sa vyskytuje prevažne v pôde. Chloroplasty (obyčajne jeden na bunku) sú žliabkovitého tvaru a priliehajú tesne k okraju bunky. Nepohlavne sa okrem dvojbičíkatých zoospór rozmnožuje aj rozpadom vlákien.





Obr. 25.22.* Mesostigma *sp. ***Obr. 25.23.* Klebsormidium *sp.***

25.2.3.2.4 Phragmoplastophyta

Monofyletická skupina typická svojím **fragmoplastom**, ktorý sa vytvára **počas otvorenej mitózy** (Adl a kol., 2012). Patria sem skupiny **Zygnematophyceae, Coleochaetophyceae, Charophyceae a Embryophyta**.

25.2.3.2.4.1 Zygnematophyceae

Do skupiny Zygnematophyceae (spájavky) patria **trichálne** (vláknité bez vetvetvenia) **a kokálne** (prípadne koloniálne) **zelené riasy bez akýchkoľvek bičíkatých štádií**. Sú druhovo najbohatšou skupinou spomedzi Charophyta. Patrí sem viac ako 4000 druhov. Drvivá **väčšina zástupcov je sladkovodných**. **Vo vegetatívnom štádiu sú spájavky haploidné.**

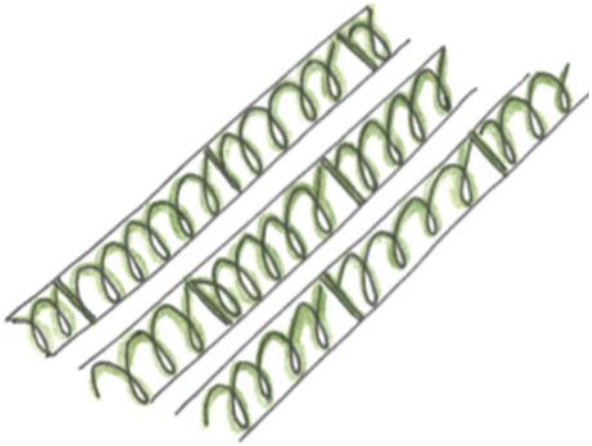
Pohlavne sa rozmnožujú konjugáciou (spájaním). **Konjugácia je formou izogamie**. Samčie a samčie gamety sa od seba morfologicky neodlišujú. **V prípade vláknitých jedincov sa počas konjugácie priblížia k sebe samčie a samičie vlákno**. **Vytvorí sa konjugačný kanál, cez ktorý prejde cytoplazma z bunky samčieho vlákna** (samčie gametangium) **do bunky samičieho vlákna** (samičie gametangium) a **po splynutí gamet sa vytvorí diploidná zygospóra (zygota)**. **Zygospórou prečkávajú pokojové obdobie** (u zástupcov z mierneho pásma koniec leta, jeseň a zimu). Po ňom prebehne meióza (po ktorej môžu zaniknúť 2 alebo 3 haploidné jadrá) a vyrastú opäť haploidné vlákna. Niekedy môžu byť do konjugačného procesu zapojené aj všetky (alebo takmer všetky) bunky samčieho aj samičieho vlákna. Vytvorí sa tak veľa konjugačných kanálov a celý tento útvar pripomína rebrík. Hovoríme **o rebríčkovej (skalariformnej) konjugácii**. U niektorých vláknitých zástupcov však dochádza aj k tzv. laterálnej konjugácii medzi susednými bunkami

jedného vlákna. Konjugovať môžu aj jednobunkoví zástupcovia, u mnohých druhov však nie je pohlavné rozmnožovanie známe. Vláknité druhy sa môžu rozmnožovať nepohlavne aj rozpadom vlákien (Hall a McCourt, 2017).

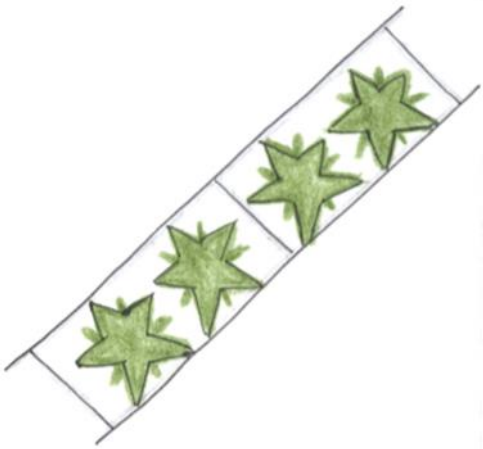
Zaujímavosťou je, že riasy zo skupiny **Zygnematophyceae sú pravdepodobne najbližšími príbuznými suchozemských rastlín** (Embryophyta). Túto skutočnosť podporujú fylogenetické analýzy jadrových (Wickett a kol., 2014) aj chloroplastových génov (Civáň a kol., 2014).

Tradične sa Zygnematophyceae delia do dvoch radov – **Zygnematales s neornamentovanou bunkovou stenou a Desmidiales s ornamentovanou bunkovou stenou**. Fylogenetické analýzy však ukazujú, že rad Zygnematales je parafyletickým zoskupením línií, z jednej z ktorých vznikol predchodca monofyletického taxónu Desmidiales (Leliaert a kol., 2012).

Zygnematales sú kokálne (napr. rody *Mesotaenium* a *Cylidrocystis*) alebo **trichálne riasy** (napr. rody *Spirogyra*, *Mougeotia* a *Zygnema*) **bez ornamentácie bunkovej steny a bez členenia buniek na dve semicely** (polbunky). *Spirogyra* sp. (obr. 25.24) je trichálna riasa nazývaná aj závitnicovka. Toto pomenovanie dostala, lebo bunky jej vegetatívnych vlákien obsahujú jeden (niekedy viacero) **špirálovito stočený chloroplast**. Je to skôr mokradný zástupca, ale nájdeme ho aj vo vlhkej pôde a na vlhkých skalách. *Zygnema* sp. (obr. 25.25) je trichálna riasa nazývaná aj jarmovka. V každej bunke vlákna má dva **hviezdicovité chloroplasty**. Rod *Mougeotia* má plochý doštičkovitý chloroplast.



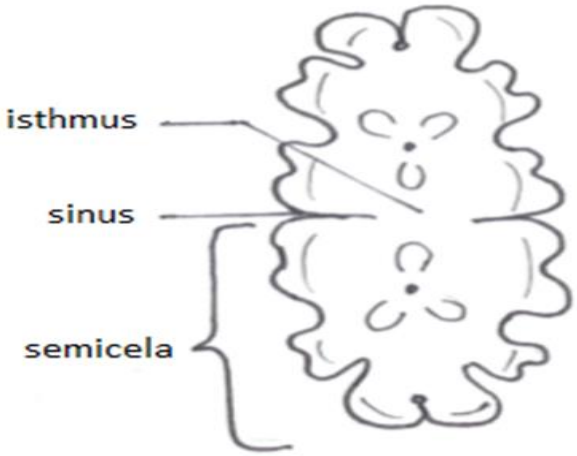
Obr. 25.24. **Spirogyra *sp.***



Obr. 25.25. **Zygnema *sp.***

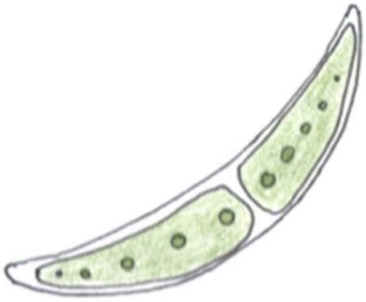
Desmidiales (desmídie, po česky krásivky) sú **kokálne alebo trichálne riasy s ornamentovanou bunkovou stenou**. **Ich bunky sú zárezom** (sinus) **rozdelené na dve symetrické polovice – semicely** (polbunky) (obr. 25.26). Každá semicela obsahuje jeden chloroplast (výnimočne dva chloroplasty) s jedným alebo viacerými pyrenoidmi. **Zúženina v strede bunky, ktorá spája semicely sa nazýva isthmus.** V tejto časti bunky sa nachádza jadro. **Semicely sú obyčajne členené na laloky** (bazálne, bočné, apikálne). **Počas delenia buniek sa semicely začnú od seba oddeľovať a ku každej začne dorastať nov**á (obr. 25.27). Môžeme teda konštatovať, že jednotlivé **polovice každej bunky nie sú rovnako staré**. Pohlavne sa rozmnožujú konjugáciou, pričom vzniká hrubostenná zygospóra obyčajne s výrastkami na povrchu. U mnohých druhov však nebola zatiaľ pozorovaná (Hall a McCourt, 2017). Vyskytujú sa v plytkých zarastených vodách, ktoré sú slabo kyslé (napr. rašeliniská). Medzi jednobunkových (kokálnych) zástupcov patria napr. rody *Closterium*, *Euastrum*,

Micrasterias a *Cosmarium*. Rod *Closterium* (obr. 25.28) má jemne zahnuté pretiahnuté bunky rožtekovitého tvaru, ktoré nie sú členené na laloky. Sínus nie je viditeľný. Rod *Euastrum* (obr. 25.29) má ploché symetrické bunky, zväčša oválne, so zárezom na vrchole. Bočné laloky má rôzne veľké. Rod *Micrasterias* (obr. 25.30) má ploché bunky, ktoré sú výrazne členené zárezmi na laloky, takže výsledný tvar buniek je hviezdicovitý. Rod *Cosmarium* (obr. 25.31) má tiež ploché bunky, ktoré môžu mať rôzny tvar, ale nikdy nie sú členené na laloky. Okraje bunky môžu byť vlnité. Bunková stena je výrazne ornamentovaná. Príkladom vláknitého zástupcu je napr. rod *Desmidium* (obr. 25.32). Vlákna sú skrutkovito stočené. Na priereze vlákna možno pozorovať členenie buniek na laloky rovnako ako u väčšiny jednobunkových zástupcov.

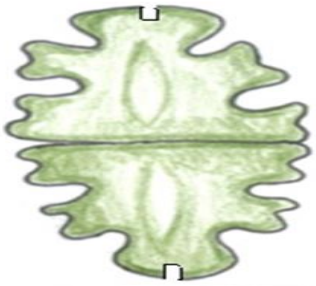


Obr. 25.26. Stavba buniek Desmidiales

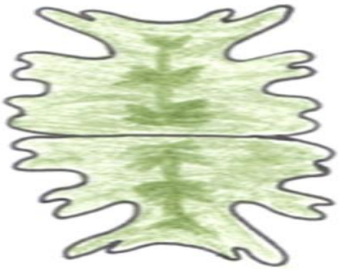
Obr. 25.27. Delenie buniek Desmidiales



Obr. 25.28.* Closterium *sp.

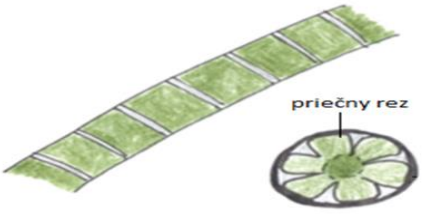


Obr. 25.29.* Euastrum *sp.



Obr. 25.30.* Micrasterias *sp.

Obr. 25.31.* Cosmarium *sp.



Obr. 25.32.* Desmidium *sp.

25.2.3.2.4.2 Coleochaetophyceae

Patria sem zástupcovia **s heterotrichálnou stielku, pričom vlákna môžu byť zrastené tak, že celkový tvar stielky je plochý – diskovitý**. Z každej bunky vychádza dlhý tenký výbežok (derivát bunkovej steny) (Adl a kol., 2012). Rozmnožujú sa pohlavne oogamiou a nepohlavne zoospórami alebo fragmentáciou stielky. *Coleochaete* je kosmopolitný sladkovodný rod žijúci epifyticky (na vodných rastlinách) alebo na kameňoch.

25.2.3.2.4.3 Charophyceae

Táto skupina je typická svojimi **makroskopickými pletivovými stielkami** (od niekoľko cm po niekoľko dm), ktoré sú často **kalcifikované uhličitanom vápenatým**. Stavba stielky na prvý pohľad pripomína prasličku. **Stielky sú haploidné** (gametofyt) a skladajú sa z **rhizoidov** (korienky prichytené k substrátu), **nódov** (uzlov) tvorených jednojadrovými bunkami a **internodálnych oblastí** tvorených pretiahnutými mnohojadrovými bunkami. **Z nódov vyrastajú praslenovito usporiadané bočné vetvy.** Rozmnožujú sa nepohlavne fragmentáciou stielky alebo rozmnožovacími telieskami medzi rizoidmi a **pohlavne oogamiou**. Samčie rozmnožovacie útvary (anterídiá) sú oranžové a samičie (oogóniá) sú zelené. Anterídiá vyrastajú pod oogóniami. Po oplodnení oosféry (vajíčka) pohyblivým spermatozoidom (spermiou) vzniká zygota, ktorá je jediným diploidným štádiom ich životného cyklu. Po meióze dochádza k vzniku rezistentných spór, ktoré sú väčšinou kalcifikované a dobre fosilizujú. **Fosílne spóry** sa nazývajú **gyrogonity** (Adl a kol., 2012; Leliaert a kol., 2012; McCourt a kol., 2017). Na základe morfológie sa dlho sa predpokladalo, že Charophyceae sú najbližšími príbuznými suchozemských rastlín (Embryophyta). Na základe fylogenetických analýz sa tento predpoklad však nepotvrdzuje. Evolučne najbližšou skupinou Embryophyta sú pravdepodobne Zygnematophyceae (Civáň a kol., 2014; Wickett a kol., 2014). Zástupcovia Charophyceae sú prevažne **sladkovodní** a citliví na znečistenie vody. Patria sem napr. rody *Chara* (obr. 25.33), *Nitella* a *Tolypella*.

Obr. 25.33. **Chara** ***sp.***

25.2.3.2.4.4 Embryophyta

Do tejto skupiny patria **suchozemské rastliny** (napr. machy, pečeňovky, rožteky, prasličky, paprade atď.).

Literatúra

ADL, S. M. a kol. 2005. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. J Eukaryot Microbiol 52, 399-451.

ADL, S. M. a kol. 2012. The revised classification of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 59, 429-493.

ADL, S. M. a kol. 2019. Revisions to the classification, nomenclature and diversity of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 66, 4-119.

BAČKOR, M. 2007. Systematika nižších rastlín I. (sinice, riasy, slizovky). Košice: Univerzita P. J. Šafárika.

BECKER, B. – MARIN, B. 2009. Streptophyte algae and the origin of embryophytes. Ann Bot 103, 999-1004.

BERENGUER, J. a kol. 1987. Penicillin-binding proteins in the cyanelles of *Cyanophora paradoxa*, an eukaryotic photoautotroph sensitive to beta-lactam antibiotics. FEBS Lett 224, 401-405.

BUTTERFIELD, N. J. 2009. Modes of pre-Ediacaran multicellularity. Precambrian Res 173, 201-211.

CIVÁŇ, P. a kol. 2014. Analyses of charophyte chloroplast genomes help characterize the ancestral chloroplast genome of land plants. Genome Biol Evol 6, 897-911.

GIBSON, T. M. a kol. 2017. Precise age of *Bangiomorpha pubescens* dates the origin of eukaryotic photosynthesis. Geology 46, 135-138.

HADARIOVÁ, L. a kol. 2018. Reductive evolution of chloroplasts in non-photosyntetic plants, algae and protists. Curr Genet 64, 365-387.

HALL, J. D. – McCOURT, R. M. 2017. Zygnematophyta. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 135-164.

HALLMANN, A. 2011. Evolution of reproductive development in the volvocine algae. Plant Sex Reprod 24, 97-112.

KALINA, T. 2001. Systém a vývoj sinic a řas. Praha: Karolinum.

KIES, L. 1992. Glaucocystophyceae and other protists harboring prokaryotic endosymbionts. In Reisser, W. (ed.), Algae and symbioses. Bristol: Biopress, 353-377.

KIES, L. – KREMER, B. P. 1986. Typification of the Glaucocystophyta. Taxon 35, 128-135.

KIES, L. – KREMER, B. P. 1990. Phylum glaucocystophyta. In Margulis, L. a kol. (eds.), Handbook of Protoctista, Boston: Jones & Bartlett, 152-166.

KNOLL, A. H. 2003. Life on a young planet: The first three billion years of evolution on Earth. 1st edition. Princeton: Princeton University Press.

LELIAERT, F. a kol. 2012. Phylogeny and molecular evolution of the green Algae. Crit Rev Plant Sci 31, 1-46.

LELIAERT, F. a kol. 2016. Chloroplast phylogenomic analyses reveal the deepest-branching lineage of the Chlorophyta, Palmophyllophyceae class. nov. Sci Rep 6, 25367.

McCOURT, R. M. a kol. 2017. Charophyceae (Charales). In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 165-184.

MARIN, B. 2012. Nested in the Chlorellales or independent class? Phylogeny and classification of the Pedinophyceae (Viridiplantae) revealed by molecular phylogenetic analyses of complete nuclear and plastid-encoded rRNA operons. Protist 163, 778-805.

MARTIN, W. a kol. 1998. Gene transfer to the nucleus and the evolution of chloroplasts. Nature 393, 162-165.

MATSUZAKI, M. a kol. 2004. Genome sequence of the ultrasmall unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D. Nature 428, 653-657.

MUÑOZ-GÓMEZ, S. A. a kol. 2017. The new red algal subphylum Proteorhodophytina comprises the largest and most divergent plastid genomes known. Curr Biol 27, 1677-1684.

PASHER, A. 1929. Studien über Symbiosen. I. Über einige Endosymbiosen von Blaualgen in Einzellern. Jahrbücher für Wissenschaftliche Botanik 71, 386-462.

PRICE, D. C. a kol. 2017. Glaucophyta. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 23-88.

PRICE, D. C. a kol. 2012. *Cyanophora paradoxa* genome elucidates origin of photosynthesis in algae and plants. Science 335, 843-847.

REYES-PRIETO, A. – BHATTACHARYA, D. 2007. Phylogeny of nuclear-encoded plastid-targeted proteins supports an early divergence of glaucophytes within plantae. Mol Biol Evolution 24, 2358-2361.

REYES-PRIETO, A. – WEBER, A. P. – BHATTACHARYA, D. 2007. The origin and establishment of the plastid in algae and plants. Annu Rev Genet 41, 147-168.

SCHENK, H. E. A. 1994. Cyanophora paradoxa: Anagenetic model or missing link of plastid evolution? Endocytobiosis & Cell Research 10, 87-106.

TURMEL, M. a kol. 2009. The chloroplast genomes of the green algae *Pyramimonas*, *Monomastix*, and *Pycnococcus* shed new light on the evolutionary history of prasinophytes and the origin of the secondary chloroplasts of euglenids. Mol Biol Evol 26, 631-648.

YOON. H. S. a kol. 2017. Rhodophyta. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 89-134.

WICKETT, N. J. a kol. 2014. Phylotranscriptomic analysis of the origin and early diversification of land plants. Proc Natl Acad Sci USA 111, E4859-E4868.

26 SAR

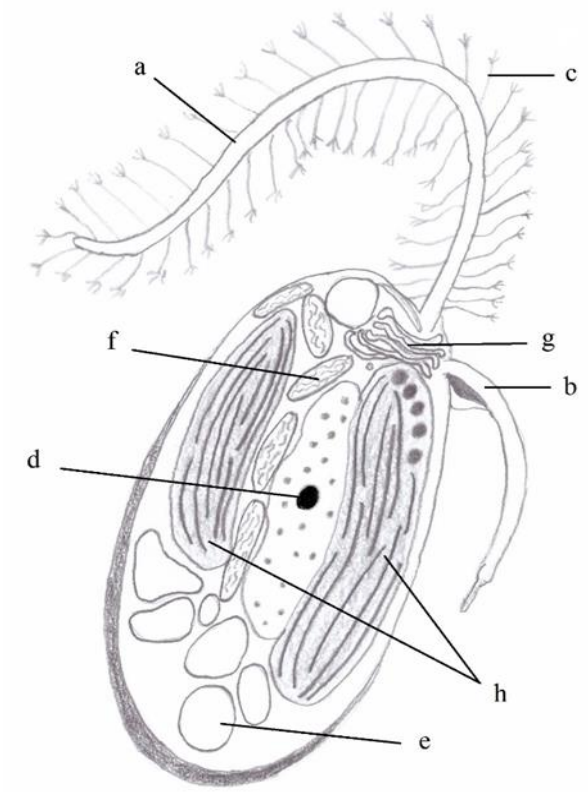
Diana Jelenčíková, Dominika Ihradská, Matej Vesteg

SAR je zoskupenie eukaryotických organizmov patriacich do taxónov **Stramenopiles, Alveolata a Rhizaria**, podporené fylogenetickými a fylogenomickými štúdiami (Adl a kol., 2012, 2019). Všetky tri skupiny predstavujú pomerne **heterogénne zoskupenie autotrofných a heterotrofných línií**, ktoré **môžu alebo nemusia obsahovať chloroplasty**. Medzi Stramenopiles patria napr. makroskopické hnedé riasy alebo rozsievky, ale tiež oomycéty, ktoré sa kedysi radili k hubám alebo ľudský parazit rodu *Blastocystis*. Do skupiny Alveolata patria napríklad autotrofné a heterotrofné panciernatky (Dinoflagellata, synonymum Dinophyta, po česky obrněnky), Ciliata (synonymum Ciliophora, t. j. nálevníky, ako napr. črievička) alebo parazity zo skupiny Apicomplexa (výtrusovci, ako napr. pôvodca malárie *Plasmodium falciparum*). Rhizaria nemajú jasné spoločné morfologické ani molekulárne charakteristiky, ale ich monofília (spoločný pôvod) je dobre doložená na základe fylogenetických analýz (Katz, 2012). Zástupcovia Rhizaria sú prevažne améby a mnohí majú schránky. **Najbližšími príbuznými** skupiny **SAR** sú pravdepodobne zástupcovia zo skupiny **Telonemida** (viď kapitola 28.6), a preto bolo nedávno navrhnuté, aby boli spoločne s nimi radení do taxónu **TSAR** (Strassert a kol., 2019).

26.1 Stramenopiles

Skupina **Stramenopiles** zahŕňa veľmi rôznorodé organizmy – morské aj sladkovodné, fototrofné aj heterotrofné, jednobunkové aj mnohobunkové. Spoločný predok Stramenopiles mal pravdepodobne **dva funkčne a morfologicky diferencované (heterokontné) bičíky**, preto sa nazývajú aj **Heterokontophyta**. **Anteriorny bičík** (smerujúci dopredu) je označovaný aj ako **pleuronematický**, je zvyčajne **dlhší** a **má tripartitné mastigonémy** (vlásky) **v dvoch radoch oproti sebe**. **Posteriorny bičík** (smerujúci dozadu) je označovaný aj ako **akronematický**, je zvyčajne **kratší bez mastigoném** (často redukovaný) a je často asociovaný so stigmou (obr. 26.1). Heterokontnú morfológiu si už však zachovali len niektoré línie Stramenopiles a u niektorých mnohobunkových línií (napr. hnedé riasy) je takáto morfológia zachovaná len u jednobunkových štádií slúžiacich na pohlavné alebo nepohlavné rozmnožovanie. U rozsievok (Bacillariophyceae) sa napr. takáto morfológia nevyskytuje v žiadnom štádiu životného cyklu. Spoločným znakom skupiny Stramenopiles sú aj **tubulárne mitochondriové kristy** (Adl a kol., 2012, 2019).

Fotosyntetické skupiny Stramenopiles patriace do taxónu **Ochrophyta**, niekedy nazývané aj **Chromophyta**, majú **sekundárne chloroplasty obalené štyrmi membránami**. Ich chloroplasty **vznikli sekundárnou endosymbiózou z červenej riasy**. Chloroplasty **nemajú nukleomorf** (zvyšok jadra riasy). **Štvrtá membrána chloroplastou je kontinuálna s membránou ER**. **Zásobná látka** je polysacharid **chryzolaminarín**. Chloroplasty obsahujú **chlorofyly *a* a *c*** a zvyčajne aj pomocný pigment **fukoxantín**. Kombinácia týchto pigmentov im poskytuje **hnedú, žltohnedú, žltozelenú alebo hnedozelenú farbu**. **Bazálne línie Stramenopiles sú bezfarebné a nemajú chloroplasty**. To naznačuje, že k diverzifikácii na bazálne línie došlo ešte pred získaním chloroplastov predka skupiny Ochrophyta. Iná hypotéza však v minulosti predpokladala, že všetky bezfarebné skupiny vznikli stratou sekundárneho endosymbionta a jeho chloroplastu (Cavalier-Smith a Chao, 2006).



Obr. 26.1. Stavba bunky Stramenopiles. *a – pleuronematický bičík, b – akronematický bičík, c – mastigonémi, d – jadro, e – zásobné vakuoly, f – mitochondrie, g – Golgiho aparát, h – fototrofní zástupcovia zo skupiny Ochrophyta majú chloroplasty obalené štyrmi membránami, ktoré vznikli sekundárnou endosymbiózou z červených rias.*

Systematika skupiny Stramenopiles je pomerne komplikovaná a neustále sa mení (Cavalier-Smith a Chao, 2006; Adl a kol. 2012, 2019). Cavalier-Smith a Chao (2006) vyčlenili **fotosyntetizujúcich zástupcov Stramenopiles** do samostatnej skupiny **Ochrophyta** a **heterotrofných zástupcov** do kmeňov **Pseudofungi a Bigyra**. K pomerne veľkej revízii došlo aj v roku 2019 (Adl a kol., 2019). V tomto prehľade systému Stramenopiles uvádzame charakteristiku len niektorých najznámejších skupín.

Medzi výhradne **heterotrofné skupiny** patria napr. **Bicosoecida, Pseudofungi, Labyrinthulomycetes, Opalinata a rod *Blastocystis***. Do skupiny **Ochrophyta** patria napr. skupiny **Bacillariophyta (Diatomeae, rozsievky), Chrysophyceae (žltohnedé riasy), Phaeophyceae (chaluhy, hnedé riasy) a Xanthophyceae (žltozelené riasy), Raphidophyceae (zelenivky) a Eustigmatophyceae**. Niektorí zástupcovia Ochrophyta však stratili schopnosť fotosyntézy.

26.1.1 Bigyra

Do tejto skupiny patria **heterotrofní, prevažne fagotrofní zástupcovia**, ktorým vo vegetatívnych štádiách chýba bunková stena. Podľa najnovšieho systému (Adl a kol., 2019) sa táto skupiny rozdeľuje na taxóny **Opalozoa** a **Sagenista**.

Medzi **Opalozoa** sa radia skupiny **Nanomonadea, Opalinata, Placidida a Bicosoecida**. Medzi **Sagenista** sa radia skupiny **Pseudophyllomitidae** a **Labyrinthulomycetes** (Adl a kol., 2019).

26.1.1.1 Opalinata

Opalinata sú **endobionti žijúci v črevách rýb, obojživelníkov, plazov a cicavcov**. Zástupcovia skupiny **Proteromonadea** majú **len jedno jadro a jeden až dva páry anizokontných bičíkov**. Zástupcovia skupiny **Opalinea** majú **mnoho bičíkov** a **dve až mnoho jadier**. Ich bičíky sú usporiadané v šikmých pozdĺžnych radoch alebo zástupoch. Mnohobičíkatí zástupcovia na prvý pohľad pripomínajú nálevníky (Ciliophora). Patrí sem napr. rod *Opalina* (Adl a kol., 2012, 2019; Kostka, 2017).

26.1.1.2 *Blastocystis*

Heterotrofný rod ***Blastocystis*** je **parazit** (alebo komenzalista) **stavovcov i človeka**. Spôsobuje **gastrointestinálne ochorenie – blastocystózu**. Cysty sa prenášajú stolicou. Ukazuje sa, že hoci **nemá bičíky**, je pravdepodobne príbuzný skupiny Opalinata, kam je aj podľa najnovšieho systému zaraďovaný. Bičíky pravdepodobne sekundárne stratil (Adl a kol., 2012, 2019; Kostka, 2017)

26.1.1.3 Bicosoecida

Bicosoecida sú morské alebo sladkovodné jednobunkové heterotrofné bičíkovce s typickou heterokontnou morfológiou, tripartitné mastigonémy však môžu aj chýbať. Žijú voľne alebo v lorike, niekedy aj prisadnuto, niektoré sú koloniálne. Majú cytostóm a živia sa fagocytózou. Patria sem napr. rody *Bicosoeca* a *Cafeteria* (Adl a kol., 2012, 2019).

26.1.1.4 Labyrinthulomycetes

Labyrinthulomycetes vytvárajú ektoplazmatickú sieť pospájaných rozvetvených filamentov pomocou špecializovaných organel – botrozómov. Majú šupiny, ktoré vznikajú v GA. Niektoré druhy majú zoospóry s dvoma laterálnymi bičíkmi. Príkladom zástupcu je rod *Labyrithula* (Adl a kol., 2012, 2019; Bennett a kol., 2017).

26.1.2 Gyrista

Táto skupiny zahrňuje **heterotrofné taxóny bez plastidov** – **Developea, Hyphochytriales, Oomycetes (Peronosporomycetes), Pirsoniales a Actinophryidae**, ale aj **taxóny so sekundárnymi plastidmi** – **Ochrophyta** (Adl a kol., 2019).

26.1.2.1 Pseudofungi

Heterotrofné taxóny **Hyphochytriales a Oomycetes** (ale niekedy aj skupina Developea) sú niekedy radené aj do taxónu **Pseudofungi**. Zatiaľ čo Developea sú voľne žijúce jednobunkovce bez schránok s typickou heterokontnou morfológiou, **Hyphochytriales a Oomycetes** (Peronosporomycetales, oomycéty) sú **mnohobunkové** vodné alebo

suchozemské organizmy, ktorých vegetatívne štádiá vzhľadom a tvorbou „hýfam“ podobného systému **pripomínajú huby**, preto boli medzi ne kedysi aj radené. Podobne ako huby sa aj živia **saprotrofne (osmotrofne) alebo paraziticky**. S hubami však nie sú príbuzné.

Hypochytridiales môžu vytvárať zoospóry s jedným anteriornym bičíkom. Zástupcom je napr. rod *Hypochytrium*.

Zoospóry skupiny **Oomycetes** majú zvyčajne dva (niekedy len jeden) bičíky, pričom anteriorny je kratší. Omycéty majú glukán-celulózové bunkové steny, niekedy s prímesou malého množstva chitínu. **Pohlavne** sa rozmnožujú **oogamiou**. Po splynutí pohlavných buniek vznikajú **hrubostenné oospóry**. Typickými zástupcami oomycét sú rody *Peronospora* a *Phytophthora* (Adl a kol., 2012, 2019; Bakes a Thines, 2017).

26.1.2.2 Actinophryidae

Zástupcovia tejto skupiny **vzhľadom pripomínajú Centrohelida** (v minulosti známe aj ako Heliozoa, viď kapitola 28.7.2), a preto tam boli aj dlho radené. Sú to heterotrofné **meňavky (améby) bez bičíkov s radiálnymi axopódiami** (tenké nevetvené panôžky vystužené mikrotubulami) vybiehajúcimi približne zo stredu bunky. Na axopódiách majú dva typy extruzómov na chytanie koristi. Majú jedno centrálne jadro alebo niekoľko periférnych jadier (Adl a kol., 2012, 2019; Gast, 2017).

26.1.2.3 Ochrophyta

Do skupiny **Ochrophyta** (synonymum **Chromophyta**) patria skupiny Stramenopiles **so sekundárnymi chloroplastami obalenými štyrmi membránami bez nukleomorfu**. **Štvrtá membrána chloroplastu je kontinuálna s ER** (pokrytá ribozómami). Chloroplasty zvyčajne **obsahujú chlorofyl *a* a *c*$_1$** a často aj *c*$_2$ (Adl a kol., 2012, 2019). Niektorí zástupcovia sekundárne stratili fotosyntézu. Podľa najnovšieho systému sa rozdeľujú na dve skupiny – **Diatomista a Chrysista** (Adl a kol., 2019).

26.1.2.3.1 Diatomista

Do tejto skupiny patria **jednobunkové riasy alebo ich zoskupenia**. Bunky **nemajú bunkovú stenu, ale môžu mať kremičité schránky alebo šupiny**. Patria sem skupiny **Bolidophyceae, Diatomeae** (synonymum Bacillariophyta, v niektorých systémoch Bacillariophyceae, po slovensky rozsievky), **Dictyochophyceae, Pelagophyceae a Pinguiophyceae** (Adl a kol., 2019).

26.1.2.3.1.1 Bolidophyceae

Do tejto skupiny patria **morské fototrofné jednobunkové riasy príbuzné rozsievkam**, ktoré môžu byť pohyblivé alebo nepohyblivé. **Pohyblivé bunky** majú **typickú heterokontnú morfológiu**. **Nepohyblivé bunky** sú **pokryté kremičitými šupinami**. Typickým zástupcom je rod *Bolidomonas* (Adl a kol., 2012, 2019).

26.1.2.3.1.2 Diatomeae

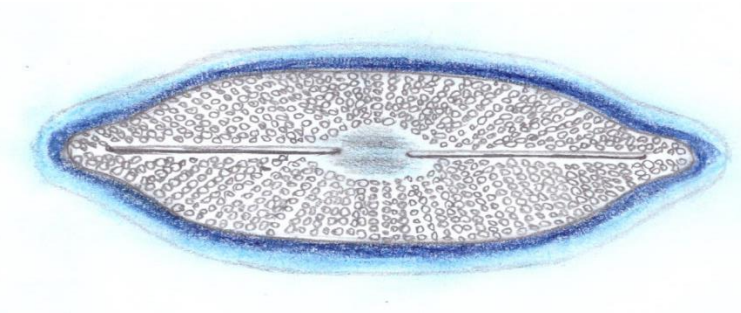
Diatomeae (po angl. diatoms, po slovensky **rozsievky**) sa zvyknú označovať aj ako **Bacillariophyta** a v niektorých systémoch ako **Bacillariophyceae**. V systéme podľa Adl a kol. (2019) sú však Bacillariophyceae len jednou skupinou rozsievok.

Rozsievky sú **jednobunkové,** v niektorých prípadoch **koloniálne riasy**, ktoré sa nachádzajú takmer vo všetkých vodných biotopoch. Väčšina je morská, ale mnohí zástupcovia sú aj sladkovodní. Môžu sa vyskytovať ako súčasť planktónu, no väčšina sa vyskytuje v bentose. Niektoré žijú aj na vlhkých substrátoch, ako sú pôda, horniny, machy alebo vodné rastliny (Mann a kol., 2017).

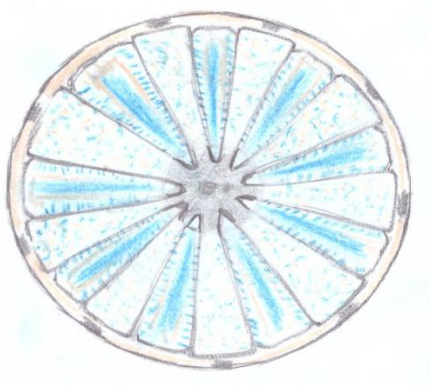
Väčšina rozsievok je **voľne žijúca a fototrofná**, niektoré sú však **bezfarebné** (heterotrofné). Mnohé rozsievky sú aj **fotosyntetickí symbionti** iných organizmov. Sekundárne chloroplasty rozsievok sú rovnako ako v prípade všetkých Ochrophyta obalené štyrmi membránami, vznikli sekundárnou endosymbiózou z červených rias a nemajú nukleomorf. Chloroplasty obsahujú chlorofyly *a*, c_1 a c_2, ale aj pigment **fukoxantín**, ktorý dáva bunkám charakteristickú **hnedú farbu**.

Bunky rozsievok majú na povrchu **pevnú kremičitú schránku**, ktorá sa nazýva **frustula**. Frustulu tvoria **dve časti** nazývané **valvy** – **vrchná epitheca** (epivalva) a **spodná hypotheca** (hypovalva). Schránky rozsievok môžu byť **bilaterálne symetrické** (súmerné) – **penátne rozsievky** (obr. 26.2) alebo **radiálne** (lúčovito) **symetrické – centrické rozsievky** (obr. 26.3) (Lee, 2008; Mann a kol., 2017).

Hoci rozsievky **vo vegetatívnych štádiách nikdy nemajú bičíky**, penátne rozsievky majú schopnosť kĺzavého pohybu po povrchu substrátu, čo zanecháva sliznatú stopu (Mann a kol., 2017). Sliz je u penátnych rozsievok vylučovaný cez pozdĺžnu štrbinu raphe tiahnucu sa pozdĺžnou osou oboch valv (viditeľnú na obr. 26.2), ktorú centrické rozsievky nemajú.



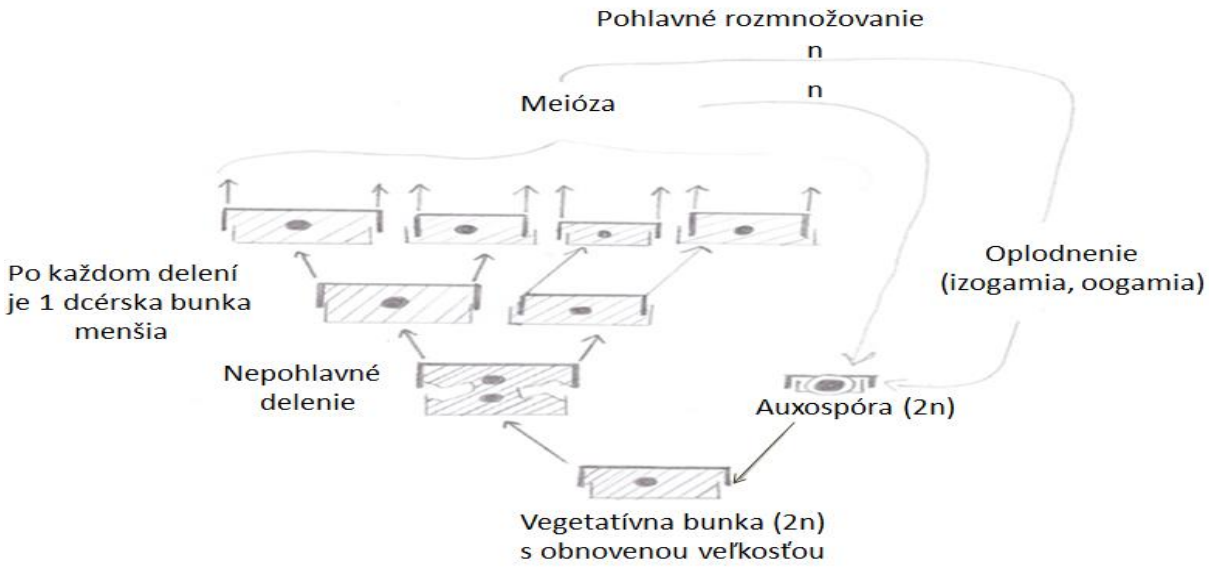
Obr. 26.2. Penátna rozsievka



Obr. 26.3. Centrická rozsievka

Rozsievky sú **vo vegetatívnych štádiách diploidné**. **Pri nepohlavnom rozmnožovaní** rozsievok sa **jedna diploidná bunka delí na dve diploidné bunky**, pričom **epivalva aj hypovalva rodičovských buniek sa** vždy **stane epivalvou dcérskych buniek** a **každá dcérska bunka vyprodukuje novú hypovalvu**. V dôsledku takéhoto delenia buniek má **jedna z dcérskych buniek rovnakú veľkosť ako materská bunka a druhá je menšia**. V populácii rozsievok tak **po viacnásobnom nepohlavnom delení buniek dochádza k neustálemu zmenšovaniu väčšiny buniek**. **Veľkosť buniek rozsievok sa obnoví na pôvodnú až po pohlavnom rozmnožovaní** (Lee 2008; Mann a kol., 2017; obr. 26.4).

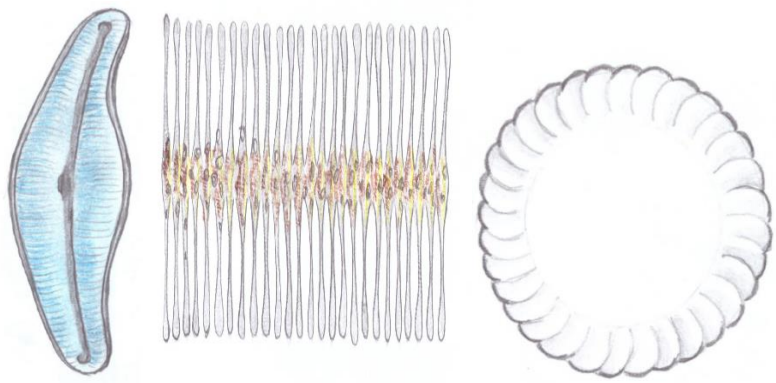
Sexuálna reprodukcia u rozsievok môže nastať až až keď sa bunky zmenšia na minimálnu veľkosť (zvyčajne 30-40% ich maximálnej veľkosti). Druhou podmienkou sú vhodné podmienky prostredia – teplotu, svetelný režim, prítomnosť živín, stopových kovov, organických rastových faktorov a osmolarity (Edlund a Stoermer, 1997).



Obr. 26.4. Životný cyklus rozsievok

V prípade centrických rozsievok je **pohlavným rozmnožovaním oogamia**, pričom **haploidné samčie spermatizoidy majú len jeden bičík a samičie pohlavné bunky sú nepohyblivé**. **Penátne rozsievky** sa rozmnožujú zvyčajne **izogamiou**, niektoré však aj **anizogamiou**, pričom ani **pohlavné bunky nemajú nikdy bičíky** (Adl a kol., 2012). **Po splynutí gamét vznikajú** najprv tzv. **auxospóry**, ktoré sa neskôr diferencujú na tzv. iniciálne a následne **vegetatívne bunky**, čím sa ich veľkosť obnoví (Mann a kol., 2017; obr. 26.4).

Typickými predstaviteľmi rozsievok sú napr. **penátna rozsievka *Cymbella* sp.** (obr. 26.5), **koloniálna penátna rozsievka *Fragillaria* sp.** (obr. 26.6) alebo centrická **rozsievka *Cyclotella* sp.** (obr. 26.7).



Obr.26.5.* Cymbella *sp. ***Obr. 26.6.* Fragillaria *sp.*** ***Obr. 26.7.* Cyclotella *sp.***

26.1.2.3.2 Chrysista

Do tejto skupiny patria **jednobunkové, koloniálne, vláknité, sifonálne, ale aj makroskopické mnohobunkové riasy s pletivovými stielkami**. Patria sem skupiny **Raphidophyceae (zelenivky), Eustigmatophyceae** (resp. Eustigmatales)**, Chrysophyceae (žltohnedé riasy), Xanthophyceae (žltozelené riasy), Phaeophyceae (chaluhy, hnedé riasy), Phaeothamniophyceae a Schizocladia** (Adl a kol., 2019).

26.1.2.3.2.1 Raphidophyceae

Raphidophyceae (SAR, Stramenopiles, Ochrophyta) sú morské alebo sladkovodné bičíkovce **s dvomi heterokontnými bičíkmi** (jeden smerujúci anteriorne s mastigonémami, druhý posteriorne bez mastigoném). Bunky majú **vymrštiteľné telieska, trichocysty** (extruzómy). **Cytoplazma** je **rozdelená na** vonkajšiu a vnútornú časť **– ektoplazmu a endoplazmu**, pričom **vonkajšia ektoplazma obsahuje chloroplasty** obalené štyrmi membránami. Obsahujú chlorofyl *a* a *c*. Morské druhy obsahujú karotenoidy fukoxantín a violaxantín, sladkovodné heteroxantín a vaucherioxantín (Adl a kol., 2019). Niektorí morskí zástupcovia (napr. rod *Chattonella*) produkujú toxíny spôsobujúce úhyn rýb. Typickými sladkovodnými rodmi sú napr. *Gonyostomum* alebo *Vacuolaria* (Horiguchi, 2017).

26.1.2.3.2.2 Eustigmatophyceae

Eustigmatophyceae (Eustigmatales) boli v minulosti radené do skupiny Xanthophyceae. Sú to **jednobunkové, fotosyntetické, vo vegetatívnych štádiách kokálne** (jednobunkové bezbičíkaté) alebo koloniálne mikroorganizmy. Bičíkaté štádiá (zoospóry) môžu mať jeden alebo dva bičíky. Majú stigmu uloženú **mimo chloroplastu**, ktorý má štyri membrány. V plastidoch **chýba chlorofyl *c* a fukoxantín**, ale obsahujú violaxantín. Zástupcovia žijú v sladkých a v slaných vodách alebo v pôde. Príkladmi rodov z tejto skupiny sú *Eustigmatos* a *Nannochloropsis* (Eliáš a kol., 2017; Adl a kol., 2019).

26.1.2.3.2.3 Chrysophyceae

Chrysophyceae (**žltohnedé** alebo „zlaté“ **riasy**) sú prevažne **jednobunkové alebo koloniálne bičíkovce s dvomi heterokontnými bičíkmi**, ale vyskytujú sa u nich aj iné typy stielok. Jeden z bičíkov je **anteriórny** a druhý **laterálny**. **Bunky sú obyčajne pokryté** organickými **šupinami**, šupinami z oxidu kremičitého, organickou **lorikou** alebo celulózovou bunkovú stenu (Kristiansen a Škaloud, 2017).

Chrysophyceae sa môžu vyživovať **fototrofne, osmotrofne, fagotrofne alebo mixotrofne** (kombinácia autotrofie a heterotrofie). Ich **sekundárne plastidy majú štyri membrány**, pričom vonkajšia membrána ER je fyzicky prepojená s vonkajšou vrstvou jadrovej membrány. Plastidy obsahujú **chlorofyly *a*, c_1 a c_2, fukoxantín**, violaxantín, antaxantín a neoxantín. Niektoré skupiny alebo zástupcovia sekundárne stratili fotosyntézu, prípadne aj plastidy (Adl a kol., 2012, 2019). Hlavným **zásobným polysacharidom** je **chrysolaminarín** (Kristiansen a Škaloud, 2017).

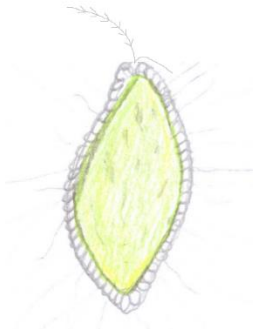
Väčšina druhov je sladkovodná a vyskytuje sa najmä v stojatých vodách, kde môžu byť prítomné v hojných množstvách. Nepriaznivé obdobia môžu prežívať ako **stomatocysty** (Lee, 2008; Kristiansen a Škaloud, 2017).

Do tejto skupiny v súčasnosti radíme skupiny (rady) **Chromulinales, Hibberdiales**, **Ochromonadales, Paraphysomonadida a Synurales**. U zástupcov skupín Chromulinales (napr. rody *Chromulina*, *Chrysomonas* a *Dinobryon*) a Hibberdiales je svetelnou mikroskopiou viditeľný len jeden bičík, pričom u ostatných troch skupín sú viditeľné obidva. Zástupcovia Paraphysomonadida sú nefotosyntetickí, fagotrofní a zástupcovia Ochromonadales majú rôzne formy výživy (Adl a kol., 2019).

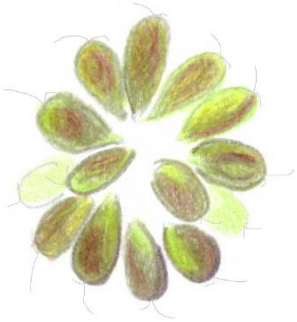
Synurales (resp. Synuraceae) sú v niektorých systémoch samostatnou skupinou a nie sú radené medzi Chrysophyceae (Adl a kol., 2012). Mnohí zástupcovia ako napr. rody ***Mallomonas*** (obr. 26.8) a ***Synura*** (obr. 26.9) majú na povrchu buniek **kremičité šupiny** a rod ***Mallomonas*** **aj kremičité štetinovité výbežky** (obr. 26.8). Odpočinkové spóry (stomatocysty) rodu *Mallomonas* sú tiež uzavreté v kremičitej (silicifikovanej) schránke s koncovým pórom. Rod ***Synura*** vytvára **kolónie guľovitého tvaru** (obr. 26.9) s bičíkmi orientovanými do vonkajšieho prostredia (Kristiansen a Škaloud, 2017).

Dinobryon (obr. 26.10) zo skupiny Chromulinales je **mixotrofný**, vytvárajúci **kolónie bičíkovcov v schránkach** (lorikách), ktorý môže popri fotosyntéze získať až polovicu uhlíka potrebného pre jeho existenciu **požívaním baktérií** (Lee, 2008).

Rody *Uroglena* (koloniálny, zo skupiny Chromulinales), *Mallomonas*, *Synura* a *Dinobryon* sú známe aj svojou produkciou zapáchajúcich látok (Watson a Satchwill, 2003).



Obr. 26.8. **Mallomonas**



Obr. 26.9. **Synura**

Obr. 26.10. **Dinobryon**

26.1.2.3.2.4Xanthophyceae

Xantophyceae sa po slovensky vzhľadom na svoje sfarbenie nazývajú aj **žltozelené riasy**. **Stielky** sú prevažne **kokálne, vláknité alebo sifonálne**. Ich **pohyblivé rozmnožovacie štádia** (zoospóry, prípadne samčie gaméty) majú však **typickú heterokontnú morfológiu**. **Bunková stena** je pravdepodobne väčšinou z celulózy a je buď **celistvá**, **alebo dvojdielna a na priereze v tvare písmena H** (Adl a kol., 2012, 2019).

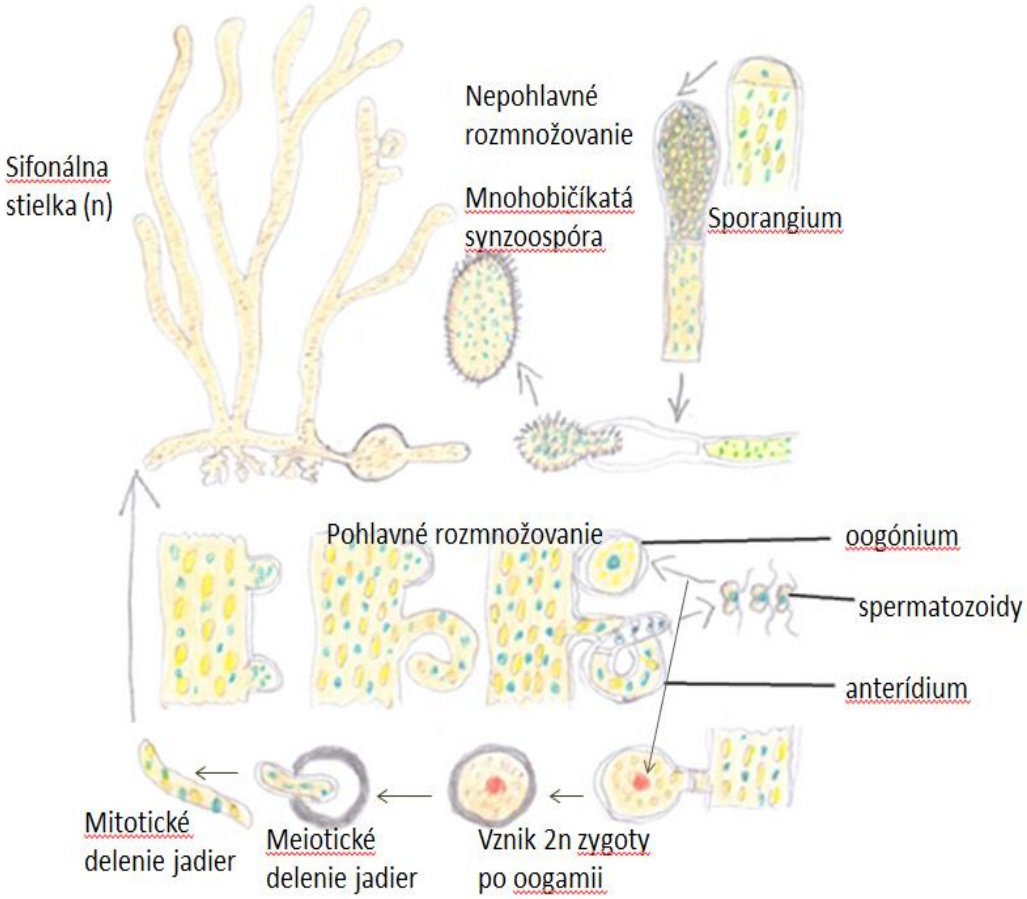
Chloroplasty obsahujú **chlorofyly *a* a *c* a** violaxantín, heteroxantín a vaucherioxantín, no **chýba** im **fukoxantín**. Vonkajšia membrána chloroplastu obaleného štyrmi membránami je kontinuálna s membránou drsného ER a s vonkajšou vrstvou jadrovej membrány rovnako ako u väčšiny ostatných Stramenopiles.

Patria sem **prevažne sladkovodné a suchozemské** (najmä pôdne) riasy. Len zopár zástupcov je morských a brakických. Sú hojné aj v polárnych oblastiach a alpínskom pásme.

Asexuálne sa rozmnožujú **fragmentáciou stielok, zoospórami a aplanospórami** (nepohyblivé spóry). Pohlavné rozmnožovanie je u väčšiny zástupcov neznáme, je však dobre popísané u rodu *Vaucheria* (Maistro a kol., 2017).

Príkladmi rodov z tejto skupiny sú *Xanthonema, Botrydium* a *Tribonema.* Rod ***Botrydium*** **má sifonálnu stielku** tvoriacu **vačky prichytené na vlkom pôdnom substráte rizoidmi**. Rody ***Tribonema*** **a** ***Xanthonema*** majú **vláknitú stielku**, ktorú tvoria bunky s dvojdielnou bunkovou stenou (Maistro a kol., 2017).

Rod ***Vauscheria*** (obr. 26.11) má **sifonálnu** (mnohojadrovú jednobunkovú), **haploidnú stielku**. **Nepohlavne sa rozmnožuje mnohobičíkatými, mnohojadrovými synzoospórami**. **Pohlavne sa rozmnožuje oogamiou**. **Samčie spermatozoidy s heterokontnou morfológiou** sa vytvárajú **v anterídiách** a **vajíčko v oogóniu**. **Po oogamii** (splynutí pohyblivého spermatozoidu s nepohyblivým vajíčkom) dôjde **k meióze bez následnej cytokinézy za vzniku štyroch haploidných jadier**, **ktoré sa ďalej delia mitózou**. Z takéhoto mnohojadrového útvaru následne **vyrastie sifonálna stielka** (Maistro a kol., 2017).



Obr. 26.11. Životný cyklus **Vauscheria** ***sp.***

26.1.2.3.2.5 Phaeophyceae

Phaeophyceae (Phaeophyta, chaluhy, hnedé riasy) sú blízkymi príbuznými skupiny Xanthophyceae. Majú prevažne **vláknité alebo makroskopické pletivové stielky**, ktoré sú **prichytené k substrátu vo vodnom prostredí**. **Pohyblivé jednobunkové štádiá** (gaméty,

zoospóry) majú **dva heterokontné bičíky vystupujúce z laterálnej strany** bunky – anteriorny a posteriorny. **Bunková stena obsahuje celulózu a alginátové zlúčeniny** (Adl a kol., 2012, 2019).

Ich **sekundárne chloroplasty obalené štyrmi membránami** sú pôvodom z červených rias a **obsahujú chlorofyly *a*, c_1 a c_2, ale tiež fukoxantín a violaxantín** (Adl a kol., 2012, 2019). Štvrtá membrána je kontinuálna s ER a jadrovou membránou (Adl a kol., 2012, 2019). Phaeophyceaea majú charakteristickú hnedú farbu v dôsledku prítomnosti veľkého množstva karotenoidu fukoxantínu vo svojich chloroplastoch. Hlavným **zásobným polysacharidom je laminarín** (laminaran) (Kawai a Henry, 2017).

Hnedé riasy sú takmer výhradne v morské. Niektoré obývajú aj brakické vody. Väčšina Phaeophyceae rastie v pobrežnej zóne. Vyskytujú sa prevažne v chladnejších vodách, najmä na severnej pologuli. V tropických oblastiach je miestom ich masového výskytu Sargasové more v Atlantiku (napr. rod *Sargassum*). Majú tiež veľký environmentálny význam ako primárny producenti, fixujú CO_2, produkujú kyslík a DMS (dimetyl sulfid), ktorý slúži ako kondenzačné jadro oblakov.

U hnedých rias sa často stretávame s **rodozmenou – striedaním diploidnej (sporofytu) a haploidnej (gametofytu) generácie**. Rodozmena môže byť izomorfná alebo heteromorfná. V prípade **izomorfnej rodozmeny vyzerá sporofyt a gametofyt rovnako**, v prípade **heteromorfnej rodozmeny sa sporofyt a gametofyt morfologicky odlišujú**. Gametofyty môžu byť samčie a samičie. **Splývanie gamét** môže byť **izogamné, oogamné alebo anizogamné**. Gaméty s výnimkou vajíčok v prípade oogamie majú typickú heterokontnú morfológiu podobne ako **zoospóry slúžiace na nepohlavné rozmnožovanie** (Kawai a Henry, 2017).

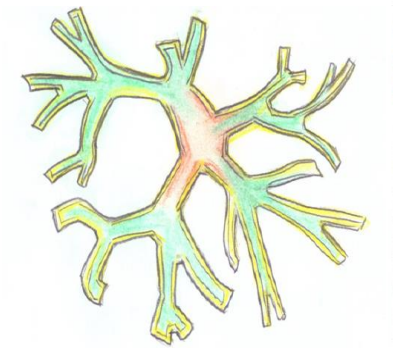
Mnohé hnedé riasy majú aj komerčné využitie. Viaceré rody sú jedlé, napr. *Laminaria* (kombu), *Undaria* (wakame) a *Hizikia* (hiziky). Algináty, ktorá sú súčasťou bunkových stien hnedých rias, sa extrahujú a používajú ako zahusťovadlo potravín (Kawai a Henry, 2017), ale aj na iné účely ako napr. výroba batérií.

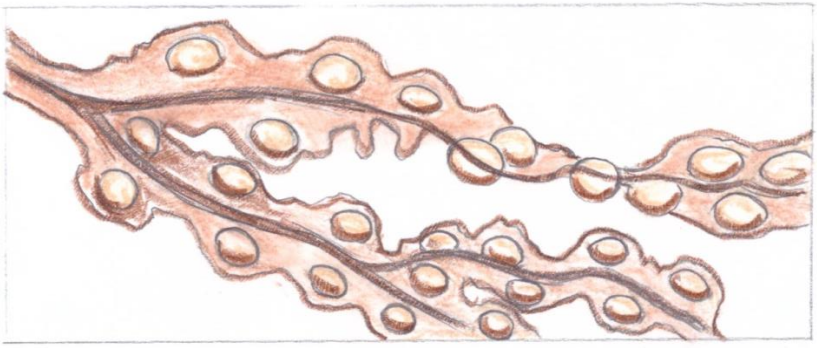
Systematika Phaeophyceae je v súčasnosti založená najmä na fylogenetických analýzach. Medzi najznámejšie skupiny (rady) hnedých rias patria **Dictyotales, Ectocarpales, Fucales a Laminariales** (Adl a kol., 2019).

Dictyotales majú **izomorfnú rodozmenu a oogamické pohlavné rozmnožovanie**. Majú plastidy diskovitého tvaru bez pyrenoidu (Adl a kol., 2019). Typickým predstaviteľom je kozmopolitný rod *Dictyota*. Zástupca *Dictyota dichotoma* (obr. 26.12) je hojný aj v Stredozemnom mori, podobne ako zástupca *Padina pavonica* z tejto skupiny, ktorý má vejárovitú mierne kalcifikovanú stielku.

Ectocarpales majú **vetvenú alebo nevetvenú vláknitú stielku** tvorenú jedným radom buniek. Majú **izomorfnú rodozmenu** a izogamické, anizogamické alebo oogamické pohlavné rozmnožovanie. Plastidy sú pásovitého tvaru a majú pyrenoid (Adl a kol., 2019). Typickým predstaviteľom je rod *Ectocarpus* (Kawai a Henry, 2017).

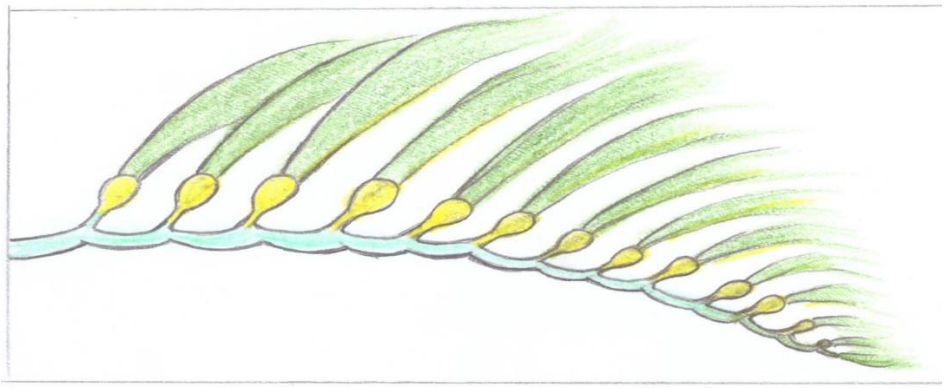
U zástupcovia skupiny **Fucales sú prevažnú väčšinu svojho životného cyklu v diploidnom štádiu sporofytu, gametofyt sa u nich nevyskytuje** a jediným haploidným štádiom sú gaméty. Pohlavné rozmnožovanie je prevažne **oogamia**. Majú diskovité plastidy bez pyrenoidu (Adl a kol., 2019). Napr. v prípade druhu ***Fucus vesiculosus*** (obr. 26.13) hojného **na severnej pologuli na pobreží Atlantiku** sa vyskytujú diploidné samčie a samičie stielky (sporofyty). Samčie pohyblivé heterokontné **gaméty** a samičie nepohyblivé vajíčka sú **produkované** meiózou v gametangiách uložených v dutinách v stielke – **v konceptákulách** (obr. 26.13). Ďalším zástupcom z tejto skupiny je napr. rod *Sargassum* vyskytujúci sa v mierne teplých až tropických moriach (Kawai a Henry, 2017).



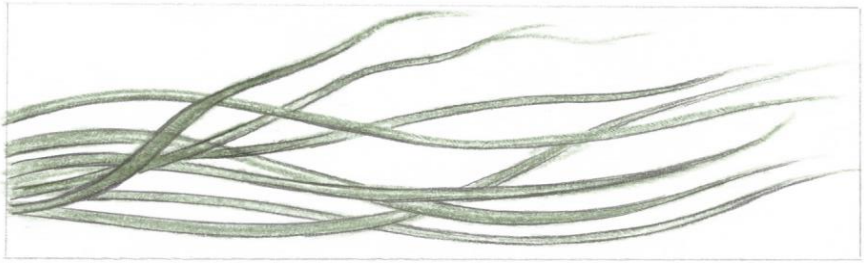


Obr. 26.12. **Dictyota dichotoma** ***Obr. 26.13.*** **Fucus vesiculosus**

Skupina **Laminariales** má **heteromorfnú** rodozmenu. **Gametofyt je malý, vláknitý**, a **sporofyt veľký**, často má aj viac ako meter. Majú diskovité plastidy bez pyrenoidu a **oogamické pohlavné rozmnožovanie** (Adl a kol., 2019). Typickým predstaviteľom je ***Macrocystis pyrifera*** (obr. 26.14) vyskytujúci sa napr. pri pobreží Čile, Nového Zélandu, Kalifornie a Antarktídy (Kawai a Henry, 2017). **Sporofyt** môže dosiahnuť veľkosť až **60 m** a hmotnosť **300 kg**. Ďalším príkladom zástupcu je ***Chorda filum*** (obr. 26.15) **so sporofytom dlhým 0.3-5 m**.



Obr. 26.14. **Macrocystis pyrifera**



Obr. 26.15. **Chorda filum**

26.2 Alveolata

Alveolata sú významnou skupinou prevažne jednobunkových eukaryotických organizmov – jednou z troch hlavných línií patriach do skupiny SAR. Tri najlepšie

preštudované línie Alveolata sú **Dinoflagellata** (Dinophyta, panciernatky), **Ciliophora** (Ciliata, riasničkacve, nálevníky) a **Apicomplexa** (apikomplexné parazity). Názov **Alveolata** vychádza z toho, že zástupcovia tejto skupiny majú **pod** svojou **cytoplazmatickou membránou** ploché vakuoly (resp. vezikuly), nazývané **kortikálne alveoly**. Môžu byť vyplnené celulózou (napr. u mnohých Dinoflagellata), proteínmi (niektoré Ciliophora) alebo inými látkami. **Dinoflagellata a Ciliophora** majú **množstvo kortikálnych alveol rovnomerne rozložených pod cytoplazmatickou membránou** a **Apicomplexa majú len jeden veľký alveolus tiahnuci sa popod cytoplazmatickú membránu**. Kortikálne alveoly **tvoria** zvyčajne tzv. **pelikulu** zaisťujúcu bunke pevnosť a pružnosť. V prípade Dinoflagellata väčšinou výplň kortikálnych alveol vytvára typickú pancierovú schránku. Alveolata majú zvyčajne mitochondrie s tubulárnymi kristami (Adl a kol., 2012, 2019).

Systém skupiny Alveolata je pomerne komplikovaný a neustále sa mení a vyvíja (Adl a kol., 2012, 2019; Cavalier-Smith, 2018). Okrem spomínaných troch najznámejších línií patria medzi Alveolata aj ďalšie menej preštudované línie ako napr. **Perkinsea, Colponemidia, Colpodellaceae, Chromerida (Chromeraceae a Vitrellaceae) a rod *Oxyrrhis*** (viď kapitola 26.2.4.).

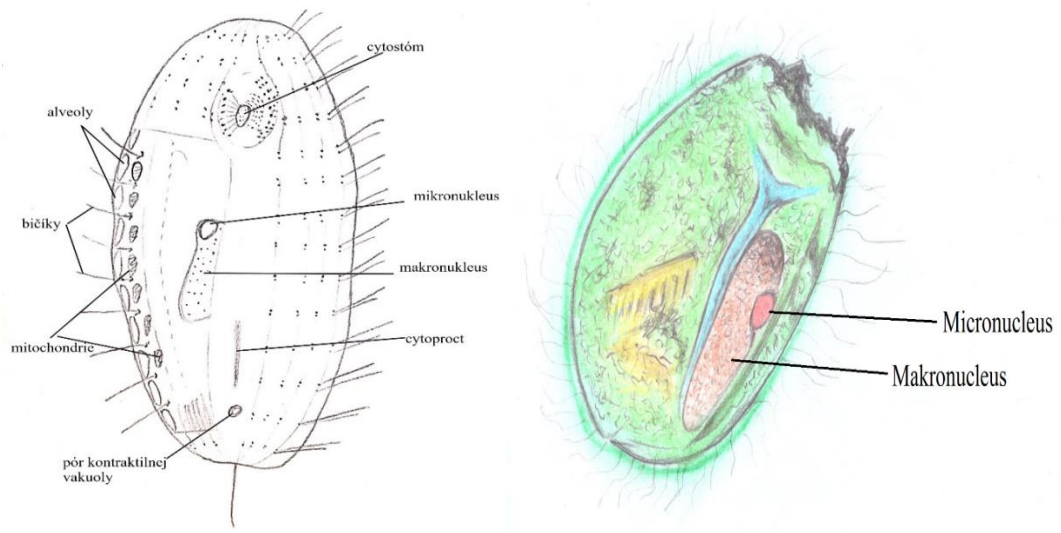
Chloroplasty nie sú prítomné u skupiny **Ciliophora**. **Fotosyntetické chloroplasty** sa však nachádzajú u mnohých zástupcov **skupiny Dinoflagellata (Dinophyta)** a u **Chromerida**. Predpokladá sa, že **spoločný predchodca fotosyntetických Dinoflagellata mal sekundárne chloroplasty obalené tromi membránami**, ktoré obsahovali peridinín a vznikli sekundárnou endosymbiózou z červených rias. Takéto chloroplasty sú prítomné u mnohých zástupcov Dinoflagellata. Mnohé Dinoflagellata však nahradili tieto pôvodné sekundárne plastidy za terciárne derivované z línií už obsahujúcich sekundárne chloroplasty (napr. Haptophyta, Cryptophyta alebo Stramenopiles). **Chromerida** (Chromeraceae a Vitrellaceae) majú **fotosyntetické sekundárne chloroplasty pôvodom z červených rias obalené štyrmi membránami** (Moore a kol., 2008). Mnohí zástupcovia Apicomplexa majú nefotosyntetické plastidy obalené štyrmi membránami. Nefotosyntetické plastidy majú aj viacerí zástupcovia ďalších línií ako napr. *Colpodella* sp. a *Perkinsus* sp. (Hadariová a kol., 2018). Keďže viaceré línie Alveolata obsahujú fotosyntetické alebo nefotosyntetické plastidy pôvodom z červených rias a plastidy obalené štyrmi membránami sú prítomné aj u Stramenopiles, v minulosti sa predpokladalo, že k sekundárnej endosymbióze s červenou riasou došlo už u spoločného predchodcu skupín Alveolata a Stramenopiles (Janouškovec a kol., 2010). Táto hypotéza však predpokladala úplnú stratu chloroplastu u predchodcu Ciliophora (Reyes-Prieto a kol., 2008) a viacerých línií a/alebo zástupcov skupiny Alveolata. V súčasnosti sa čoraz viac dostáva do popredia hypotéza, že došlo k dvom nezávislým sekundárnym endosymbiózam samostatne u predchodcu fotosyntetických línií Stramenopiles a samostatne u predchodcu alveolátnych línií s plastidmi a že Ciliophora chloroplasty nikdy nemali. Tiež nemožno vylúčiť, že v rámci skupiny Alveolata došlo k viacerým nezávislým sekundárnym a/alebo terciárnym endosymbiózam. V rámci Alveolata tiež došlo k viacerým nezávislým stratám fotosyntézy, prípadne aj plastidov (Hadariová a kol., 2018).

26.2.1 Ciliophora

Ciliophora (synonymá **Ciliata** a **Infusoria**, po slovensky **riasničkavce** alebo **nálevníky**) majú **množstvo bičíkov (bŕv)**, ktoré **môžu vytvárať rôzne zoskupenia**. **Bičíky sú usporiadané v radoch**, ktoré sa nazývajú **kinety** (Adl a kol., 2012, 2019). Nálevníky sú majú **cytostóm (bunkové ústa)**, **cytopharynx (bunkový hltan) a cytoproct (bunkový vylučovací orgán)** (obr. 26.16). **Okolo cytostómu** sú zvyčajne tiež **špeciálne zoskupenia bičíkov** – tzv. **orálna ciliatúra**. Orálna ciliatúra slúži na **priháňanie potravy**, najmä iných

mikroorganizmov, ktoré **sú** následne **fagocytované**. **Ostatné bičíky** slúži na **pohyb** a nazývajú sa aj **somatická ciliatúra** (obr. 26.16). Vyznačujú sa typickou stavbou kortexu, resp. pelikuly (vrstvy pod plazmatickou membránou), ktorej hlavnou zložkou sú kortikálne alveoly. Ciliata **nemajú chloroplasty**, ale dočasne môžu obsahovať fotosyntetické mikroorganizmy alebo ich chloroplasty, ktoré sú neskôr strávené (Lynn, 2017).

Vyznačujú sa **viacjadrovosťou** a **jadrovým dimorfizmom** – s funkčne rozlíšenými jadrami – zvyčajne podstatne väčší **makronukleus a** menší **mikronukleus** (Adl a kol., 2012, 2019). **Mikronukleus** (mikrojadro) predstavuje **generatívne diploidné jadro**, ktoré **nie je transkripčne aktívne** a slúži prevažne **na pohlavné rozmnožovanie**, kedy sa najprv meioticky rozdelí za vzniku haploidných mikronukleov. **Makronucleus** (makrojadro) **sa označuje** aj ako **vegetatívne alebo somatické jadro,** ktoré **je transkripčne aktívne. V makronukleu** sú na rozdiel od mikronuclea **niektoré úseky DNA vysoko zmnožené**, **iné** (5-90%) sú **celkom eliminované**. Niektoré druhy nálevníkov obsahujú v makronukleu veľmi veľa chromozómov (niekedy až tisíce). Práve u nálevníkov boli vďaka mnohým kópiám chromozómov v makrojadrách prvýkrát objavené eukaryotické teloméry a telomeráza. Makronucleov aj mikronucleov môže byť aj viac v závislosti od druhu resp. skupiny nálevníkov (Adl a kol., 2012, 2019; Lynn, 2017).



Obr. 26.16. Typická morfológia zástupcov skupiny Ciliophora

Nepohlavne sa rozmnožujú zvyčajne priečnym delením. Deleniu predchádza mitotické rozdelenie mikronucleov. Mitóza a meióza sú uzatvorené, teda počas nich **nezaniká jadrová membrána**. **Makronucleus sa zvyčajne delí amitoticky** (s výnimkou skupiny Karyorelictea, u ktorej sa makronucleus nedelí, viď nižšie). Amitóza na rozdiel od mitózy vedie k náhodnej a nie presnej distribúcii rodičovských alel (resp. chromozómov) do dcérskych jadier. V tomto prípade to nie je veľký problém, keďže makronucleus obsahuje viacero (niekedy aj tisíc) kópií (pôvodne materských aj otcovských) jednotlivých chromozómov. Po rozdelení jadier dôjde k rozdeleniu bunky. Hoci **delenie je väčšinou priečne**, kedy dcérske bunky vznikajú z anteriornej a posteriornej polovice materskej bunky, niektoré Ciliata sa delia aj **pučaním, palintomaticky** (viacnásobné delenie zvyčajne v cyste) **alebo strobiláciou** (mnohonásobné delenie vedúce k formovaniu retiazok buniek).

Pohlavné rozmnožovanie nálevníkov sa nazýva **konjugácia.** Táto **umožňuje po meióze výmenu haploidných mikronukleov cez konjugačný kanál**. Mitóza a meióza sú

uzatvorené, teda počas nich nezaniká jadrová membrána. **Po konjugácii** (ale skupiny Karyorelictea aj počas nepohlavného delenia) **makronukleus degeneruje** a **nový vznikne po rozdelení mikronukleov z jedného z novovzniknutých**, prípadne splynutím viacerých mikronukleov (Adl a kol., 2012; 2019; Lynn, 2017).

U **črievičky *Paramecium caudatum*** sa na začiatku konjugácie musia najprv **rozpoznať kompatibilné párovacie typy**. Následne **meiózou vzniknú štyri haploidné mikrojadrá v oboch bunkách**, z ktorých **tri zaniknú a jedno sa rozdelí mitoticky**. Potom si črievičky **navzájom vymenia jedno z** týchto **haploidných mikronucleov a oddelia sa od seba**. **Dve haploidné mikrojadrá v každej bunke fúzujú za vzniku diploidného mikrojadra**, **ktoré sa trikrát mitoticky rozdelí za vzniku ôsmych jadier**. **Štyri z nich sa diferencujú na makrojadrá**, pričom starý **makronucleus zaniká**. Následne **dôjde k dvom deleniam za vzniku štyroch buniek s jedným makronukleom a jedným mikronukleom**. U rôznych skupín nálevníkov sa však detaily konjugačného procesu do značnej miery odlišujú. U niektorých nálevníkov môžu byť na rozdiel od črievičky napr. rozličné párovacie typy morfologicky odlišné.

Diverzita nálevníkov je pomerne veľká a systém komplikovaný. Rozdeľujú sa na dve veľké skupiny – **Postciliodesmatophora a Intramacronucleata**. **Postciliodematophora sa ďalej rozdeľujú na Karyorelictea a Heterotrichea** (Adl a kol., 2012; 2019; Lynn, 2017).

U zástupcov **Karyorelictea** je na rozdiel od väčšiny nálevníkov **makronukleus len o trochu väčší a obsahuje len o trochu viac DNA ako mikronukleus**. Je možné, že takto to bolo aj u spoločného predka všetkých nálevníkov, pričom funkčná diferenciácia makronukleov a mikronukleov postupne u Ciliophora v evolúcii narastala. **Makronukleus sa** u nich **nedelí a jeho delenie nahrádza delenie mikrojadier** (Adl a kol., 2012; 2019; Lynn, 2017). Patrí sem napr. sladkovodný rod *Loxodes*. Väčšina zástupcov Karyorelictea je však morská alebo brakická.

U skupiny **Heterotrichea** sa delenia makronuclea zúčastňujú mikrotubuly lokalizované mimo jadra. Príkladom zástupcu je rod *Stentor*.

V prípade najpočetnejšej skupiny **Intramacronucleata** sa **makronucleus delí pomocou mikrotubulov lokalizovaných** priamo **v jadre**. V systéme podľa Adl a kol. (2019) sa rozdeľujú na dve skupiny **SAL a CONTHREEP**. **SAL** je skratkou začiatočných písmen skupín, ktoré sem patria – **Spirotrichea** a Lamellicorticata (**Armophorea** a **Litostomatea**). Podobne aj CONTHREEP zahrňuje skupiny **Colpodea, Oligohymenophorea, Nassophorea, Phyllopharyngea, Prostomatea a Plagiopylea** (CON a tri P – CON-threeP) (Adl a kol., 2019).

Oligohymenophorea sú zrejme najväčšou a najznámejšou skupinou nálevníkov zo skupiny Intramacronucleata. Sem patria aj náznámejšie rody ako ***Paramecium*** **a *Tetrahymena***.

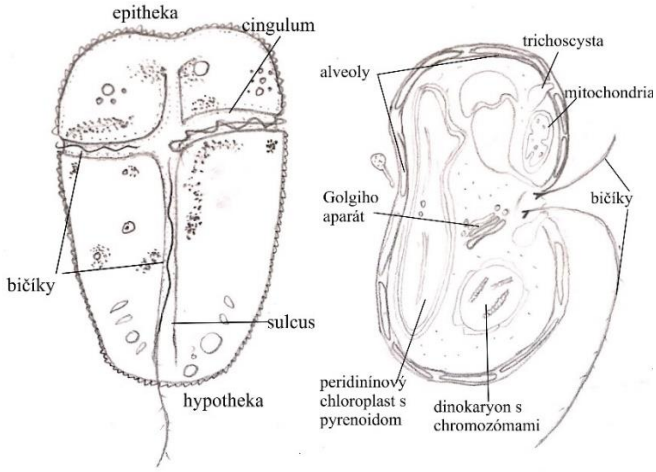
Zaujímavým zástupcom je aj ***Myrionecta rubra*** zo skupiny **Litostomatea**. Je to nálevník, ktorý **požiera zástupcov skupiny Cryptophyta a ponecháva si ich sekundárne plastidy**. Takýmto ukradnutým chloroplastom sa hovorí kleptoplasty. Kleptoplasty sú potom normálne fotosynteticky aktívne. Tento nálevník sa môže takýmto spôsobom zmeniť z heterotrofa na autotrofa (Johnson a kol., 2006).

26.2.2 Dinoflagellata

Väčšina zástupcov **Dinoflagellata** (synonymum **Dinophyta**, po slovensky **panciernatky**, po česky obrněnky) sú jednobunkovce **chránené charakteristickou schránkou**. **Schránky** sú tvorené **celulózovými doštičkami** (prípadne iným materiálom) **vyplňujúcimi kortikálne alveoly**. **Schránky sú zložené z vrchnej časti** (**epitheca**, resp.

epitéka**) a spodnej časti** (**hypotheca**, resp. hypotéka). Niektoré druhy však schránky nemajú, alveoly sa u nich javia byť opticky prázdne. Na schránke je viditeľná **pozdĺžna (sulcus) a priečna ryha (cingulum)** (obr. 26.17).

Dinoflagellata majú **dva bičíky**, **jeden (priečny)** sa nachádza **dookola stočený v cingule a druhý (pozdĺžny) vychádza zo sulcusu** (obr. 26.17). **Priečny bičík je zvlnený a je hlavným orgánom pohybu. Pozdĺžny bičík smerujúci posteriorne slúži ako kormidlo**. Takémuto **usporiadaniu bičíkov** hovoríme **dinokontné** (Saldarriaga a Taylor, 2017).



Obr. 26.17. Schéma stavby bunky Dinoflagellata

Ich **jadro** sa nazýva **dinokaryon**. Je uložené v bunke obyčajne centrálne, má centrálne jadierko a obsahuje **permanentne kondenzovaný chromatín** (aj počas interfázy, nielen počas mitózy). Jadro sa líši od klasického eukaryotického jadra ešte aj tým, že **neobsahuje históny. Počas mitózy zostáva jadrová membrána zachovaná** (uzatvorená mitóza), mitotické vretienko je však mimojadrové. V profáze prechádzajú jadrovou membránou cytoplazmatické kanály, ktorými prerastá mitotické vretienko, na ktoré sa potom pripevňujú jednotlivé chromozómy (Lee 2008). DNA v jadre okrem klasických štyroch báz (A, C, G, T) obsahuje aj piatu bázu J (β-D-glukozyl-hydroxymetyluracil) (Saldarriaga a Taylor, 2017).

Dinoflagellata žijú najmä v morských, ale aj brakických a sladkých vodách. Niektoré sú parazitické a mnohé druhy produkujú aj toxíny. Môžu byť obligátne **heterotrofné, fototrofné alebo mixotrofné**. Dravé druhy majú **trichocysty na omráčenie koristi**. **Korisť zvyčajne nepožierajú celú, ale ju natrávia extracelulárne a vysávajú** (tzv. **myzocytóza**) cez sulcus pomocou špecializovaných orgánov (peduncle). Zástupcovia bez schránok však môžu mať aj schopnosť fagocytózy. Niektoré druhy so schránkami (napr. viaceré druhy rodu *Protoperidinium*) majú špecializovanú panôžku (pallium) na fagocytovanie koristi, ktorú trávia mimo schránky. Fototrofné druhy sú významnými primárnymi producentmi. Mnohé Dinoflagellata majú schopnosť bioluminiscencie (Saldarriaga a Taylor, 2017).

Dinoflagellata môžu alebo nemusia mať fotosyntetické alebo nefotosyntetické chloroplasty rôzneho pôvodu. Za **evolučne najstaršie chloroplasty prítomné u Dinophyta** sa považujú tzv. **peridinínové sekundárne plastidy obalené tromi membránami**, ktoré **vznikli endosymbiózou s červenou riasou**. Tieto peridinínové plastidy **nemajú nukleomorf a tretia membrána nie je spojená s membránou ER** (resp. plastidy sú mimo ER). Tieto chloroplasty obsahujú chlorofyly *a* a c_2, betakarotén (červené farbivo) a peridinín, ktorý je zodpovedný za ich špecifickú žltohnedú farbu. Plastidové genómy kódujú len pomerne malý

počet génov. Sú tvorené viacerými malými kruhovými molekulami DNA. Každý kruh zvyčajne kóduje len jeden gén (Saldarriaga a Taylor, 2017).

Mnohí zástupcovia majú stále tieto pôvodné peridinínové chloroplasty, iní ich **nahradili terciárnou endosymbiózou za chloroplasty derivované** napr. **zo skupín** Haptophyta, Cryptophyta alebo Stramenopiles, **ktoré už obsahovali sekundárne chloroplasty pôvodom z červených rias**. Rod *Lepidodinium* dokonca nahradil svoje sekundárne chloroplasty pôvodom z červených rias za sekundárne chloroplasty zo zelených rias (viď kapitola 22.3).

Môžu mať aj svetlocitlivú škvrnu stigmu, ktorá môže alebo nemusí byť súčasťou chloroplastu. U niektorých zástupcov (napr. *Warnowia* sp.) je prítomná pomerne komplexná svetlo citlivá štruktúra pripomínajúca oko (má niečo ako šošovku a sietnicu) (Saldarriaga a Taylor, 2017).

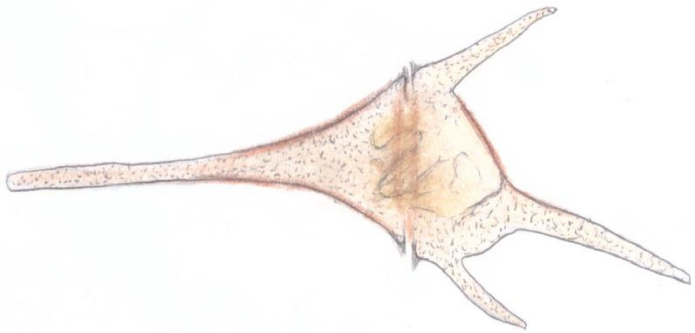
Rozmnožujú sa najmä nepohlavným delením. Pohlavné rozmnožovanie je známe len u niektorých druhov. Zahrňuje fúziu dvoch buniek za vzniku bičíkatej planozygoty, ktorá sa môže zmeniť na nepohyblivú odpočinkovú cystu – hypnozygotu (dinocystu), z ktorej po meióze vzniknú opäť pohyblivé jedince.

V systéme podľa Adl a kol. (2019) sa rozdeľujú na **Syndiniales, Noctilucales a Dinophyceae**.

Syndiniales sú **intracelulárne parazity** morských prvokov a živočíchov. **Nemajú plastidy** a ešte donedávna boli radené do taxónu Protalveolata (Adl a kol., 2012).

U **Noctilucales** je typický dinokaryon pozorovateľný len v istej časti bunkového cyklu (Adl a kol., 2019). Typickým predstaviteľom je morský fagotrof ***Noctiluca scintillans* so schopnosťou bioluminiscencie**, ktorý **môže mať až 2 mm**. V Tichom oceáne existujú prinajmenšom dve populácie *N. scintillans*, z ktorých jedna obsahuje permanentne endosymbiontické zelené riasy rodu *Protoeuglena*, zatiaľ čo druhá ich pravdepodobne nikdy nemá. Iní zástupcovia Noctilucales môžu alebo nemusia obsahovať fototrofných endosymbiontov (Saldarriaga a Taylor, 2017).

Obr. 26.18.* Peridinium *sp.



Obr. 26.19.* Ceratium *sp.

Dinophyceae sú najpočetnejšou skupinou panciernatiek. Typickými predstaviteľmi sú napr. rody ***Peridinium*** (obr. 26.18) a ***Ceratium*** (obr. 26.19). Zaujímavým predstaviteľom tejto skupiny sú aj **symbiotické zooxantely** ako napr. ***Symbiodinium***, ktoré majú obrovský význam pre korálové útesy. Až 90% živín môže koral získavať zo svojich symbiotických zooxantel. Okrem koralov môžu byť panciernatky aj symbiontami iných živočíchov ako napr. mäkkýšov a prvokov ako napr. Foraminifera. Odumieranie zooxantel kvôli klimatickým

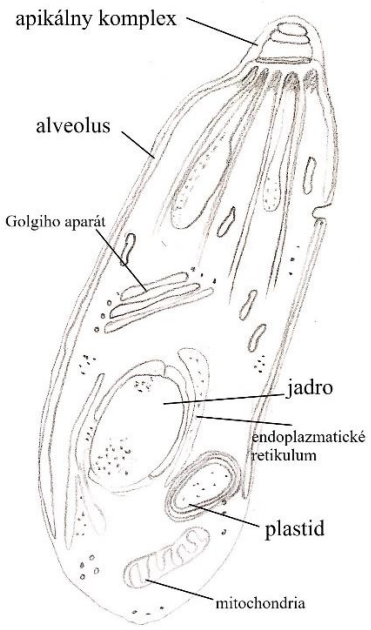
zmenám či znečisťovaniu morí vyvoláva jav nazývaný vybielovanie koralov („coral bleeching“), ktorý ohrozuje životaschopnosť koralových útesov (Saldarriaga a Taylor, 2017).

Okrem jednobunkových panciernatiek existujú aj **mnohobunkové**. Príkladom je rod nejasného taxonomického postavenia ***Haplozoon***, ktorý je **parazitom mnohoštetinavcov** (Saldarriaga a Taylor, 2017).

26.2.3 Apicomplexa

Apicomplexa sú **skupinou takmer výhradne parazitických Protista** (jednobunkových eukaryotov) s pomerne zložitými životnými cyklami. Výnimkou je rod *Nephromyces*, ktorý je symbiontom morských ascídií a pôvodne bol klasifikovaný ako huba (Saffo a kol. 2010).

Názov skupiny Apicomplexa je odvodený od unikátnej štruktúry prítomnej **na anteriornom konci** bunky nazývanej **apikálny komplex** (viď obr. 26.20). Táto štruktúra slúži **na prienik do hostiteľskej bunky** alebo k ukotveniu v nej a je prítomná aspoň v jednom štádiu životného cyklu. Zvyčajne je dobre pozorovateľná v infekčných štádiách životného cyklu týchto parazitov (u tzv. sporozoitov). Skladá sa z **uzatvoreného** súboru špirálovito usporiadaných trubičiek zložených z tubulínov – **konoidu**, **sekrečných teliesok (rhoptrií a mikroném)** a ich vývodov v prednej časti bunky a jedného alebo viacerých polárnych prstencov. U niektorých zástupcov (skupina Aconoidasida) môže konoid chýbať a aj ostatné časti apikálneho komplexu môžu byť redukované (Adl a kol., 2019).



Obr. 26.20. Typický predstaviteľ skupiny Apicomplexa

Väčšina apikomplexných parazitov (napr. rody *Plasmodium* a *Toxoplasma*) má aj ďalšiu unikátnu organelu – **nefotosyntetický plastid obalený štyrmi membránami** nazývaný **apikoplast** (obr. 26.20). Tento plastid vznikol sekundárnou endosymbiózou z červených rias a následne došlo k strate fotosyntézy (viď kapitola 22.4). Apikoplast

obsahuje značne redukovaný plastidový genóm a nemá nukleomorf. Apikoplast nemá napr. rod *Cryptosporidium* (zrejme došlo k jeho sekundárnej strate) (Hadariová a kol., 2018).

Bunky Apicomplexa **na priereze** zvyčajne **vyzerajú byť obalené tromi membránami**. V skutočnosti **dve vnútorné membrány sú membránami jedného veľkého alveolu** tiahnuceho sa pod plazmatickou membránou zvnútra celej bunky. Alveolus je na niektorých miestach prerušný tzv. mikropórami, ktorými sa tieto parazity vyživujú (Votýpka a kol., 2017).

Väčšina zástupcov Apicomplexa má pomerne komplexný životný cyklus zahŕňajúci nepohlavné aj pohlavné štádiá reprodukcie, pričom niektoré aj striedajú rôznych hostiteľov a parazitujú v rôznych tkanivám počas rôznych štádií svojho cyklu. Pohybové organely ako bičíky a panôžky zväčša chýbajú alebo sú prítomné iba v istých štádiách životného cyklu (napr. gaméty alebo zygota niektorých zástupcov). Aj niektoré bezbičíkaté štádiá sa však môžu pohybovať kĺzaním. **Odolné štádium životného cyklu** sa nazýva **oocysta**. **Oocysta** predstavuje vlastne **diploidnú zygotu v odolnom obale**. **V oocyste prebehne sporogónia – meiózou vzniknú haploidné sporozoity**. Sporozoity sa môžu ešte ďalej deliť mitózou ešte v oocyste. V niektorých prípadoch vznikajú v oocyste ešte sporocysty produkujúce (resp. obsahujúce) sporozoity. **Sporozoity** predstavujú infekčné štádiá, ktoré **napádajú bunky hostiteľa**. V ich bunkách môže **prebehnúť merogónia (= schizogónia),** t.j. **rozdelenie na množstvo buniek** v spoločnom obale (vakuole) **a uvoľnia sa merozoity**, ktoré infikujú nové bunky. Merogónia môže prebehnúť niekoľkokrát, až kým sa nezačnú **vytvárať samčie a samičie gamonty (gametocyty)**, z (v) ktorých **gamogóniou vznikajú samčie** (mikro-) **a samičie gaméty** (makrogamety). **Gaméty** následne **splývajú za vzniku diploidnej zygoty a nových oocýst**. Táto základná schéma má však viacero modifikácií u rôznych zástupcov v závislosti od hostiteľov a typov tkanív, ktoré napádajú (Votýpka a kol., 2017).

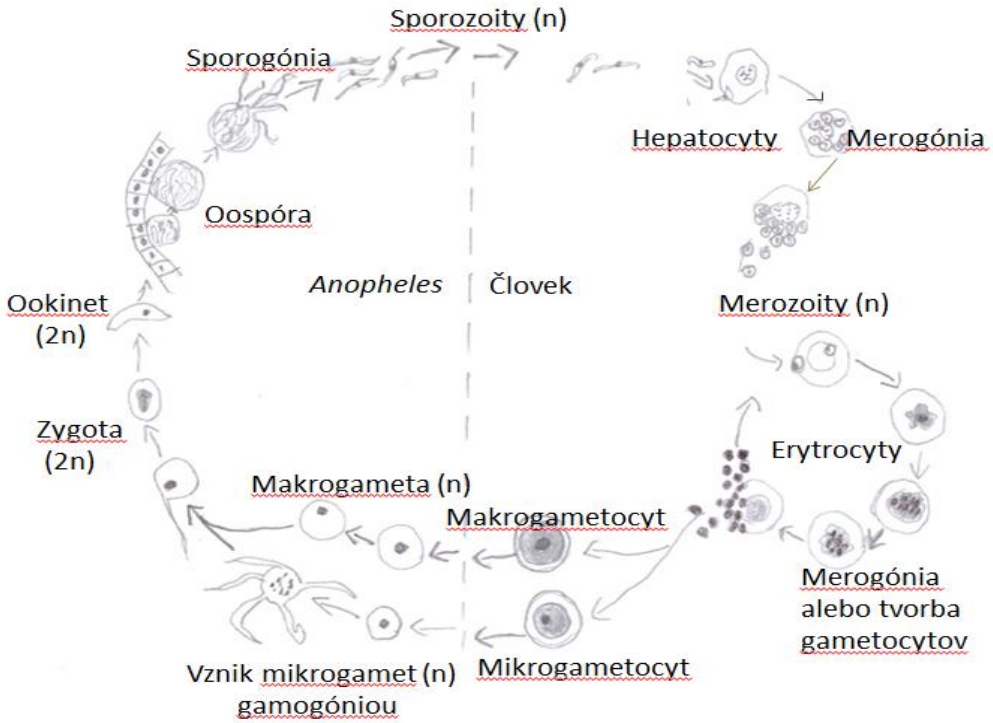
Apicomplexa sa tradične rozdeľovali na Gregarinea (gregariny, napr. rod *Cryptosporidium*), Coccidia (kokcídie, napr. rod *Toxoplasma*), Hematozoea (krvinovky, napr. rod *Plasmodium*). V súčasnosti sa rozdeľujú na **Aconoidasida** (zahrňujúce krvinkovky) a **Conoidasida** (zahrňujúce gregariny a kokcídie). Obe skupiny sú však pravdepodobne parafyletické a vzťahy medzi jednotlivými taxónmi v rámci skupín sú nejasné. Okrem týchto dvoch skupín sa však medzi Apikomplexa radia aj ďalšie skupiny nejasného postavenia (Adl a kol., 2019).

Apikálnemu komplexu skupiny Aconoidasida chýba v motilných asexuálnych štádiách konoid, no u niektorých zástupcov môže byť konoid prítomný v štádiu pohyblivej zygoty (ookinet). Ich **životný cyklus** je **viazaný na viacerých hostiteľov** (Adl a kol. (2019).

V prípade skupiny **Conoidasida** je **kompletný apikálny komplex s konoidom** prítomný u všetkých alebo **u** väčšiny **asexuálnych štádií životného cyklu**. **Jediným bičíkatým štádiom** sú **samčie mikrogamety**. Aj viaceré bezbičíkaté štádiá sú však schopné kĺzavého pohybu. Ich životný cyklus môže byť viazaný na jedného alebo viacerých hostiteľov (Adl a kol., 2019).

Typickým predstaviteľmi **Aconoidasida** sú **pôvodcovia malárie** rodu ***Plasmodium* – *P. falciparum, P. vivax, P. ovale* a *P. malariae*** z podskupiny **Hemosporidia** (resp. Hemospororida). Najčastejšou príčinou smrti býva *P. falciparum*. U týchto prvokov **oocysta neobsahuje** sporocysty, ale **sporozoity**, **bičíkaté mikrogamety vznikajú gamogóniou podobnou schizogónii** a **konoid je prítomný len v štádiu pohyblivej zygoty (ookinet)**. **Pohyblivá zygota** sa nazýva **ookinet** (obr. 26.21). Ľudské patogény rodu ***Plasmodium* majú apikoplast** a sú **prenášané samičkami komára rodu *Anopheles***. Keď **samička nasáva krv** od jedinca infikovaného maláriou, **samčie a samičie gametocyty parazita sa dostanú do čreva komára**. **Samičie gametocyty sa diferencujú v samičie makrogamety** a **zo samčích gametocytov vznikajú schizogóniou bičíkaté gaméty mikrogamety** (zvyčajne 8). **Samčie mikrogamety oplodnia makrogamety**, **vzniknú diploidné zygoty**, ktoré sa následne

premenia na aktívne sa pohybujúce ookinety. Ookinety **prechádzajú stenou čreva** a **diferencujú sa na oocysty**, ktoré **produkujú sporogóniou** (mitotickým a meiotických delením jadier a následným rozpadom na množstvo buniek) **množstvo haploidných sporozoititov**. **Oocysta** následne praskne a **uvoľní sporozoity do hemolymfy komára**, ktorou sa dostanú až **do slinných žliaz komára**. Keď sa komár napije krvi, **sporozoity sa dostanú injekčne** z jeho slinných žliaz **do krvného obehu človeka** a putujú až **do pečeňových buniek** (hepatocytov), v ktorých **prebehne schizogónia (merogónia)** – najprv **vznik mnohojadrových plazmódií** (uzavretých vo vakuole) **a následne vznik a uvoľnenie množstva jednojadrových merozoitov**. **Merozoity napádajú červené krvinky** (erytrocyty) a **zmenia sa na trofozoity**, ktoré **môžu schizogóniou (merogóniou) produkovať znova merozoity** alebo **gametocyty**, **ktoré** opäť **komár nasaje** (Votýpka a kol., 2017; obr. 26.21). Gametocyty *P. falciparum* majú rožtekovitý tvar, pričom gametocyty *P. vivax*, *P. ovale* a *P. malariae* sú oválne.



Obr. 26.21. Životný cyklus ľudských prazitov rodu* Plasmodium *spôsobujúcich maláriu

Medzi **Conoidasea** patria **kokcídie** (Coccidia) a **gregariny**, ale napr. aj **rod *Cryptosporidium*,** ktorý je pravdepodobne príbuzný gregarinám. Tento rod napáda črevný epitel stavovcov vrátane človeka a spôsobuje hnačku (Votýpka a kol., 2017). Bunka, genóm aj mitochondrie sú redukované. Apikoplast pravdepodobne sekundárne stratili (Hadariová a kol., 2018).

Gregariny sú niekedy pomerne veľké (až 10 mm). Majú veľké jadro a genóm. Na povrchu buniek majú cytoplazmatické záhyby. Žijú **v črevách alebo telových dutinách článkonožcov, obrúčkavcov, mäkkýšov a druhoústovcov**. Zvyčajne sú **len čiastočne vnorené do hostiteľských buniek**, iba niekedy sú intracelulárne (Votýpka a kol., 2017). **Apikoplast** sa u nich zatiaľ nenašiel a pravdepodobne ho úplne **stratili** (Hadariová a kol., 2018).

Významným zástupcom skupiny **Coccidia** je ***Toxoplasma gondii* spôsobujúca toxoplazmózu**. **Má typický apikálny komplex a apikoplast**. **Človeka sa** ňou **môže nakaziť** prevažne **od mačiek, mačky od myší a myši z výkalov mačiek obsahujúcich oocysty alebo kanibalizmom**. K sporogónii oocýst dochádza až po vylúčení z tela mačky. Najprv sa vytvoria dve sporocysty, z ktorých každá obsahuje štyri sporozoity, ktoré napádajú rôzne tkanivá myší, v ktorých prebieha merogónia za vzniku tachyzoitov a neskôr bradyzoitov v tkanivových cystách (prevažne v mozgu a v svaloch). *T. gondii* má aj schopnosť ovplyvňovať správanie myší, ktoré sa tak stávajú ľahšou korisťou pre mačky. Po konzumácii myši sa mačka nakazí cystami s bradyzoitmi. Bradyzoidy v črevách mačky ožijú a rozmnožujú sa ďalej merogóniou. Neskôr nastáva gamogónia, splývanie gamét a vznik oocýst vylučovaných stolicou (Votýpka a kol., 2017).

26.2.4 Príklady ďalších skupín z taxónu Alveolata

Príkladmi ďalších taxónov s kortikálnymi alveolami patriacimi medzi skupinu Alveolata sú Chromeraceae a Vitrellaceae (niekedy radené do spoločného taxónu Chromerida), Colpodellaceae, Perkinsidae a rod *Oxyrrhis*.

26.2.4.1 Chromerida

Do skupiny **Chromerida** patria jednobunkové **eukaryoty s jedným chloroplastom obaleným štyrmi membránami bez nukleomorfu**. Chloroplasty vznikli **sekundárnou endosymbiózou z červených rias**. Chloroplasty **obsahujú chlorofyl *a***, violaxantín a β-karotén, no **neobsahujú chlorofyl *c***. Majú **len jednu mitochondriu** (Adl a kol., 2012). Patria sem rody ***Chromera* a *Vitrella***. Zástupcovia *Chromera velia* a *Vitrella brassicaformis* sú **endosymbionti koralov**. Pôvodne boli izolované z koralov z Veľkej koralovej bariéry v Koralovom mori (Qeensland, Austrália). Je ich však možné kultivovať aj samostatne. Pôvodne sa predpokladalo, že ide o najbližších fotosyntetických príbuzných skupiny Apicomplexa (Moore a kol., 2008, Oborník a kol., 2011), kam ich niektorí autori aj v súčasnosti zaraďujú (Cavalier-Smith, 2018). V systéme podľa Adl a kol. (2019) patria tieto dva rody do samostatných skupín – **Chromeraceae a Vitrellaceae**, ktoré sú spoločne s heterotrofnými skupinami Colpodellaceae a Alphamonaceae radené do taxónu Colpodellida. Taxón Colpodellida by tak mohol byť pravdepodobne najbližšie príbuzný taxónu Apicomplexa.

26.2.4.2 Colpodellaceae

Do tejto skupiny patrí napr. rod ***Colpodella*** (SAR, Alveolata, Myzozoa, Colpodellida) je **myzocytický predátor/parazit**, ktorý **sa živí vysávaním iných prvokov**. Má **otvorený konoid**, ktorý je pravdepodobne homologický s konoidom parazitickej skupiny Apicomplexa. Minimálne niektorí zástupcovia Colpodellaceae **majú** pravdepodobne **nefotosyntetický chloroplast** (Janouškovec a kol., 2015). Ich **najbližší príbuzní** sú zástupcovia skupín **Apicomplexa a Chromerida**. Cavalier-Smith (2018) ich zaraďuje medzi Apicomplexa a Adl a kol. (2019) spoločne s Chromerida a Alphamonaceae do taxónu Colpodellida.

26.2.4.3 Perkinsidae

Perkinsidae (synonymum **Perkinsozoa**) sú v systéme podľa Adl a kol. (2019) samostatnou skupinou na rovnakej taxonomickej úrovni ako Ciliophora, Dinoflagellata, Apicomplexa, Colpodellida a Colponemida. Cavalier-Smith (2018) ich zaraďuje spoločne s Dinoflagellata do taxónu Dinozoa. Najznámejším zástupcom je ***Perkinsus marinus***. Je to **vnútrobunkový parazit ustríc**. Jeho voľne žijúce pohyblivé štádia majú dva bičíky a pripomínajú rod *Colpodella*. Podobne ako tento rod, aj rod *Perkinsus* má **otvorený konoid** (Adl a kol., 2012, 2019). Pravdepodobne obsahuje tiež pozostatok plastidu (Hadariová a kol., 2018).

26.2.4.4 *Oxyrrhis*

Oxyrrhis marina (SAR, Alveolata, Myzozoa) je **voľne žijúci, morský, heterotrofný, dravý bičíkovec s dvomi laterálne umiestnenými bičíkmi**. Pripomína panciernatky, ale nemá pravý sulcus a cingulum. Jeho umiestnenie v rámci fylogenetického stromu je niekde na báze vetvy vedúcej k panciernatkám (Dinoflagellata) alebo je to primitívna panciernatka. Cavalier-Smith (2018) ho radí medzi Dinoflagellata. Adl a kol. (2019) ho zaraďujú do taxónu Colponemida spoločne s ďalšími heterotrofnými bičíkovcami zo skupín Colponemidia (rod *Colponema*), Acavomonidia (rod *Acavomonas*) a rodom *Palustrimonas*. *O. marina* **má pravdepodobne pozostatok plastidu**, pretože boli identifikované transkripty jadrových génov s N-terminálnymi presekvenciami pre import do plastidu (Slamovitz a Keeling, 2008).

26.3 Rhizaria

Rhizaria sú druhovo bohatou skupinou **prevažne jednobunkových eukaryotov** (Nikolaev a kol., 2004). Sú však známe **aj formy s agregátnou mnohobunkovosťou** (Brown a kol., 2012). Táto skupina bola navrhnutá len prevažne na základe fylogenetických analýz (Cavalier-Smith, 2002), keďže rôzne línie v rámci tejto skupiny sa značne líšia a skupinu nie je možné definovať na základe jasných morfologických znakov (absentujú morfologické synapomorfie). Sú to **poväčšine amébovité organizmy s filopódiami** (tenké, vetvené), **retikulopódiami** (zosieťované panôžky) **alebo axopódiami** (tenké, nerozvetvené). **Nikdy** však **nemajú lobopódie**, ktoré sú typické pre mnohých zástupcov druhej veľkej skupiny amébovitých organizmov – Amoebozoa (viď kapitola 23). **Viaceré skupiny** Rhizaria **produkujú schránky**, ktoré môžu mať pomerne zložitú štruktúru a dobre fosilizujú. Mnohí zástupcovia obývajú aj hlbokomorské biotopy, preto sa o nich vie len málo.

Za zmienku stojí aj to, že tradičný taxón Heliozoa (Slncovky), kde boli pôvodne radené Protista so schránkami a tenkými panôžkami približne rovnomerne rozloženými po povrchu bunky sa úplne rozpadol. Pôvodne pod Heliozoa patrili taxóny Desmothoracida, Taxopodida, Centrohelida a Actinophryidae (viď kapitola 26.1.2.2). Skupiny Desmothoracida a Taxopodida patria síce medzi Rhizaria, ale sú to ich dve rôzne nepríbuzné línie (Adl a kol., 2012, 2019). Actinophryidae patria v súčasnosti medzi Stramenopiles a Centrohelida (viď kapitola 28.7.2) sú príbuzné Haptophyta (viď kapitola 28.7.1) a spolu s nimi radené do taxónu Haptista (viď kapitola 28.7).

Systematika skupiny Rhizaria je teda pomerne komplikovaná a podlieha neustálym zmenám. Adl a kol. (2019) rozdeľujú Rhizaria na **Cercozoa, Endomyxa, Retaria,**

Aquavolonida a rod *Tremula*. V našom prehľade systému uvádzame len príklady niektorých z najznámejších taxónov spomedzi Rhizaria.

26.3.1 Cercozoa

Morfológia skupiny Cercozoa je pomerne rôznorodá. Skupina zahŕňa väčšinu **améby** a/alebo (amébo)bičíkovce s dvoma bičíkmi, ktoré **chytajú korisť pomocou panôžok** (pseudopoódií) a následne ju **fagocytujú**. Obyčajne majú **filopódie** (tenké nitkovité panôžky, prípadne **retikulopódie** (zosieťované panôžky). Tieto sa môžu nachádzať po celom alebo len na istej časti povrchu bunky. Obyčajne majú tubulárne mitochondriálne kristy (Adl a kol., 2012, 2019).

Hoci je **väčšina zástupcov heterotrofná**, medzi **fotosyntetických zástupcov** patrí ***Paulinella*** sp. (zo skupina Euglyphida, Paulinellidae) a zástupcovia skupiny **Chlorarachnea** (synonymum **Chlorarachniophyta**).

Adl a kol. (2019) rozdeľujú skupinu Cercozoa na **Cercomonadida, Paracercomonadida, Glissomonadida, Viridiraptoridae, Pansomonadidae, Sainouroidea, Thecofilosea, Imbricatea, Metromonadea, Granofilosea a Chlorarachnea**. V nasledujúcich podkapitolách sú stručne charakterizované len niektoré z najznámejších skupín a podskupín skupiny Cercozoa.

26.3.1.1 Cercomonadida

Do tejto skupiny patria sladkovodné a pôdne, **fagotrofné** a/alebo heterotrofné **bičíkovce s dvomi bičíkmi**, ktoré zvyčajne **neplávajú** vodnom stĺpci, ale sa **kĺžu po povrchoch pomocou dlhšieho posteriorneho bičíka**. Nemajú pevné povrchové štruktúry. **K povrchom adherujú ventrálnou** (brušnou) **stranou**. Môžu mať **viacero typov panôžok**, ktoré neslúžia na pohyb, ale **na lov a fagocytózu koristi**. Typickým zástupcom je rod *Cercomonas* (Adl a kol., 2019).

26.3.1.2 Thecofilosea

Väčšina zástupcov má (a pravdepodobne aj spoločný predchodca tejto skupiny mal) **veľkú extracelulárnu schránku z organického materiálu** netypickú pre väčšinu Cercozoa. Schránka je zvyčajne bez šupín (zriedkavejšie so šupinami). Zvyčajne majú **filopódie**, ktoré **vychádzajú z ventrálnej brušnej ryhy**. Môžu alebo nemusia mať dva bičíky. Na schránkach sú otvory pre panôžky, prípadne aj bičíky (Adl a kol., 2012, 2019).

Medzi najznámejšie skupiny z tohto taxónu patrí taxón **Phaeodarea** (synonymá Phaeodaria a Tripylea) zahrňujúci **jednobunkovce**, ktoré na prvý pohľad **pripomínajú Radiolaria** (viď kapitola 26.3.3.2), **kam boli aj v minulosti radené**. Podobne ako u Radiolaria majú **schránku** (často mineralizovanú s výbežkami) **s otvormi pre radiálne pseudopódie a cytoplazmu rozdelenú na vonkajšiu vakuolizovanú ektoplazmu a vnútornú endoplazmu (centrálnu kapsulu) kapsulárnou stenou, v ktorej sú otvory**. Typické axopódie podporené mikrotubulami, ktoré tvoria kostru retikulárnej siete panôžok na chytanie potravy, aké majú Radiolaria, sa však u Phaeodarea nenachádzajú. **V kapsulárnej stene** nie je množstvo otvorov ako u Radiolaria, ale zvyčajne len **tri otvory** (z toho názov Tripylea)**,** ktorými je ekto- a endoplazma prepojená – **jeden veľký otvor** nazývaný **astropylum** (alebo orálny otvor) a **dva menšie laterálne otvory** – **parapylae**. **V blízkovsti**

astropyla sa nachádza denzná hustá **oblasť cytoplazmy obsahujúca nestrávené zvyšky potravy – phaeodium** (Adl a kol., 2012, 2019; Boltovskoy a kol., 2017). Astropylum slúži na prísun živín z ektoplazmy do endoplazmy. Menšie otvory v kapsulárnej stene sú kritické pre tvorbu periférnej retikulárnej siete panôžok, ktoré vybiehajú z otvorov v schránke vo forme filopódií. Žijú **zvyčajne hlboko v moriach** (hlbšie ako 300 m) (Boltovskoy a kol., 2017). Bičíky majú len zoospóry. Príkladmi rodov z tejto skupiny sú *Aulacantha*, *Conchellium*, *Castanella* a *Haeckeliana* (Adl a kol., 2012, 2019).

26.3.1.3 Imbricatea

Zástupcovia tejto skupiny (s výnimkou bazálnych línii a zástupcov, ktorí tento znak stratili) s**ekretujú na povrch bunky kremičité šupiny**. Majú tubulárne mitochondriové kristy. Jadro obklopené vezikulami je dobre viditeľné svetelnou mikroskopiou (Adl a kol., 2012, 2019).

Jednou z najznámejších skupín z tohto taxónu sú **Euglyphida**, ktoré **nemajú bičíky**. Sú to pôdne, sladkovodné, epifytické, prípadne morské jednobunkovce **s tenkými vetvenými pseudopódiami (filopódiami) a organickými schránkami.** Väčšina zástupcov **sekretuje na povrch kremičité šupiny zlepené organickým materiálom**. **Filopódie vybiehajú z otvoru na spodnej (brušnej) strane schránky**. Väčšina zástupcov (napr. rody *Assulina* a *Euglypha*) je heterotrofných (Adl a kol., 2012, 2019).

Príkladom **fotosyntetického zástupcu zo skupiny Euglyphida je sladkovodný rod *Paulinella*** (obr. 26.22). Má **primárne plastidy obalené dvomi membránami**, ktoré v**znikli zo siníc nezávislou primárnou endosymbiózou od tej, ktorá dala vznik plastidom spoločného predka skupiny Archaeplastida**. **Plastidy (cyanelly)** sú podobné chloroplastom Glaucophyta – sú **modrozelené a** tiež majú **peptidoglykánovú (mureínovú) bunkovou stenou**. Na povrchu sa nachádza charakteristická **schránka s kremičitými šupinami s otvorom pre filopódie na brušnej strane** (Nowack a kol., 2008).

Obr. 26.22. **Paulinella *sp.***

26.3.1.4 Granofilosea

Do tejto skupiny patria **améby s rozvetvenými alebo nerozvetvenými retikulopódiami alebo axopódiami**. **Na oboch typoch pseudopódií** sa nachádzajú **nepravidelne rozmiestnené extruzómy vo forme granulárnych útvarov**. Oba typy pseudopódií sú v tomto prípade podporené mikrotubulami a axopódie môžu byť v niektorých prípadoch tiež rozvetvené (Adl a kol., 2012, 2019).

Do tejto skupiny patria aj **Desmothoracida** (synonymum **Clathrulinidae**), ktoré boli **pôvodne radené** spoločne s taxónmi Taxopodida (viď kapitola 26.3.3.2), Centrohelida (viď kapitola 28.7.2) a Actinophryidae (viď kapitola 26.1.2.2) medzi slncovky (Heliozoa). Desmothoracida majú **extracelulárnu schránku** (loriku alebo kapsulu) **s otvormi, z ktorých vychádzajú** zvyčajne **dlhé axopódie podporené zväzkami mikrotubulov – axonémami**. Axonémy **vychádzajú z oblasti centrálne umiestneného jadra**. Axopódie môžu byť v niektorých prípadoch aj rozvetvené. **Väčšinou žijú prisadnuto** a niektoré majú aj stopku, no môžu aj plávať vo vodnom stĺpci. Rozmnožujú sa delením, pričom jedna z dcérskych buniek má jeden až dva bičíky a po prisadnutí sa diferencuje na amébovitú formu (Gast, 2017).

26.3.1.5 Chlorarachnea

Chlorarachnea (synonymum **Chlorarachniophyta**) **sú fotosyntetickou skupinou** patriacou medzi Cercozoa. **Sekundárne chloroplasty** majú obalené **štyrmi membránami a obsahujú chlorofyly *a* a *b***. Medzi druhou a treťou membránou plastidu je **zvyšok jadra (nucleomof) endosymbiotickej zelenej riasy**. Zásobná látka je polysacharid podobný chrysolaminarínu (β-1,3 glukán), ktorý tvorí čiapočku na vonkajšom povrchu pyrenoidu. Väčšina má **retikulopódie (zosieťované panôžky**) s extruzómami, **ktorými môžu byť** jednotlivé jednojadrové **bunky prepojené do** tzv. **retikuloplazmódií** (Adl a kol., 2012, 2019). V životnom cykle sa môžu vyskytovať zoospóry s jedným alebo dvoma bičíkmi a guľovité cysty (na prežite nepriaznivých podmienok). Typickými zástupcami sú rody *Bigelowiella*, *Chlorarachnion* a *Lotharella* (Keeling, 2017).

26.3.2 Endomyxa

Endomyxa sú rôznorodou skupinou amébovitých mikroorganizmov. Zahrňujú skupiny **Vampyrellida, Phytomyxea, Ascetosporea a rody *Filoreta* a *Gromia***.

Vampyrellida sú **fagotrofné**, exkluzívne heterotrofné **améby bez schránok**. Patrí sem napr. rod *Vampyrella.*

Phytomyxea sú **parazitické améby**, ktoré však **môžu tvoriť aj plazmódiá** produkujúce dvoj- alebo štvorbičíkaté bunky. Sú to **parazity rastlín** a Stramenopiles. Patria sem napr. rody *Plasmodiophora* a *Polymyxa* (Bulman a Neuhauser, 2017).

Ascetosporea sú **parazity bezstavovcov s komplexnou štruktúrou spór**.

Filoreta je nahá, voľne žijúca bakteriovorná améba vytvárajúca retikulopódiá.

Gromia je mnohojadrová améba s organickou schránkou a otvorom pre filopódie, ktoré sú zosieťované, no nevytvárajú retikuloplazmódium (Adl a kol., 2012, 2019).

26.3.3 Retaria

Táto skupina zahrňuje **prevažne morské heterotrofné améby s filopódiami, retikulopódiami** a/alebo **axopódiami a komplexnými schránkami**. Rozdeľujú sa na dve skupiny – **Foraminifera a Radiolaria** (Adl a kol., 2012, 2019).

26.3.3.1 Foraminifera

Foraminifera (dierkavce) sú **améby**, ktoré majú zvyčajne **schránky (testae) zložené z jednej alebo viacerých komôrok**. V prípade viackomôrkových zástupcov jednotlivé komôrky prirastajú počas ontogenézy. Schránky môžu byť tvorené z rôznych organických materiálov (napr. proteíny), inorganických materiálov (napr. $CaCO_3$, zlúčeniny kremíka alebo aragonit) a/alebo zlepené z čiastočiek sedimentov, prípadne iných látok. Schránky z pevných anorganických materiálov dobre fosilizujú a fosílie sú známe už zo začiatku prvohôr. Bunky aj so schránkou môžu byť **pomerne veľké**, často od 100 µm do 1 mm, no u niektorých zástupcov zo skupiny **Xenophyophorea až okolo 20 cm**.

Zo schránok vychádzajú cez otvory tenké **filopódie** obsahujúce granulárnu cytoplazmu, ktoré **sa môžu rozvetvovať, ale aj spájať** a vytvárať zosieťované (anastomózujúce, poprepájané) panôžky – **retikulopódie** (Adl a kol., 2012, 2019). **Pomocou filopódií a retikulopódií lovia** baktérie, prvoky a riasy. Filopódie a retikulopódie môžu u druhov žijúcich v menších hĺbkach morí obsahovať aj fototrofných endosymbiontov (prípadne ich plastidy – kleptoplasty), ktorých vedia počas dňa pomocou týchto pseudopoódií exponovať von zo schránky.

Väčšina Foraminifera je **morská** a väčšina z nich žije **v sedimentoch morského dna** (sú bentické), menšia časť druhov pláva vo vodnom stĺpci v rôznych hĺbkach morí a oceánov (sú súčasťou planktónu). Podstatne menej známych druhov je sladkovodných alebo brakických.

Zástupcovia sú **jednojadroví aj mnohojadroví** aj **v závislosti od štádia životného cyklu**. Životný cyklus zahŕňa zvyčajne **striedanie medzi haploidnými a diploidnými** (prípadne polyploidnými) **generáciami**, aj keď sú väčšinou morfologicky podobné. **Haploidné štádium (gamont)** má obyčajne na začiatku životného cyklu **jediné jadro**. Toto štádium sa môže mnohonásobne deliť, výsledkom čoho je **produkcia početných gamét**, ktoré zvyčajne **majú dva bičíky**. **Diploidné** (prípadne polyploidné) **štádium** (**schizont**, agamont) má **obyčajne mnoho jadier**. Po meióze môžu z tohto štádia vznikať početné nové gamonty.

V systéme podľa Adl a kol. (2019) sa Foraminifera rozdeľujú na jednokomôrkové Monothalamea (napr. rod *Reticulomyxa*), dvoj- a viackomôrkové Tubothalamea (napr. rod *Miliammina*) a viackomôrkové Globothalamea (napr. rod *Neorotalia*).

Xenophyophorea (zo skupiny Monothalamea) sú jedny z najväčších **jednobunkovcov** na našej planéte. Majú mnoho jadier. Ich **schránka** môže mať **až do 25 cm**. Sú **súčasťou hlbokomorského bentosu**. Žijú v hĺbke od 500 metrov až do desať kilometrov. Schránky vytvárajú z $CaCO_3$, piesku, ílu a/alebo organickej hmoty.

26.3.3.2 Radiolaria

Radiolaria (mrežovce) sú morfologicky jedny z najzložitejších prvokov. Sú to **kozmopolitné morské organizmy** a pozostatky ich **schránok („vnútorných kostier“)** tvoria

veľkú časť dna oceánov. Vnútorné schránky („kostry“) sú **uložené v cytoplazme**, sú zvyčajne mineralizované (najčastejšie oxidom kremičitým), dobre fosilizujú (fosílie sú známe už zo začiatku prvohôr), a preto sa podobne ako Foraminifera využívajú v paleoekologických a paleoklimatologických štúdiách. Schránky majú **majú otvory**, **z ktorých vychádzajú axopódie podporené mikrotubulami (axonémami)**. Tvary schránok môžu byť relatívne jednoduché, ale aj s pomerne komplikovanou geometrickou symetriou a výbežkami. Väčšina zástupcov je jednobunková, ale známe sú aj mnohobunkové formy (Boltovskoy a kol., 2017).

Radiolaria majú **v cytoplazme** organickú **kapsulárnu stenu s pórmi**, ktorá **rozdeľuje cytoplazmu na vnútornú časť (endoplazmu, kapsulu)** a **vonkajšiu časť (ektoplazmu)**. **Jadro (**resp. **jadrá), bázy axoném a väčšina ostatných bunkových organel sa nachádza v endoplazme,** zatiaľ čo **ektoplazma obsahuje vakuoly**, je transparentná a môže dočasne obsahovať aj skonzumované fotosynteticky aktívne symbiotické riasy a/alebo sinice. **Najvnútornejšia časť schránky sa môže nachádzať vo vnútri kapsuly (endoplazmy) alebo ju obklopovať (v ektoplazme). Vonkajšia časť ektoplazmy vychádza na povrch bunky zo schránky cez otvory vo forme retikulopódií a axopódií**. **V ektoplazme prebieha trávenie ulovenej (fagocytovanej) koristi** (Adl a kol., 2012, 2019; Boltovskoy a kol., 2017).

Tradične sa medzi Radiolaria radili zástupcovia skupín **Acantharea, Polycystinea a Phaeodarea. Phaeodarea** sa však vo fylogenetických analýzach ukazujú byť **jednou zo skupín** v rámci taxónu **Cercozoa**, konkrétne **Thecofilosea**, kam boli preradené (Adl a kol., 2012, 2019; Boltovskoy a kol., 2017; viď kapitola 26.3.1.2). **Blízkymi príbuznými Acantharea a Polycystinea** sa naopak ukázali byť **Taxopodida**, ktoré boli pôvodne radené medzi slncovky (Heliozoa) (Boltovskoy a kol., 2017; Gast, 2017). **V súčasnosti** teda radíme medzi **Radiolaria** len taxóny **Polycystinea, Acantharea a Taxopodida** (Adl a kol., 2019).

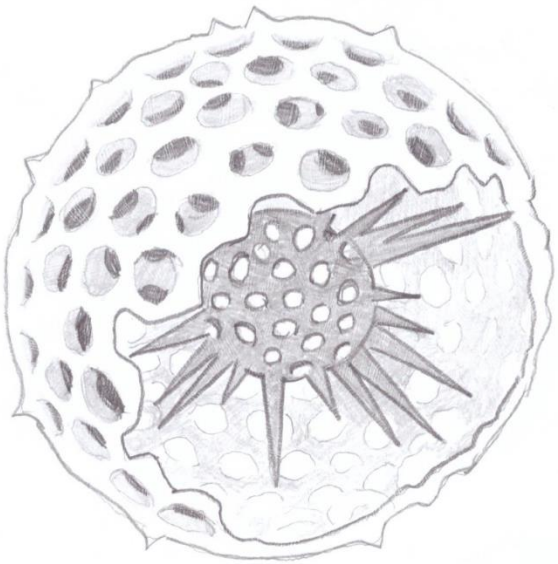
Skupina **Acantharea** sú skupinou **morských mrežovcov s kostrou zo síranu stroncnatého**. Cez otvory v kapsule a v schránke vybiehajú ihlicovité výbežky (spicules), retikulopódie a axopódie (s extruzómami) obsahujúce ektoplazmu. Ektoplazma obsahuje fagocytovanú korisť a endoplazma často fotosyntetických endosymbiontov. Známe je **len pohlavné rozmnožovanie**, kedy **dochádza k viacnásobnej mitóze a meióze za vzniku desiatok až stoviek dvojbičíkatých izogamet**. Patria sem napr. rody *Acanthocolla*, *Acanthometra* a *Astrolonche* (Adl a kol., 2012, 2019).

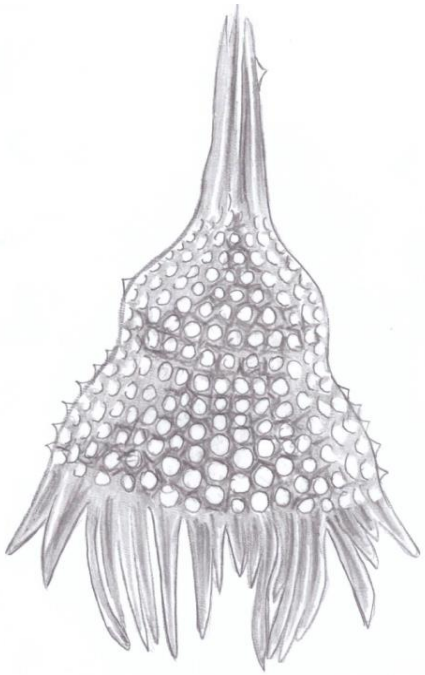
Taxopodida zahrňujú zatiaľ jediný známy rod *Sticholonche*, pôvodne radený medzi Heliozoa (Slncovky). V niektorých systémoch je táto skupina súčasťou Acantharea (Adl a kol., 2012; Gast, 2017), v systéme podľa Adl a kol. (2019) ide o samostatný taxón v rámci Radiolaria.

Polycystinea (SAR, Rhizaria, Radiolaria) majú **zvyčajne vnútorné kostry z amorfného oxidu kremičitého s otvormi pre pseudopódie** (axo-, filo- a retikulopódie). Podľa symetrie schránky môžu byť zástupcovia Polycystinea buď **riadiálne symetrickí** – skupina **Spumellaria** (obr. 26.23), alebo **bilaterálne symetrickí** – skupina **Nassellaria** (obr. 26.24). **V prípade oboch skupín** vystupujú cez otvory v schránkach **radiálne rozmiestnené filopódie a retikulopódie vyplnené ektoplazmou** (Boltovskoy a kol., 2017).

Spumellaria majú **jadro a capsulu umiestnené v bunke centrálne**. **Capsula** je **guľovitého tvaru** a **otvory v kapsulárnej stene, cez ktorú vystupujú axopódie** sú **rozmiestnené rovnomerne**. **Axopódie** vybiehajúce zo schránky Spumellaria sú teda rozložené **radiálne**. Príkladmi zástupcov sú rody *Hexastylus* a *Octodendron* (Adl a kol., 2012, 2019; Boltovskoy a kol., 2017).

Nassellaria majú **kapsulu oviodného tvaru** a **otvory v kapsulárnej stene** sú **lokalizované len na jednom** (brušnom) **póle**. **Axopódie** zo schránky Nassellaria vybiehajú teda **len v oblasti**, **kadiaľ prijímajú potravu**. Príkladmi zástupcov sú rody *Pterocanium* a *Pterocorys* (Adl a kol., 2012, 2019; Boltovskoy a kol., 2017).





Obr. 16.23. Kostra Spumellaria ***Obr. 16.24. Kostra Nassellaria***

Literatúra

ADL, S. M. a kol. 2012. The revised classification of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 5, 429-493.

ADL, S. M. a kol. 2019. Revisions to the classification, nomenclature and diversity of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 66, 4-119.

BEAKES, G. W. – THINES, M. 2017. Hypochyriomycota and Oomycota. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 435-506.

BENNETT, R. M. a kol. 2017. Labyrinthulomycota. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 507-542.

BOLTOVSKOY, D. – ANDERSON, O. R. – CORREA, N. M. 2017. Radiolaria a Phaeodaria. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 731-764.

BULMAN, S. – NEUHAUSER, S. 2017. Phytomyxea. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 783-804.

CAVALIER-SMITH, T. 2002. The phagotrophic origin of eukaryotes and the phylogenetic classification of Protozoa. Int J Syst Evol Microbiol 52, 297-354.

CAVALIER-SMITH, T. 2018. Kingdom Chromista and its eight phyla: a new synthesis emphasising periplastid protein targeting, cytoskeletal and periplastid evolution, and ancient divergences. Protoplasma 255, 297-357.

CAVALIER-SMITH, T. – CHAO, E. E.-Y. 2006. Phylogeny and megasystematics of phagotrophic heterokonts (kingdom Chromista). J Mol Evol 62, 388-420.

EDLUND, M. B. – STOERMER, E. F. 1997. Ecological, evolutionary, and systematic significance of diatom life histories. J Phycol 33, 897-918.
ELIÁŠ, M. a kol., 2017. Eustigmatophyceae. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 367-406
GAST, R. J. 2017. Centrohelida and other heliozoan-like prostists. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 955-972.
HADARIOVÁ, L. a kol. 2018. Reductive evolution of chloroplasts in non-photosyntetic plants, algae and protists. Curr Genet 64, 365-387.
HORIGUCHI, T. 2017. Raphidiophyceae (Rapidiophyta). In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 305-330.
JANOUŠKOVEC, J. a kol. 2010. A common red algal origin of the apicomplexan, dinoflagellate, and heterokont plastids. Proc Natl Acad Sci USA 107, 10949-10954.
JANOUŠKOVEC, J. a kol. 2015. Factors mediating plastid dependency and the origins of parasitism in apicomplexans and their close relatives. Proc Natl Acad Sci 112, 10200-10207.
JOHNSON, M. D. a kol. 2006. Sequestration, performance, and functional control of cryptophyte plastids in the ciliate *Myrionecta rubra* (Ciliophora). J Phycol 42, 1235-1246.
KATZ, L.A. 2012. Origin and diversification of eukaryotes. Ann Rev Microbiol 66, 411-427.
KAWAI, H. – HENRY, E. C. 2017. Phaeophyta. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 267-304.
KEELING, P. J. 2017. Chlorarachniophytes. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 765-782.
KOSTKA, M. 2017. Opalinata. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 543-566.
KRISTIANSEN, J. – ŠKALOUD, P. 2017. Chrysophyta. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 331-366.
LEE, R. E. 2008. Phycology. 4th edition. Cambridge: Cambridge University press.
LYNN, D. H., 2017. Ciliophora. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 679-730.
MAISTRO, S. a kol., 2017. Xanthophyceae. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 407-434.
MANN, D. G. – CRAWFORD, R. M. – ROUND, F. E. 2017. Bacillariophyta. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 205-266.
MOORE, R. B. a kol. 2008. A photosynthetic alveolate closely related to apicomplexan parasites. Nature 451, 959-963.

NOWACK, E. C. M. – MELKONIAN, M. – GlÖCKNER, G. 2008. Chromatophore genome sequence of *Paulinella* sheds light on acquisition of photosynthesis by eukaryotes. Curr Biol. 18, 410-418.

OBORNÍK, M. a kol. 2011. Morphology, ultrastructure and life cycle of *Vitrella brassicaformis* n. sp., n. gen., a novel chromerid from the great barrier reef. Protist 163, 306-323.

REYES-PRIETO, A. – MOUSTAFA, A. – BHATTACHARYA, D. 2008. Multiple genes of apparent algal origin suggest ciliates may once have been photosynthetic. Curr Biol 18, 956-962.

SAFFO, M. B a kol. 2010. *Nephromyces*, a beneficial apicomplexan symbiont in marine animals. Proc Natl Acad Sci USA 107, 16190-16195.

SALDARRIAGA, J. F. – TAYLOR, F. J. R. M., 2017. Dinoflagellata. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 625-678.

SLAMOVITS, C.H. – KEELING, P. J. 2008. Plastid-derived genes in the nonphotosynthetic alveolate *Oxyrrhis marina*. Mol Biol Evol 25, 1297-1306.

STRASSERT, J. F. H. a kol., 2019. New phylogenomic analysis of the enigmatic phylum Telonemia further resolves the eukaryote tree of life. Mol Biol Evol 36, 757-765.

VOTÝPKA, J. a kol. 2017. Apicomplexa. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 567-624.

WATSON, S. B. – SATCHWILL, T. 2003. Chrysophyte odour production: resource-mediated changes at the cell and population levels. Phycologia 42, 393-405.

27 EXCAVATA

Ján Kvasnica, Matej Vesteg

Eukaryotické mikroorganizmy zo skupiny Excavata sú pomerne rozmanité. Tieto organizmy boli **zoskupené do taxónu Excavata na základe tzv. exkavátnej hypotézy**. Táto hypotéza predpokladala, že **ventrálna (brušná) exkavátna ryha (cytostóm) a pridružené cytoskeletárne štruktúry** prítomné u viacerých skupín a zástupcov taxónu Excavata **boli prítomné už u spoločného predka Excavata**. **Exkavátna ryha** slúži **na prijímanie potravy** (napr. baktérií), ktorú **do nej priháňa zadný (spätný, posteriorny) bičík**. Spoločný predchodca Excavata mal pravdepodobne **aj druhý (predný, anteriorny) bičík slúžiaci na pohyb**. Podľa tejto hypotézy teda Excavata tvoria prirodzenú monofyletickú taxonomickú skupinu, ktorá zahrňuje všetkých potomkov spoločného predka s exkavátnou morfológiou (Simpson a Patterson, 1999). **Väčšina zástupcov z taxónu Excavata** však **exkavátnu morfológiu nemá** a s prihliadnutím na exkavátnu hypotézu sa vo všeobecnosti predpokladalo, že túto morfológiu stratili sekundárne. Mnohí zástupcovia majú aj viac ako dva bičíky (väčšinou v násobkoch dvoch), prípadne môžu mať aj amébovité štádiá.

Do skupiny Excavata sa zaraďujú **tri skupiny: Malawimonadidae, Discoba** (zahrňuje taxóny Jakobida, Tsukubamonadida, Heterolobosea a Euglenozoa**) a Metamonada** (zahrňuje taxóny Fornicata, Parabasalia a Preaxostyla). V súčasnosti sa však na základe najnovších fylogenetických analýz ukazuje, že **Excavata pravdepodobne nie sú monofyletickým taxónom**. **Discoba a Metamonada** sú **pravdepodobne samostatné monofyletické skupiny a Malawimonadidae** sú zrejme **bližšie príbuzné Opisthokonta a Amoebozoa** ako Discoba a Metamonada. **Discoba, Metamonada a Malawimonadidae** (resp. parafyletický taxón Excavata) sú v súčasnosti považované za **tzv. taxóny *incertae sedis*** (nejasného taxonomického postavenia) (Adl. a kol., 2019).

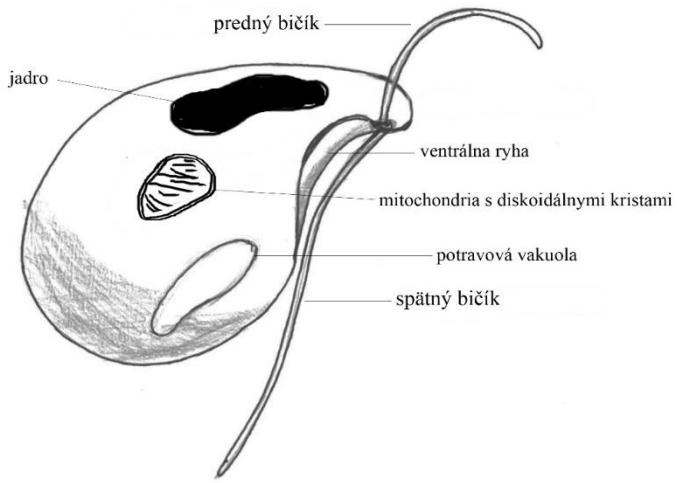
27.1 Malawimonadidae

Malawimonadidae (malawimonády) sú skupinou **drobných exkavátnych jednobunkových heterotrofných eukaryotov**. Malawimonády **majú typickú exkavátnu morfológiu s ventrálnou exkavátnou ryhou a dvoma bičíkmi**, z ktorých jeden **(spätný) bičík prechádza ventrálnou ryhou** (obr. 27.1) a **slúži na priháňanie potravy**. Mitochondrie týchto mikroorganizmov sú aeróbne s **diskoidálnymi (diskovitými) mitochondriovými kristami**. Zástupcovia sú **sladkovodní**, ale môžeme ich nájsť **aj v pôde** (Adl a kol., 2019).

V minulosti sa na základe morfologických znakov predpokladalo, že ide o organizmy príbuzné skupine Jakobida. Na základe fylogenetických analýz sa však ukazuje, že skupinám Metamonada a Discoba sú len vzdialene príbuzné (Derelle a kol., 2015). Fylogenetické analýzy naznačujú skôr **príbuznosť Malawimonadidae k skupinám Opisthokonta, Amoebozoa a im príbuzným taxónom** (Derelle a kol., 2015). **Excavata** sú teda pravdepodobne **parafyletickým taxónom**, podobne ako napr. Reptilia (plazy). Podobne ako plazy nezahŕňajú vtáky a cicavce, ktoré z plazov vznikli, ani Excavata nezahŕňajú Opisthokonta a Amoebozoa, ktorých predchodcom bol pravdepodobne bičíkovec s exkavátnou morfológiou podobný zástupcom skupiny Malawimonadidae. Fylogenetická pozícia skupiny Malawimonadidae by však mohla naznačovať, že **spoločný predchodca všetkých eukaryotov bol bičíkovec s exkavátnou morfológiou**, ktorá sa v evolúcii viackrát

nezávisle stratila nielen v rámci taxónov Metamonada a Discoba, ale aj u predchodcov ďalších hlavných vývojových línií eukaryotov. Malawimonády majú teda veľký evolučný význam z hľadiska pochopenia fylogenézy a vývoja nielen exkavátnych protistov, ale aj eukaryotov ako takých.

Prvý záznam o dovtedy neznámom druhu z vtedy ešte neexistujúcej skupiny Malawimonadidae, ktorý morfologicky pripomínal druhy z exkavátnej skupiny Jakobida, pochádza z roku 1993 (O'Kelly, 1993). Neskôr bol formálne popísaný ako ***Malawimonas jakobiformis*** (obr. 27.1), vtedy jediný popísaný druh (O'Kelly and Nerad 1999). Iný príbuzný izolát sa už dlhšie študuje pod názvom *Malawimonas californiensis* (resp. *californianus* alebo *californiana*) (Simpson, 2017). Ďalším zástupcom Malawimonadidae je rod *Gefionella*. Zatiaľ čo rod *Malawimonas* má na posteriornom bičíku len jednu ventrálne orientovanú plutvičku, rod *Gefionella* má na ňom dve protistojné plutvičky (Adl a kol., 2019).



Obr. 27.1. **Malawimonas jakobiformis** ***s typickou exkavátnou morfológiou***

27.2 Metamonada

Metamonada sú skupinou **heterotrofných anaeróbnych alebo mikroaerofilných prvokov**. Takmer všetky majú **bičíky**. Spoločný predchodca skupiny Metamonada mal pravdepodobne typickú exkavátnu ryhu a štyri bičíky. Ventrálna exkavátna ryha a s ňou asociovaný cytoskelet sa však vyskytuje už len u niektorých recentných zástupcov. **Namiesto klasických aeróbnych mitochondrií majú** tieto mikroorganizmy **anaeróbne deriváty mitochondrií bez kríst a genómu – hydrogenozómy alebo mitozómy** (alebo im mitochondrie chýbajú úplne). **Peroxizómy nie sú prítomné a väčšinou im chýba aj Golgiho aparát** (GA) (okrem skupiny Parabasalia a rodov *Trimastix* a *Paratrimastix* zo skupiny Preaxostyla). Popri voľne žijúcich a parazitických druhoch zahŕňa táto skupina aj endosymbiontov živočíchov (Adl a kol., 2019).

Medzi Metamonada patria aj rôzne skupiny, o ktorých sa predpokladalo, že sú bazálnymi skupinami v rámci eukaryotického stromu. O skupinách Diplomonadida (napr. rod *Giardia*) zo skupiny Fornicata a Parabasalia (napr. rod *Trichomonas*) sa kedysi predpokladalo, že by mohlo ísť o veľmi starobylé eukaryoty, keďže u nich najprv nebolo možné identifikovať typické mitochondrie. Zdalo sa teda, že eukaryotická bunka vznikla ešte pred endosymbiózou s α-proteobaktériami, z ktorých vznikli mitochondrie. Neskôr sa však

ukázalo, že tieto skupiny obsahujú značne redukované anaeróbne mitochondrie (hydrogenozómy alebo mitozómy), čo do značnej miery spochybnilo hypotézu, žeby eukaryotická bunka vznikla ešte pred prijatím endosymbiotických α-proteobaktérií. Hoci sa napokon ukázalo, že rod *Monocercomonoides* zo skupiny Preaxostyla pravdepodobne vôbec mitochondrie nemá, v súčasnosti sa predpokladá, že ich stratil sekundárne (Karnkowska a kol., 2016).

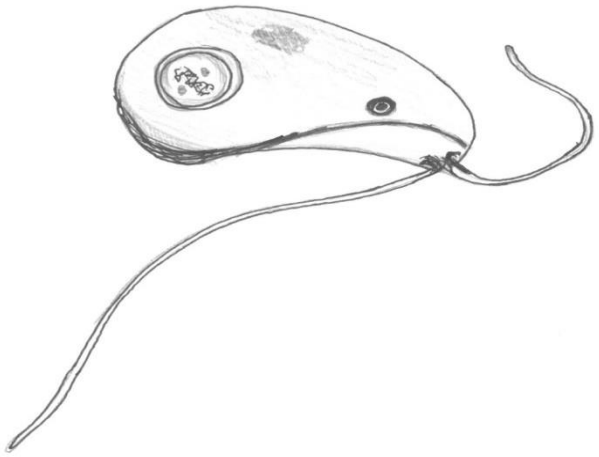
Taxonomické postavenie **Metamonada** je sporné. Niektoré staršie fylogenetické analýzy naznačujú ich bližší evolučný vzťah so skupinou Discoba alebo rodom *Malawimonas* (Hampl a kol., 2009; Cavalier-Smith a kol. 2014), no podľa najnovších fylogenetických analýz **pravdepodobne predstavujú samostatnú líniu v rámci eukaryotov**, pričom evolučné vzťahy s ostatnými skupinami eukaryotov sú nejasné. Tri hlavné podskupiny Metamonada sú **Fornicata, Preaxostyla a Parabasalia** (Adl a kol., 2019)

27.2.1 Fornicata

Táto skupina zahrňuje **prvoky s anaeróbnymi mitochondriami bez kríst**. Zástupcovia sú morfologicky pomerne rozmanití **– s exkavátnou morfológiu alebo bez nej, s jedným alebo dvoma jadrami a s dvoma, štyrmi alebo aj viacerými bičíkmi**. Niektorí zástupcovia sú parazitickí, iní žijú vo voľnom prostredí. Do tejto podskupiny zaraďujeme **Retortamonadida** (retortamonády), **Diplomonadida** (diplomonády), **Carpediemonadida** (karpediemonády) **a Caviomonadidae** (Adl a kol., 2019).

27.2.1.1 Carpediemonadida

Takmer všetky Carpediemonadida (karpediemonády), resp. ***Carpediemonas*-like organisms** („CLOs“, organizmy podobné rodu *Carpediemonas*, obr. 27.2) sú **voľne žijúce**, najmä **morské, anaeróbne** (prípadne mikroaerofilné) bičíkovce, často sa vyskytujúce najmä v morských hypoxických sedimentoch. Sú relatívne bežné a **kozmopolitné**.



Obr. 27.2. **Carpediemonas** ***sp. s typickou exkavátnou morfológiou***

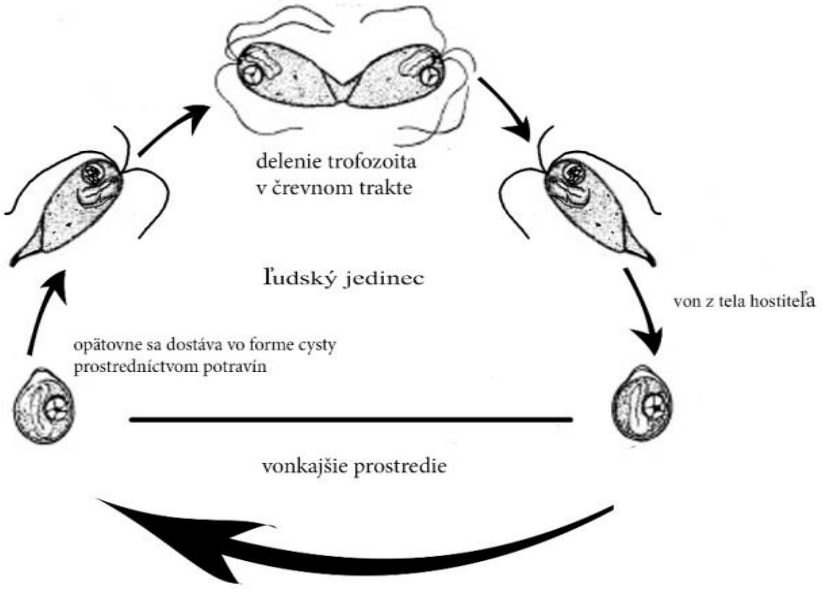
Bunky týchto mikroorganizmov majú **typickú exkavátnu morfológiu s pozdĺžnou brušnou ryhou**. Majú **dva bičíky**, ale zvyčajne viacero bazálnych teliesok. Jeden bičík je predný a druhý, zadný (s 1-3 plutvičkami) smeruje dozadu a priháňa potravu do potravovej ryhy. Jadro sa vždy nachádza v prednej časti bunky, v úzkom spojení s bazálnymi telieskami. Klasické mitochondrie chýbajú, avšak viaceré **anaeróbne mitochondrie bez kríst** (organely ohraničené dvojitou membránou) sú prítomné u všetkých karpediemonád. Membrány týchto organel tesne priliehajú k sebe, ale vnútorná membrána nevytvára kristy (Simpson a Patterson 1999; Adl a kol., 2019).

S najväčšou pravdepodobnosťou ide o **parafyletickú skupinu** (Adl. a kol., 2019). Jednotlivé skupiny karpediemonád sú pravdepodobne na báze fylogenetického stromu skupiny Fornicata.

27.2.1.2 Retortamonadida

Retortamonády vyznačujúce sa **typickou exkavátnou morfológiou** žijú poväčšine ako **endobionti v črevách** bezstavovcov a stavovcov, niektoré sú však aj parazitické. Sú to **bakteriovorné** (baktérie požierajúce) **bičíkovce** s veľkosťou 5-20 µm (Kulda a kol., 2017). Majú štyri bazálne telieska a **dva alebo štyri bičíky**, pričom jeden z nich má 2-3 plutvičky a prechádza exkavátnou ryhou, ktorá je pomerne veľká. Je tvorená komplexom cytostómu a cytofarynxu, ktoré sú vystužené mikrotubulami a inými cytoskeletárnymi štruktúrami (Kulda a Nohýnková, 1978). Jadro je lokalizované v anteriornej časti bunky v blízkosti bazálnych teliesok. V súčasnosti sú známe len dva rody – *Retortamonas* a *Chilomastix*, pričom bolo opísaných asi 60 druhov. Rod *Retortamonas* je parafyletický (Kulda a kol., 2017).

Retortamonády sa zvyčajne vyskytujú v tráviacom trakte bezstavovcov a stavovcov, ale obyčajne nie sú patogénne. Dva druhy *Retortamonas intestinalis* a *Chilomastix mesnili* sa nachádzajú v ľudskom hrubom čreve, pričom *C. mesnili* (obr. 27.3) môže byť aj potenciálne patogénny a spôsobovať hnačku. *C. mesnili* má štyri voľné bičíky vychádzajúce z anteriorneho konca, pričom jeden z nich prechádza brušnou ryhou (Kulda a kol., 2017).



Obr. 27.3. Životný cyklus **Chilomastix mesnili**

V prípade druhu *C. mesnili* zahŕňa životný cyklus dve etapy (obr. 27.3). Pohyblivé štádium (trofozoit) sa množí nepohlavným delením v črevách. Infekčné štádium mimo čreva človeka zahŕňa cysty, ktoré sú chránené hrubou stenou (Kulda a Nohýnková 1978). K prenosu medzi hostiteľmi dochádza pri požití cyst vypúšťaných do prostredia prostredníctvom výkalov infikovaných jedincov.

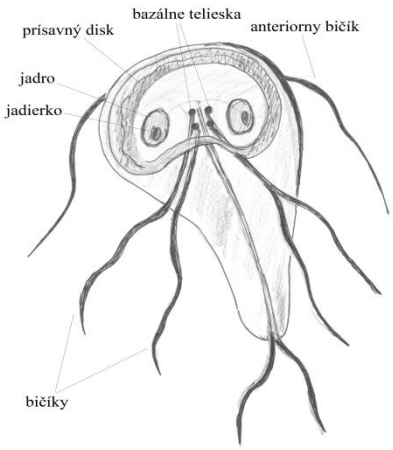
Väčšina druhov retortamonád má pravdepodobne vysokú hostiteľskú špecifitu, ale niektoré z nich môžu mať aj širšie hostiteľské spektrum. Známy je aj jeden voľne žijúci druh (*Chilomastix cuspidata*) (Kulda a kol., 2017).

27.2.1.3 Diplomonadida

Diplomonadida sú malé anaeróbne bičíkovce, pričom niektoré stratili niektoré klasické exkavátne znaky. Niektoré druhy, **enteromonády** (napr. druhy rodu *Enteromonas*), **majú štyri bičíky**, ktorých **bazálne telieska** (kinetozómy) sú cytoskeletárnymi štruktúrami **prepojené s jadrom** (tzv. **karyomastigont**). Iné druhy, **diplomonády**, majú **zdvojenú morfológiu**, teda majú **dve jadrá** a zvyčajne **osem bičíkov** a majú vlastne **karyomastigonty dva** (Kolísko a kol., 2008; Adam, 2017). Diplomonadida **nemajú klasické mitochondrie** (len ich anaeróbne deriváty) a **chýbajú** im aj **peroxizómy**. **Golgiho aparát (GA) nie je** tiež **viditeľný**. **Cytostóm** je zvyčajne len **nepatrný** alebo **môže aj chýbať** (Desser a kol., 1993; Poynton a Sterud, 2002).

V tejto skupine sa vyskytujú **voľne žijúce** diplomonády, no **väčšina druhov** je **parazitických**. Patria sem dve skupiny – **Hexamitinae** (s cytostómom alebo potravovou ryhou, endobionti a voľne žijúce enteromonády a diplomonády) a **Giardiinae** (bez cytostómu, len endobiontické diplomonády; jeden intercytoplazmatický pár bičíkov prechádza celou bunkou) (Adl a kol., 2019). Najznámejšie a najpreskúmanejšie parazity z tejto skupiny sú ***Giardia*** *intestinalis* (Giardiinae) a *Hexamita* (Hexamitinae).

G. intestinalis (obr. 27.4) je **črevný parazit**, ktorý má **na ventrálnej strane prísavný disk** a rôzne cytoskeletárne štruktúry. Má **dve jadrá a štyri páry bičíkov** (4+4 bazálne telieska). Prísavným diskom **adheruje na stenu tenkého čreva**, čím **sťažuje vstrebávanie živín**. K epidémiám vyvolaným týmito parazitmi dochádza najčastejšie u osôb s oslabenou imunitou. Prenos na hostiteľov sa uskutočňuje najmä prostredníctvom vody zo zamorených rezervoárov obsahujúcich cysty týchto organizmov.



Obr. 27.4. **Giardia intestinalis** ***z ventrálnej strany***

Väčšina druhov črevných parazitov z rodu *Hexamita* má dve oválne jadrá s bazálnymi telieskami bičíkov nachádzajúcimi sa na vonkajšom povrchu jadra (dva karyomastigonty). Osem bičíkov má rôznu orientáciu a úlohu. Tieto bičíky tvoria páry, pričom každý pár tvorí jeden bičík z každého karyomastigonta. Tri páry bičíkov sa nachádzajú v prednej časti bunky, zatiaľ čo jeden pár bičíkov je spätný (Jorgensen a Sterud, 2006).

27.2.2 Preaxostyla

Skupinu Preaxostyla zahŕňajú heterotrofné mikroorganizmy **žijúce anaeróbne, prípadne mikroaerofilne v moriach i v sladkých vodách**. Skupina dostala názov podľa prítomnosti charakteristickej štruktúry (obsahujúcej tzv. parakryštalín, z angl. paracrystalline – pravidelná štruktúra pripomínajúca mriežku) v blízkosti báz bičíkov – **preaxostyl**. Patria sem tri skupiny – **Trimastigidae, Paratrimastigidae a Oxymonadida** (Adl a kol., 2019).

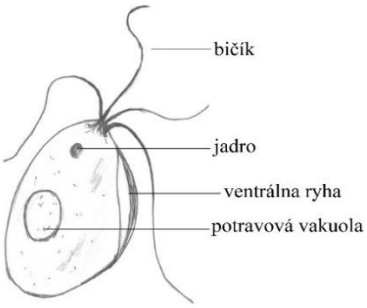
Trimastigidae (rod *Trimastix*) a **Paratrimastigidae** (rod *Paratrimastix*) majú typické exkavátne cytoskeletárne štruktúry a **exkavátnu brušnú ryhu** (Simpson, 2003, Yubuki a kol., 2013; Hampl, 2017). Majú **štyri anteriorne bičíky**, z ktorých jeden je **spätný** a **prechádza ventrálnou ryhou** (Hampl, 2017; Adl a kol., 2019).

Na rozdiel od nich, skupina **Oxymonadida** (oxymonády, napr. rody *Monocercomonoides*, *Microrhopalodina* a *Oxymonas*) exkavátnu morfológiu stratila, a teda ventrálnu **exkavátnu ryhu nemajú**. **Z preaxostylu vychádza mikrotubulová štruktúra prechádzajúca pozdĺžne celou bunkou – axostyl** (nie je homologický axostylu skupiny Parabasalia). V prípade niektorých druhov je axostyl kontraktilný a môže napomáhať pohybu. Oxymonády nemajú peroxizómy a GA nie je viditeľný, hoci gény asociované s GA sú prítomné (Karnkowska a kol., 2016; Hampl, 2017).

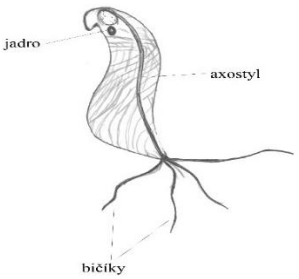
Trimastigidae a **Paratrimastigidae** majú **anaeróbne mitochondrie (hydrogenozómy)**. U oxymonády *Monocercomonoides exilis* sa napriek veľkým snahám nepodarilo identifikovať žiadne mitochondrie ani ich pozostatky. Pravdepodobne došlo k ich úplnej sekundárnej strate (Karnkowska a kol., 2016). Je možné, že **oxymonádam ako jediným známym eukaryotom chýbajú mitochondrie úplne** (Hampl, 2017).

Preaxostyla majú buď otvorenú mitózu (ako napr. rod *Paratrimastix*) alebo mitózu uzavretého typu s mitotickým vretienkom formujúcim sa v jadre (u skupiny Oxymonadida). U niektorých bolo pozorované aj pohlavné rozmnožovanie (Hampl, 2017).

Bakteriovorné rody *Trimastix* (obr. 27.5) **a *Paratrimastix* sa voľne vyskytujú v sedimentoch morských alebo sladkovodných biotopov s nízkym obsahom kyslíka**. **Oxymonády** sa vyskytujú **v črevách drevožravých švábov a termitov**, ktorým **pomáhajú spracovávať celulózu** (Hampl, 2017). Oxymonáda *Dinenympha* sp. (obr. 27.6) môže mať na povrchu epibiotické baktérie.



Obr. 27.5. **Trimastix *sp.***

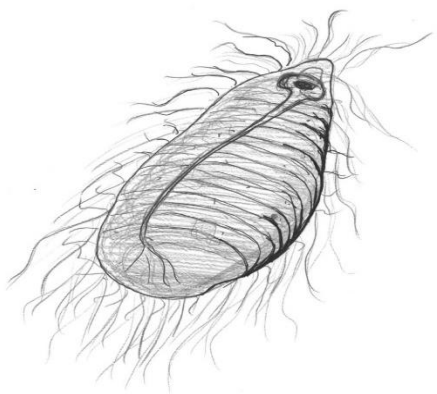


Obr. 27.6. Oxymonáda **Dinenympha *sp.***

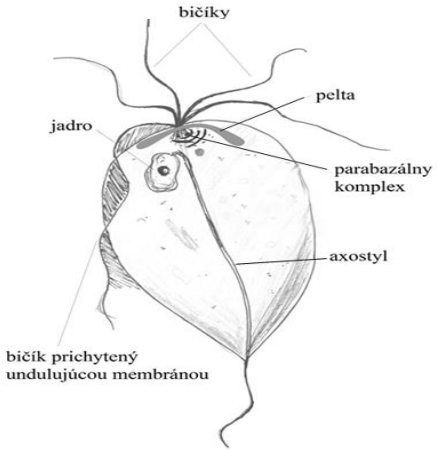
27.2.3 Parabasalia

Parabasalia sú skupinou **heterotrofných anaeróbnych prvokov**. Ich **spoločný predchodca** mal pravdepodobne **štyri anteriorne** bičíky (štyri bazálne telieska), ale **u niektorých zástupcov došlo k mnohonásobnému zmnoženiu bičíkov**. **Mnohí zástupcovia** majú **spätný bičík pripojený k bunke pomocou undulujúcej membrány**. Hoci ich predchodca pravdepodobne mal exkavátnu morfológiu, všetci recentní zástupcovia **stratili typické exkavátne znaky**, akými sú ventrálna ryha a cytostóm. Na rozdiel od väčšiny zástupcov Metamonada **majú GA**. **GA podporený** tzv. **parabazálnym vláknom je prepojený s mikrotubulami bazálnych teliesok bičíkov**. Túto štruktúru nazývame **parabazálny komplex**. Mitochondrie boli pozmenené na **anaeróbne hydrogenozómy**. Majú aj **vnútornú cytoskeletárnu kostru** predstavovanú **axostylom** a **peltou.** Axostyl je tyčinkovitá štruktúra prechádzajúca celou bunkou, zvyčajne presahujúca posteriorny koniec bunky. Pelta je polmesiačikovitá štruktúra v anteriornej časti bunky. K ich nepohlavnému rozmnožovaniu dochádza prostredníctvom uzatvorenej mitózy, pri ktorej nezaniká jadrová membrána (Čepička a kol., 2017; Adl a kol., 2019).

V minulosti sa rozdeľovali len do dvoch skupín – **malé jednoduchšie „trichomonády“ s počtom bičíkov do šesť a zvyčajne podstatne väčšie** (~ 200 μm) **„hypermastigoty“ s veľkým počtom bičíkov**. Ani jedna z týchto dvoch skupín však nie je monofyletická. V súčasnosti sa rozdeľujú do ôsmich skupín – Trichomonadida, Honigbergiellida, Hypotrichomonadida, Tritrichomonadida, Cristamonadida, Spirotrichonymphida, Lophomonadida a Trichonymphida (Čepička a kol., 2017; Adl a kol., 2019).



Obr. 27. 7. **Holomastigotes *sp.***



Obr. 27.8. **Trichomonas vaginalis**

Takmer všetci zástupcovia (trichomonády aj hypermastigonty) sú **symbiontami zažívacieho traktu** (endobiontami) bezstavovcov, ale aj stavovcov, vrátane človeka. Prevažne sú však popísané z čriev termitov a švábov, ktorým pomáhajú tráviť celulózu. Príkladom veľkého **mnohobičíkatého endobiotického hypermastigota** je rod ***Holomastigotes*** (obr. 27.7) zo skupiny Spirotrichonymphida. Zaujímavým zástupcom skupiny Cristamonadida je prvok ***Mixotricha paradoxa***, ktorý má **na svojom povrchu** minimálne dva druhy **ektosymbiotických baktérií – spirochét**. Tento prvok žije v črevách

austrálskych termitov, ktorým pomáha tráviť celulózu. Hoci má na anteriornom konci bičíky, nevyužíva ich na pohyb. **Na pohyb** mu slúžia práve ektosymbiotické spirochéty. Hoci je väčšina druhov Parabasalia endobiontických, výskyt niektorých druhov bol potvrdený aj v sladkovodných, brakických a morských usadeninách po celom svete (Čepička a kol., 2017).

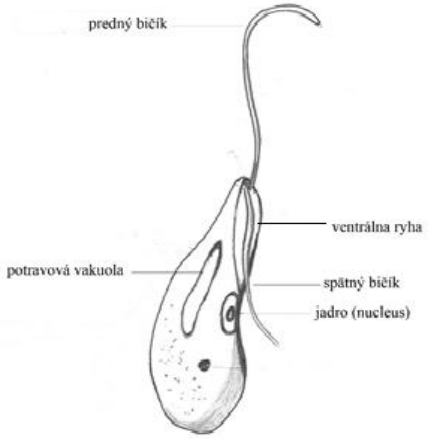
Medzi najznámejšie parazitické druhy patrí ľudský **vaginálny parazit *Trichomonas vaginalis*** (obr. 27.8) zo skupiny Trichomonadida, ktorý spôsobuje urogenitálnu trichomoniázu. Ide o jednu z najbežnejších pohlavných chorôb a je príčinou slizničných lézií urogenitálneho traktu, čo môže zvýšiť aj riziko infekcie vírusom HIV (Rendon-Maldonado a kol., 2003). Ide o pomerne **malý mikrorganizmus** (~ 8 μm) **so štyrmi antriornymi bičíkmi**, pričom **piaty (posteriorny) smeruje dozadu a pripája sa k bunke pomocou undulujúcej membrány** (obr. 27.8). Na sliznicu urogenitálneho traktu sa tieto prvoky prichytávajú pomocou panôžok a po prichytení k sliznici vytvoria amébovitú formu.

27.3 Discoba

Discoba sú pravdepodobne monofyletickou skupinou, do ktorej zaraďujeme taxóny Jakobida, Tsukubamonadida, Heterolobosea a Euglenozoa (Euglenida, Diplonemida, Kinetoplastida a Symbiontida) (Adl a kol., 2019)**. Heterolobosea a Euglenozoa** sú si blízko príbuzné taxóny a dokopy tieto dve skupiny označujeme ako **Discicristata** (obe skupiny majú diskoidálne mitochondriové kristy) (Adl a kol., 2012).

27.3.1 Jakobida

Jakobida sú **malé voľne žijúce heterotrofné bičíkovce**. Všetky dobre skúmané druhy majú dva bičíky. Jakobida sú typické bičíkovce **s exkavátnou morfológiou**, majú teda nápadnú **ventrálnu ryhu a predný a spätný bičík** s jednou dorzálnou plutvičkou, pričom **spätný prechádza ventrálnou ryhou a prináša do nej potravu** (najmä baktérie) (Simpson, 2017; Adl a kol., 2019). Jednotlivé potravové častice sú následne fagocytované. Hoci sú zástupcovia Jakobida vo všeobecnosti považovaní za bakteriovorných, niektorí zástupcovia (ako napr. *Jakoba libera*, obr. 27.9) môžu tiež konzumovať extrémne malé eukaryoty (1 μm), ako je napr. *Ostreococcus tauri*.



***Obr. 27.9.* Jakoba libera**

Zástupcovia sú plávajúci, no u niektorých sa môžu striedať plávajúce a prisadnuté štádiá. V prípade prisadnutých štádií sú bunky uložené v organickej priesvitnej lorike a brušná ryha je otočená na opačnú stranu ako časť loriky, ktorou sú prichytené k substrátu (Simpson, 2017). Jakobida boli pozorované v mnohých biotopoch, vrátane vodného stĺpca a sedimentov zo sladkovodných aj morských biotopov. Tiež boli izolované aj z pôdy. Môžu obývať aeróbne aj anaeróbne biotopy. Striktne anaeróbni zástupcovia (rody *Stygiella* a *Velundella*) majú mitochondrie pozmenené a redukované na hydrogenozómy. Medzi najznámejšie aeróbne rody patria *Jakoba, Andalucia, Histiona* a *Reclinomonas* (Simpson, 2017; Adl a kol., 2019).

Aeróbne Jakobida sú zaujímavé najmä vďaka ich mitochondriovým genómom. Lang a kol. (1997) ako prví osekvenovali a popísali mitochondriový genóm *Reclinomonas americana*, ktorý obsahuje až 97 génov, z ktorých niektoré boli doteraz identifikované len v mitochondriových genómoch Jakobida. *R. americana*, ale aj iní zástupcovia Jakobida teda obsahujú **najviac mitochondriových génov spomedzi všetkých** doposiaľ študovaných **eukaryotov**. Zaujímavé je aj to, že štyri podjednotky RNA polymerázy bakteriového typu sú stále kódované mitochondriovým genómom *R. americana*, ale aj *Andalucia godoyi*, pričom u ostatných skupín eukaryotov vrátane ostatných skupín Excavata bol enzymatický komplex α-proteobaktériovej RNA polymerázy nahradený jadrom kódovanou RNA-polymerázou pochádzajúcej z bakteriofága. Mitochondriový genóm Jakobida sa teda pravdepodobne najviac podobá pôvodnému proto-mitochondriovému genómu spoločného predka všetkých eukaryotov (Lang a kol., 1997; Simpson a kol., 2006; Burger a kol., 2013).

27.3.2 Tsukubamonadida

Yabuki a kol. (2011) prvýkrát popisujú doposiaľ jediný reprezentatívny druh ***Tsukubamonas globosa***. Bol izolovaný z rybníka na Univerzite v meste Tsukuba v Japonsku. Ide o **voľne žijúceho heterotrofného bičíkovca s dvomi bičíkmi**, ktorého **zaguľatené bunky** sú vysoko vakuolizované. Plávanie sa vyznačuje rotujúcim pohybom buniek. *T. globosa* **má ventrálnu ryhu**, ktorá je však viditeľná len počas požierania baktérií (Yabuki a kol., 2011). Ide o aeróbneho bičíkovca bez GA (Adl a kol., 2019).

Fylogenetické analýzy naznačujú, že *T. globosa* je samostatnou skupinou v rámci taxónu Discoba. Zdá sa, že tento organizmus má v rámci Discoba evolučne bližšie k Disciristata (Euglenozoa a Heterolobosea) ako k Jakobida (Kamikawa a kol., 2014).

27.3.3 Heterolobosea

Medzi Heterolobosea (synonymum Percolozoa) patria rôzne **améby alebo bičíkovce**, prípadne sa u nich **počas životného cyklu môžu striedať bičíkaté a amébovité štádiá alebo aj štádium cysty**. Medzi zástupcov, ktorí majú len štádium améby, patrí napr. rod *Vahlkampfia*. Rody *Percolomonas* a *Stephanopogon* majú zase len štádium bičíkovca. **Bičíkovce** majú obyčajne **dva alebo štyri bičíky** (zriedkavo jeden alebo mnoho bičíkov) (Pánek a kol., 2017; Adl a kol., 2019).

Vzhľadom na to, že sa mnohé Heterolobosea sa podobajú amébam z taxónov Amoebozoa a Rhizaria, boli dlhšiu dobu začleňované spolu s nimi do taxónu Rhizopoda (Koreňonožce). Neskôr bolo zistené, že Heterolobosea nie sú príbuzné iným amébovitým organizmom, ale sú blízko príbuzné skupine Euglenozoa (ako napr. parazitické trypanozómy alebo fototrofné euglény, viď kapitola 27.3.4). Heterolobosea a Euglenozoa spolu tvoria taxón Discicristata.

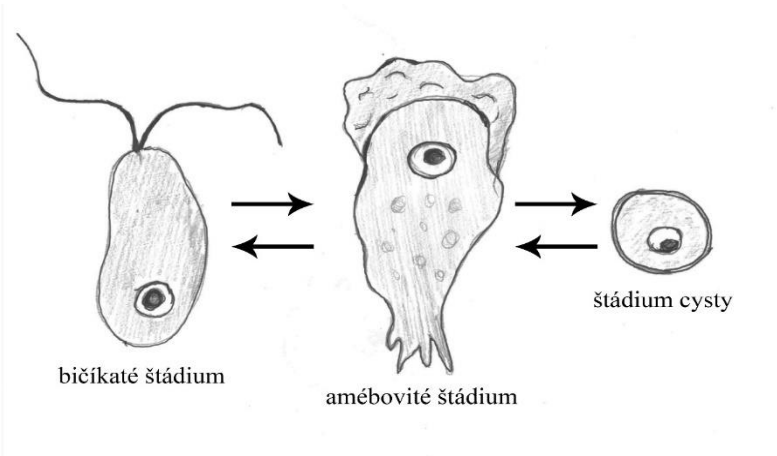
Exkavátna morfológia (ventrálna ryha s asociovaným cytoskeletom) sa zachovala už **len u niektorých zástupcov** (napr. štvorbičíkatý rod *Percolomonas*). GA je prítomný, ale nie je dobre viditeľný. Bunka obsahuje zvyčajne len **jedno jadro s centrálne** alebo subcentrálne **uloženým jadierkom**. Heterolobosea majú **uzavretú intranukleárnu mitózu**, počas ktorej jadrová membrána nezaniká a mitotické vretienko sa formuje vo vnútri jadra (Pánek a kol., 2017).

Mitochondrie majú **sploštené, často diskoidálne kristy**, no u anaeróbnych zástupcov (konkrétne Creneidae) boli mitochondrie pozmenené na hydrogenozómy bez kríst (Adl a kol., 2019). Mnoho zástupcov Heterolobosea má blízke spojenie mitochondrií a endoplazmatického retikula, čo bolo pôvodne považované za charakteristické pre Heterolobosea (Page a Blanton 1985).

Zástupcovia Heterolobosea obývajú **morské, sladkovodné a pôdne biotopy**. Niektoré (konkrétne Tulamoebidae) sú halofilné (žijú v prostredí s vysokou koncentráciou solí) alebo vysoko halotolerantné (Pánek a kol., 2017; Adl a kol., 2019).

Podľa najnovšieho systému sa rozdeľujú na Pharyngomonada (napr. rod *Pharyngomonas*) a Tetramitia. Do skupiny Tetraminia patria Selenaionidae (napr. rod *Selenaion*), Neovahlkampfiidae (napr. rod *Neovahlkampfia*) a Eutetramitia. Eutetramitia sa ďalej rozdeľujú na Vahlkampfiidae (napr. rod *Vahlkampfia*), Gruberellidae (napr. rod *Gruberella*), Acrasidae (napr. rod *Acrasis*), Percolomonadidae (napr. rod *Percolomonas*), Psalteriomonadidae (napr. rod *Psalteriomonas*), Stephanopogonidae (napr. rod *Stephanopogon*), Creneidae (napr. rod *Creneis*) a Tulamoebidae (napr. rod *Tulamoeba*) (Adl a kol., 2019).

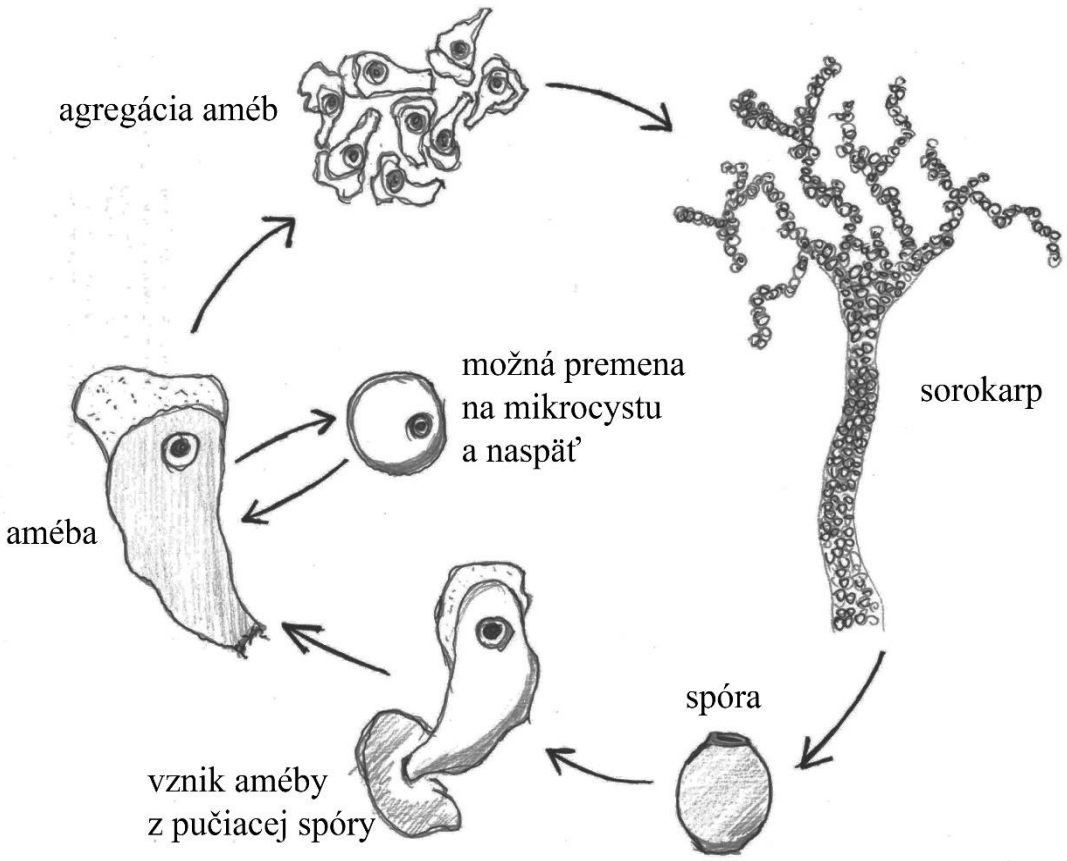
Najznámejším a najviac skúmaným rodom je ***Naegleria*** zo skupiny **Vahlkampfiidae,** u ktorého sa vyskytujú a striedajú **dve pohyblivé štádiá (bičíkaté a amébovité) a nepohyblivé štádium cysty**. Bičíkaté štádium *Naegleria fowleri* má **dva bičíky** a amébovité štádium môže prejsť do štádia cysty (obr. 27.10). Podobný životný cyklus má aj rod *Tetramitus* (tiež zo skupiny Vahlkampfiidae), jeho bičíkaté štádium má však až štyri bičíky. *N. fowleri* je pôvodca **zriedkavej amébovej meningo-encefalitídy**. Hoci je toto ochorenie pomerne zriedkavé, môže mať pre človeka aj smrteľné následky. K infekcii ľudského organizmu môže dôjsť počas kúpania v teplých sladkovodných jazerách, horúcich prameňoch alebo požitím kontaminovanej vody z vodovodu (Pánek a kol., 2017).



Obr. 27.10. Životný cyklus **Naegleria fowleri**

Zástupcovia rodu ***Acrasis***, ale aj viacerých iných rodov zo skupiny **Acrasidae** sú améby, ktoré počas hladovania (prípadne iných stresových podmienok) môžu vytvárať

mnohobunkové štádiá. **Améby majú schopnosť agregácie**, pričom sa následne **vytvára mnohobunkový útvar sorokarp** (v procese tzv. sorogenézy). **Na sorokarpe** sa vytvárajú **spóry, z ktorých** opäť **vyrastú** jednobunkové **amébovité štádiá** (obr. 27.11). Tento životný cyklus je podobný životnému cyklu rodu *Dictyostelium* zo skupiny Amoebozoa (Pánek a kol., 2017), spoločne s ktorým boli Acrasidae v minulosti radené medzi huby. Zástupcovia rodu *Acrasis* sa vyskytujú sa suchozemskom prostredí a boli kultivované z rôznych vzoriek odumretých rastlinných častí a zriedkavo aj z kôry živých stromov (Brown a kol., 2012).



Obr. 27.11. Životný cyklus* Acrasis *sp.

Rod ***Stephanopogon*** (Stephanopogonidae, niekedy označované aj ako „Pseudociliata“) bol pôvodne považovaný za zvláštneho zástupcu skupiny Ciliata, pretože **má mnoho bičíkov usporiadaných v radách** (kinetách) rovnako ako zástupcovia tejto skupiny. Bičíky sú však rozmiestnené v kinetách len **na ventrálnej strane bunky**. Kortex (cytoskelet pod cytoplazmatickou membránou) má podobný skupine Euglenida. Na základe fylogenetických analýz sa však ukázalo, že patrí do skupiny Heterolobosea (Cavalier-Smith a Nikolaev, 2008; Yubuki a Leander, 2008). Vyskytuje sa v morskom prostredí. Požiera baktérie a prvoky. Životný cyklus tohto rodu je nezvyčajný, pretože **počet jadier v bunke sa počas jeho životného cyklu zvyšuje**. Len takéto mnohojadrové štádium môže vytvoriť cystu. **V cyste prebehne mnohonásobná cytokinéza**, pričom vznikne veľa dcérskych buniek s jedným jadrom. Jadrá dcérskych buniek sa ešte pred uvoľnením z cysty zduplikujú (Pánek a kol., 2017).

27.3.4 Euglenozoa

Spoločný predchodca skupiny **Eugleonozoa** mal pravdepodobne **dva bičíky** vybiehajúce z apikálnej alebo subapikálnej priehlbiny, tzv. periflagelárnej kapsy alebo ampuly. Táto štruktúra však pravdepodobne pravdepodobne nie homologická s exkavátnou brušnou (ventrálnou) ryhou. **Exkavátnu ryhu** zástupcovia Euglenozoa **nemajú**. Recentní zástupcovia majú väčšinou dva bičíky, zriedkavo viac alebo len jeden bičík (Adl a kol., 2019). Jeden z bičíkov je hrubý, vystužený tzv. paraflagelárnou tyčou.

Väčšinou sú zástupcovia Euglenozoa aeróbne mikroorganizmy (okrem Symbiontida), prevažne obsahujúce **jednu mitochondriu s diskoidálnymi mitochondriovými kristami**. Komplexy dýchacieho reťazca týchto bičíkovcov obsahujú viaceré unikátne podjednotky, ATP syntáza má unikátnu štruktúru a mitochondriový genóm nekóduje žiadne tRNA (Vesteg a kol., 2019).

Zástupcovia Euglenozoa majú len **jedno jadro s centrálne uloženým jadierkom**. **Mitóza** je **uzatvorená**, jadrová membrána a jadierko ostávajú počas mitózy zachované. **Súčasťou jadrovej DNA** je okrem A, C, G a T aj nezvyčajná **báza J** (β-D-glukozyl-hydroxymetyluracil) (Vesteg a kol., 2019).

K takmer všetkým svojim jadrovým mRNA pridávajú čiapočku (cap) pomocou mechanizmu tzv. **SL-RNA *trans*-splicingu**, pričom sa 5`-koniec pre-mRNA nahradí 5`-koncom tzv. SL-RNA (z angl. spliced leader RNA), ktorý čiapočku (potrebnú pre transláciu) obsahuje. Tohto procesu sa zúčastňuje spliceozóm, ktorý vystrihuje aj *cis*-intróny v rámci jednej pre-mRNA molekuly. U väčšiny eukaryotov dochádza k „očiapočkovaniu“ 5`-konca mRNA len za pomoci enzýmov (viď kapitola 9). Na rozdiel od väčšiny organizmov nemajú Euglenozoa schopnosť regulovať génovú expresiu na úrovni transkripcie, ale **prevažuje** u nich **post-transkripčná kontrola génovej expresie** (Vesteg a kol., 2019).

Zaraďujeme sem skupiny **Euglenida** (Euglenoidea), **Symbiontida** (Postgaardea), **Diplonemida** (Diplonemea) a **Kinetoplastida** (Kinetoplastea) (Adl a kol., 2019). V niektorých systémoch sú však Symbiontida považované len za jeden z taxónov v rámci Euglenida (Leander a kol., 2017). Okrem niektorých zástupcov zo skupiny Euglenida je väčšina zástupcov heterotrofných.

27.3.4.1 Euglenida

Do skupiny Euglenida (euglény) patria **fagotrofné, osmotrofné aj fototrofné mikroorganizmy**, ktoré **majú pod cytoplazmatickou membránou tzv. pelikulu. Pelikula** je **štruktúra pozostávajúca z paralelných proteínových** (pozdĺžnych alebo helikálnych, resp. špirálovite stočených) **pásov** (prúžkov) **podporených mikrotubulami.** Ak je pelikulových prúžkov viac ako cca 20, môžu sa susedné pásy „kĺzať“ jeden po druhom, čím sa pelikula môže sťahovať a rozťahovať a tvar bunky sa neustále pomerne rýchlo mení. Takýto **charakteristický plazivý pohyb euglén** (za pomoci pelikuly) označujeme pojmom **metabólia**.

Chromozómy sú **kondenzované** (a preto aj dobre viditeľné) **počas celého bunkového cyklu** vrátane interfázy (Leander a kol., 2017). Väčšina euglén má pravdepodobne **pomerne veľké jadrové genómy** (porovnateľné s ľudským, ~ 10^9 bp) (Vesteg a kol., 2019). Bunky sa **rozmnožujú nepohlavne pozdĺžnym delením** začínajúcim v ampule. Pohlavné rozmnožovanie nie je známe (s výnimkou fagotrofného rodu *Scytomonas*).

U všetkých doposiaľ študovaných euglén je **zásobnou látkou polysacharid paramylon**, **ukladaný v cytoplazme** vo forme granúl (zŕn) obalených membránou alebo

v okolí pyrenoidu z vonkajšej strany chloroplastu. Je to β-1,3-glukán, chemicky sa podobný škrobu, ale v reakcii s jódom nedáva typickú škrobovú reakciu (Leander a kol., 2017). Paramylónové zrná môžu byť malé a početné, veľké a v malom počte alebo sú prítomné veľké aj malé zrná (Monfils, 2011).

Väčšina najlepšie preštudovaných a najhojnejšie sa vyskytujúcich zástupcov Euglenida je **fototrofná** – väčšina zástupcov taxónu **Euglenophyceae** (resp. Euglenophyta). **Bazálne línie Euglenida** sú však **nefotosyntetické a prevažne fagotrofné**, **bakteriovorné alebo eukaryovorné** – skupina **Heteronematina**. Medzi bakteriovorné rody patria napr. *Ploetia* a *Petalomonas* a medzi eukaryovorné rody napr. *Dinema* a *Peranema*. Heteronematina sú však zrejme parafyletickou skupinou, z ktorej vznikli **Aphagea** (primárni osmotrofi) **bez chloroplastov a bez schopnosti fagocytózy, vyživujúce sa osmotrofne** (absorbciou látok z prostredia) (napr. rody *Distigma* a *Rhabdomonas*) a prevažne fototrofné Euglenophyceae s chloroplastami. Fotoautotrofné a osmotrofné druhy sa hojne vyskytujú vo vodnom prostredí bohatom na organické živiny a sú užitočnými indikátormi organického znečistenia vôd. Fagotrofné druhy sú dôležitými zložkami mikrobiálnych potravinových reťazcov najmä v sedimentoch.

Do skupiny **Euglenophyceae** (resp. Euglenophyta) patria **prevažne fototrofné a mixotrofné druhy**, schopné sa vyživovať aj osmotrofne. Rod ***Rapaza*** s dvomi bičíkmi je jediný z tejto skupiny, ktorý obsahuje **fotosyntetické chloroplasty a zároveň je schopný fagocytózy** (Yamaguchi a kol., 2012). Pravdepodobne **je samostatnou bazálnou líniou Euglenophyceae**. Fagocytuje drobné riasy.

Chloroplasty skupiny Euglenophyceae vznikli sekundárnou endosymbiózou – **pohltením zelenej riasy** (viď kapitola 22) príbuznej rodu *Pyramimonas* (viď kapitola 25.2.3.1.1) z vývojovej línie Chlorophyta (viď kapitola 25.2.3.1). Hostiteľom pre zelenú riasu bola fagotrofná eukaryovorná heterotrofná eugléna. **Chloroplasty Euglenophyceae majú tri membrány**, ktoré **nie sú asociované s endoplazmatickým retikulom** a **nemajú** ani zachované rudimentárne jadro endosymbiontickej riasy, tzv. **nucleomorf**. Obsahujú **plastidový genóm cyanobaktériového pôvodu**. Ak sú chloroplasty dostatočne vyvinuté (na svetle), **obsahujú chlorofyly *a* a *b***, ß-karotén, diadinoxanthin, neoxanthin a ďalšie xantofyly. Poväčšine drobné chloroplasty obsahujú pyrenoid.

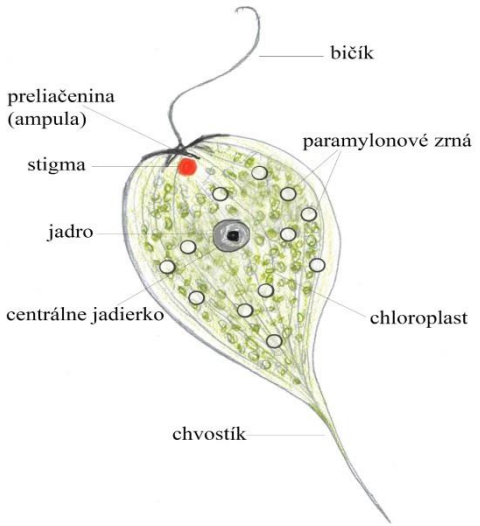
Fotosyntetické Euglenophyceae majú **stigmu – svetlocitlivú červenú očnú škvrnu**, ktorá **nie je** u tohto taxónu **súčasťou chloroplastu**. Skladá sa **z karotenoidov zafarbených do červena**. Stigma chýba niektorým bezfarebným druhom zo skupiny Euglenophyceae (a všetkým ostatným nefotosyntetickým skupinám euglén). Druhy bez stigmy nie sú fototaktické. Stigma sa delí počas bunkového delenia. Vzhľadom na prítomnosť stigmy sa fototrofné euglény zvyknú označovať aj **červenoočká** (po česky krásnoočka, po rusky je krásny červený).

Okrem fagotrofného bazálneho **rodu *Rapaza* stratili všetci zástupcovia Euglenophyceae schopnosť fagocytózy**. Popri rode *Rapaza* zaraďujeme do skupiny **Euglenophyceae** dva taxóny **Eutreptiales a Euglenales**.

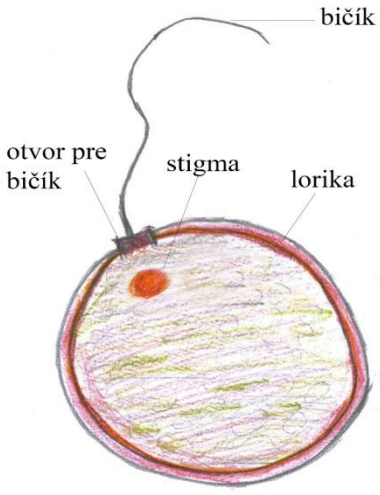
Zástupcovia **Eutreptiales majú dva** (zriedkavo štyri) **bičíky**, ktoré môžu alebo nemusia byť rovnako dlhé. Prevažná **väčšina** je **morských** alebo **brakických**. Patria sem rody *Eutreptia* a *Eutreptiella* (Adl a kol., 2019).

Zástupcovia **Euglenales** majú **jeden z bičíkov** (zriedkavo obidva) **silne redukovaný** (nevybieha z ampuly). Patria sem **prevažne sladkovodní** zástupcovia. Patria sem skupiny **Phacaceae a Euglenaceae**. Zástupcovia Phacaceae majú veľa malých chloroplastov bez pyrenoidov a veľké paramylonové zrná (Adl a kol., 2019). Všetci zástupcovia Phacaceaea môžu vytvárať **palmeloidné štádiá – odpočinkové štádiá, kedy sú bunky zaguľatené a nepohyblivé, obyčajne v zhlukoch**. Príkladom zástupcu **Phacaceae** je napr. rod *Phacus* (obr. 27.12), ktorý má dorso-ventrálne sploštenú bunku a má rigídnu pelikulu (nie je schopný

metabólie). Niektoré druhy tohto rodu môžu mať sploštené bunky ešte špirálovito stočené. Medzi **Euglenaceae** patria prevažne zástupcovia s jedným veľkým až mnohými malými chloroplastami s pyrenoidom alebo bez neho. Niektoré rody (napr. *Euglena*) môžu vytvárať palmeloidné štádiá. Väčšina rodov Euglenaceae ako napr. ***Euglena*** (obr. 22.2c)**, *Euglenaria*** alebo ***Monomorphina* nemá schránku (loriku)**, ale rody ***Trachelomonas*** a ***Strombomonas* loriku majú**, no aj napriek prítomnosti schránok sú schopné plávať (Leander et al., 2017). **Schránky rodu *Trachelomonas*** obsahujú **zlúčeniny železa a mangánu**, čo im dáva charakteristické **oranžovo-hnedé sfarbenie** (obr. 27.13). Rod *Colacium* (Euglenaceaea) môže vytvárať aj kolónie, v ktorých sú bunky pospájané slizovitými stopkami.



Obr. 27.12.* Phacus *sp.



Obr. 27.13.* Trachelomonas *sp.

Niektoré druhy v rámci skupiny **Euglenales** sú aj **sekundárne osmotrofné** – **stratili schopnosť fotosyntézy.** Typickým príkladom je *Euglena longa*, nefotosyntetický druh, blízky príbuzný fotosyntetického bičíkovca *Euglena gracilis*. *E. longa* však obsahuje esenciálne nefotosyntetické plastidy s plastidovým genómom, z ktorého sa stratili všetky fotosyntetické gény okrem génu kódujúceho veľkú podjednotku RuBisCo. Hoci tento bičíkovec nie je schopný fotosyntézy, svoje plastidy potrebuje k prežitiu. *E. gracilis*, ktorá je zvyčajne fotosyntetická, paradoxne svoje plastidy nenávratne stratiť môže (napr. po pôsobení antibiotík). Existuje viacero nefotosyntetických laboratórnych kmeňov *E. gracilis*, ktoré sú schopné sa vyživovať len osmotrofne (Hadariová a kol., 2017; viď kapitola 22.4).

27.3.4.2 Symbiontida

Symbiontida (synonymum **Postgaardea**) sú **v niektorých systémoch radené medzi Euglenida** (Leander a kol., 2017), v iných sú samostatnou skupinou v rámci Euglenozoa (Adl a kol., 2019). Pravdepodobne vznikli z fagotrofných euglén, na rozdiel od nich však **nemajú pelikulu**. Sú to **anaeróbne alebo mikroaerofilné nefotosyntetické mikroorganizmy bez plastidov s aneróbnymi derivátmi mitochondrií s redukovanými kristami alebo bez kríst a s dvoma bičíkmi**. Tieto štruktúrou zaujímavé bičíkovce sa vyznačujú tým, že **na povrchu bunky** sa **vyskytujú ektosymbiotické (epibiotické) baktérie paličkovitého tvaru**. Patria

sem rody *Calkinsia*, *Postgaardi* a *Bihospites* (Yubuki a kol., 2009, Breglia a kol., 2010; Cavalier-Smith, 2016).

27.3.4.3 Diplonemida

Diplonemida (synonymum **Diplonemea**) sú skupinou heterotrofných mikroorganizmov **s dvomi pomerne krátkymi bičíkmi**. Niektorí zástupcovia majú schopnosť **metabólie**. **Ich peroxizómy boli pozmenené na** tzv. **glykozómy, v ktorých sú lokalizované enzýmy glykolýzy**. U všetkých ostatných línií eukaryotov okrem Kinetoplastida (viď kapitola 27.3.4.4.) sú enzýmy glykolýzy lokalizované v cytoplazme a nie v špecializovaných organelách. **Diplonemida a Kinetoplastida** sú teda **na základe prítomnosti glykozómov** pravdepodobne **blízko príbuzné**, a preto bolo navrhnuté, aby boli **Kinetoplastida a Diplonemida** klasifikované do spoločného taxónu **Glycomonada**. Ďalším spoločným znakom Kinetoplastida a Diplonemida je **prítomnosť abnormálne veľkého množstva** (kópií) **mitochondriovej DNA – najviac spomedzi všetkých doposiaľ študovaných eukaryotov**. V mitochondriách Glycomonada môže v prípade niektorých druhov byť aj rovnaké množstvo, prípadne aj niekoľkokrát väčšie množstvo DNA ako v jadre (Lukeš a kol., 2018). Mitochondriové kristy sú ploché a veľké (Adl a kol., 2019).

Doposiaľ neboli tieto organizmy dobre preštudované. V poslednej dobe sa však najmä na základe environmentálnych sekvencií ukazuje, že skupina Diplonemida je pomerne rôznorodá a na druhy zrejme extrémne bohatá. Diverzita Diplonemida je pomerne vysoká najmä v hlbokomorských ekosystémoch (Flegontova a kol., 2016). Rozdeľujú sa na **Diplonemidae, Hemistasiidae** a **Eupelagonemidae** (Adl a kol., 2019).

Všetci zástupcovia **Diplonemidae** majú **schopnosť metabólie**. **V mitochondriách Diplonemidae** bol pozorovaný ***trans*-splicing a editing RNA**. Mitochondriový *trans*-splicing v prípade Diplonemidae zahŕňa spájanie rôznych častí (modulov) z viacerých RNA do jednej RNA a RNA editing zahŕňa inzerciu uridínov medzi RNA moduly, prípadne substitúciu (zámenu) adenozínu za inozín alebo cytozínu za uridín (Moreira a kol., 2016). Medzi najpreštudovanejšie rody zo skupiny Diplonemidae patria *Rhynchopus* a *Diplonema* (Adl a kol., 2019).

Hemistasiidae (napr. rod *Hemistasia*) majú anteriorny výbežok (rostrum), veľkú posteriornu vakuolu a početné extruzómy (membránové organely schopné vypudiť svoj obsah von z bunky). Eupelagonemidae (napr. rod *Eupelagonema*) pravdepodobne nie sú schopné pohybovať sa metabóliou, sú kozmopolitné a predstavujú asi až viac ako 95% všetkých morských Diplonemida (Adl a kol., 2019).

27.3.4.4 Kinetoplastida

Kinetoplastida (synonymum **Kinetoplastea**) sú skupinou malých bičíkovcov **s jedným alebo dvomi bičíkmi**. Kinetoplastea majú rovnako ako (Diplonemida) **glykozómy** – modifikované peroxizómy, v ktorých sú lokalizované enzýmy glykolýzy.

Názov skupiny je odvodený od slova **kinetoplast** – pomerne **veľká masa mitochondriovej DNA** (kDNA) dobre pozorovateľnej pri bázalnych telieskach bičíkov (kinetozómoch) ich bičíkov v ich **jedinej veľkej mitochondrii** (Adl a kol., 2019). Spoločne s Diplonemida obsahujú najviac mitochondriovej DNA spomedzi všetkých eukaryotov (Lukeš a kol., 2018). **Mitochondriový genóm** je tvorený množstvom kópií **maxikruhov** a **minikruhov**. **V mitochondriách** prebieha tzv. **U-inzerčný/delečný editing – vkladanie a odstraňovanie uracilov z transkriptov kódovaných maxikruhmi**. Editing sa deje **na**

základe párovania („porovnávania“) **sekvencií rôznych molekúl gRNA** (guide RNA) **kódovaných minikruhmi** s transkriptami génov kódovaných maxikruhmi. Tohto procesu sa zúčastňuje **editozóm**, čo je **veľký mitochondriový proteínový komplex**.

Ďalším spoločným znakom Kinetoplastida je **polycistronická transkripcia** génov (operónov) kódujúcich proteíny, čo je u eukaryotov pomerne zriedkavé. Na rozdiel od prokaryotov, u ktorých sú jednotlivé transkripty génov v polycistronickej mRNA oddelené ribozóm-viažucimi miestami (viď kapitola 9), sú jednotlivé transkripty génov v pre-mRNA u Kinetoplastida oddelené tzv. *trans*-intrónmi (resp. outrónmi), ktoré slúžia ako signál pre *trans*-splicing. Za účasti spliceozóm a SL-RNA (obsahujúcej čiapočku – cap) sú polycistronické pre-mRNA procesované na monocistronické mRNA, pričom takto získajú cap po pridaní 5`-konca (SL – spliced leader) zo SL-RNA a stanú sa translatovateľné. U ostatných Euglenozoa sa podobné polycistronické transkripty proteín-kódujúcich génov pravdepodobne vôbec nevyskytujú, hoci ku všetkým monocistronickým mRNA je čiapočka pridávaná tiež mechanizmom *trans*-splicingu za účasti SL-RNA a spliceozómu (Vesteg a kol., 2019). Je však nutné pripomenúť, že o molekulovej biológii Symbiontida sa v súčasnosti nevie vlastne nič.

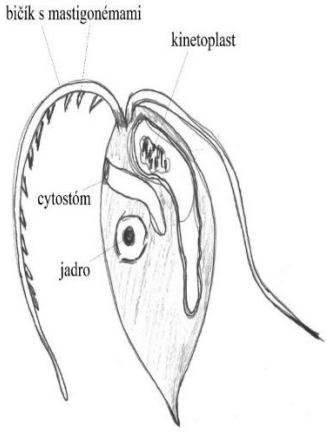
Kinetoplastida sa kedysi rozdeľovali len na dve skupiny Trypanosomatina (Trypanosomatida) a Bodonina (Bodonida). Medzi **Trypanosomatida** sa radili (a radia) **výhradne parazitické prvoky** a medzi **Bodonida z veľkej väčšiny voľne žijúce prvoky**. Fylogenetické analýzy však ukázali, že toto rozdelenie je umelé. V súčasnosti rozdeľujeme na základe fylogenetických analýz Kinetoplastea na **Prokinetoplastina a Metakinetoplastina**. **Metakinetoplastina** ďalej rozdeľujeme na **Neobodonida, Parabodonida, Eubodonida a Trypanosomatida** (Moreira a kol., 2004). Všetky tieto skupiny okrem Trypasomatida boli predtým radené medzi Bodonida. Prokinetoplastida sú pravdepodobne najbazálnejšou (najstaršou) a Trypanosomatida evolučne najmladšou vetvou v rámci Kinetoplastida.

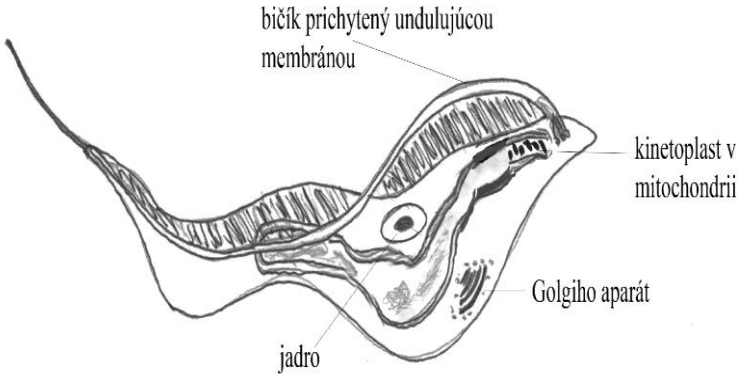
Bodonida sú **prevažne voľne žijúce fagotrofné**, prípadne **osmotrofné prvoky**. Obývajú najmä organicky znečistené vody. **Kruhy kinetoplastovej DNA (kDNA) nevytvárajú jednu prepletenú sieť**. Majú **dva bičíky**, pričom v prípade skupiny Eubodonida (napr. voľne žijúci rod *Bodo* sp.) má jeden z nich aj mastigonémy (obr. 27.14). Bodonida sú **len výnimočne parazitické**. Rody *Trypanoplasma* (Metakinetoplastina, Parabodonida) a *Ichthyobodo* (Protokinetoplastina) sú parazitmi rýb a rod *Cryptobia* (Metakinetoplastina, Parabodonida) je parazitom slimákov. Rod *Perkinsela* (Prokinetoplastina) a jemu príbuzné organizmy, žijú ako endosymbionti (v organelách obalených membránou – parazómy) v niektorých amébach (Gibson, 2017).

Medzi **Trypanosomatida** (zo skupiny Metakinetoplastina) **patria fagotrofné alebo osmotrofné, výhradne parazitické druhy s jedným** (posteriornym) **bičíkom** bez mastigoném, ktorý môže byť laterálne prichytený k bunke undulujúcou membránou (obr. 27.15). **Maxikruhy a minikruhy kDNA** sú navzájom **prepletené a vytvárajú jednu sieť**. Môžu mať **jedného alebo dvoch hostiteľov**. **Počas životného cyklu sa vyskytujú v rôznych morfologických štádiách líšiacich sa polohou jadra, kinetoplastu a bičíka**. Medzi najznámejších zástupcov patria rody *Trypanosoma* (obr. 27.15) a *Leishmania* (Gibson, 2017; Adl a kol., 2019).

Druh ***Trypanosoma brucei*** zahŕňa niekoľko poddruhov vyskytujúcich sa **v subsaharskej Afrike** *(Trypanosoma brucei gambiense, T. brucei rhodesiense, T. brucei brucei)*, ktoré spôsobujú ochorenia u ľudí a hospodárskych zvierat. ***T. b. gambiense*** **a *T. b. rhodesiense*** spôsobujú **spavú nemoc** (trypanozomiáza) **u ľudí**. ***T. b. brucei*** (ale napr. aj *Trypanosoma vivax*) spôsobujú **naganu** (zvieraciu spavú nemoc) **u domácich hospodárskych zvierat** (Alsford a kol., 2014). ***T. brucei*** je **prenášaná muchou Tse-tse** (rod *Glossina*) a **do krvi človeka a zvierat sa dostáva zo slín muchy počas bodnutia**. V krvi človeka a zvierat sa vyskytuje v štádiu trypomastigota, kedy je báza bičíka na zadnom

(posteriornom) konci (proti smeru pohybu bunky) a v jej tesnej blízkosti je kinetoplast. Bičík sa pripája k bunke takmer po celej dĺžke bunky undulujúcou membránou. V štádiu trypomastigota sa jadro nachádza približne v strede bunky – anteriornym smerom (smerom dopredu v smere pohybu bunky) od kinetoplastu a bázy bičíka (obr. 27.15). V muche Tse-tse sa zase vyskytuje štádium tzv. epimastigota, kedy bičík vychádza približne zo strednej časti bunky, je pripojený undulujúcou membránou k bunke len v jej anteriornej polovici a jadro sa nachádza posteriornym smerom od bázy bičíka asociovanej s kinetoplastom.





Obr. 27.14. **Bodo *sp.***

Obr. 27.15. **Trypanosoma brucei**
(trypomastigot – štádium v krvi človeka)

Spúšťačom chronickej a často smrteľnej **Chagasovej choroby** je ***Trypanosoma cruzi*** s výskytom **v tropickej Južnej Amerike**. Prežitie tohto parazita závisí od úspešného prenosu medzi dvomi radikálne odlišnými prostrediami – **črevom ploštíc z čeľade *Reduviidae*** a cytoplazmy hostiteľskej bunky cicavcov, vrátane človeka. **Ploštice v noci zvyčajne hryzú človeka do kože** (najmä do tváre) a kŕmia sa krvou z jeho rán. Pritom sa **do rán** dostávajú **výkaly ploštíc** obsahujúce *T. cruzi*. V tkanivách človeka (vo vnútri buniek) sa vyskytuje v štádiu amastigota (bez viditeľné bičíka), v krvi človeka vo forme trypomastigota a v plošticiach vo forme epimastigota. **Krvou sa môže dostať do rôznych orgánov** (srdce, črevo, periférny nervový systém). Chronická forma ochorenia, sa môže prejaviť niekedy až po 30-40 rokoch. Postihnutý často zomierajú na zlyhanie srdca (Tyler, 2003).

Viaceré druhy rodu ***Leishmania*** spôsobuje leishmaniázy, ktoré sa vyskytujú takmer po celom svete, najmä v chudobných krajinách. Jednou z foriem je **kožná leishmanióza**, kedy sa koži objavujú rôzne **kožné lézie a vredy**. Môže pripomínať lepru. Iná forma postihuje hlavne **nosovú a ústnu dutinu**. Najzávažnejšia forma je vnútorná **viscerálna forma**, postihujúca **vnútorné orgány**. Spôsobuje ochorenie **kala-azar**, ktoré je často **smrteľné**. Toto ochorenie prenášajú dvojkrídlovce (Diptera) zo skupiny Phlebotominae (rody *Lutzomyia* a *Phlebotomus*) (Evering a Weiss, 2006).

Literatúra

ADAM, R. D. 2017. Diplomonadida. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 1219-1246.

ADL, S. M. a kol. 2012. The revised classification of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 59, 429-493.

ADL, S. M. a kol. 2019. Revisions to the classification, nomenclature and diversity of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 66, 4-119.

ALSFORD, S. a kol. 2014. Cathepsin-L can resist lysis by human serum in *Trypanosoma brucei brucei*. PLoS Pathog 10, e1004130.

BREGLIA, S. A. a kol., 2010. Ultrastructure and molecular phylogenetic position of a novel euglenozoan with extrusive episymbiotic bacteria: *Bihospites bacati* n. gen. et sp. (Symbiontida). BMC Microbiol 10, 145.

BROWN, M. W. – SILBERMAN, J. D. – SPIEGEL, F. W. 2012 . A contemporary evaluation of the acrasids (Acrasidae, Heterolobosea, Excavata). Eur J Protistol 48, 103-123.

BURGER, G. a kol., 2013). Strikingly bacteria-like and gene-rich mitochondrial genomes throughout jakobid protists. Genome Biol Evol 5, 418-438.

CAVALIER-SMITH, T., 2016. Higher classification and phylogeny of Euglenozoa. Eur J Protistol 56, 250-276.

CAVALIER-SMITH, T. a kol. 2014. Multigene eukaryote phylogeny reveals the likely protozoan ancestors of opisthokonts (animals, fungi, choanozoans) and Amoebozoa. Mol Phyl Evol 81, 71-85.

CAVALIER-SMITH, T. – NIKOLAEV, S. 2008. The zooflagellates *Stephanopogon* and Percolomonasarea clade (class Percolatea: phylum Percolozoa). J Eukaryot Microbiol 55, 501-509.

ČEPIČKA, I. – DOLAN, M. F. – GILE, G. H. 2017. Parabasalia. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 1175-1218.

DERELLE, R. a kol. 2015. Bacterial proteins pinpoint a single eukaryotic root. Proc Nat Acad Sci USA, 112, 693-699.

DESSER, S. S. – HONG, H., – SIDDALL, M. E. 1993. An ultrastructural study of *Brugerolleia algonquinensis* gen. nov., sp. nov. (Diplomonadina; diplomonadida), a flagellate parasite in the blood of frogs from Ontario, Canada. Eur J Protistol 29, 72-80.

EVERING, T. – WEISS, L. M. 2006. The immunology of parasite infections in immunocompromised hosts. Parasite Immunol 28, 549-565.

FLEGONTOVA, O. a kol., 2016. Extreme diversity of diplonemid eukaryotes in the ocean. Curr Biol 26, 3060-3065.

GIBSON, W. 2017. Kinetoplastea. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 1175-1218.

HADARIOVÁ, L. a kol. 2017. An intact plastid genome is essential for the survival of colorless *Euglena longa* but not *Euglena gracilis*. Curr Genet 63, 331-341.

HAMPL, V. 2017. Preaxostyla. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 1139-1174.

HAMPL, V. a kol. 2009. Taxon-rich phylogenomic analyses support the monophyly of Excavata and robustly resolve relationships among eukaryotic “supergroups”. Proc Natl Acad Sci USA, 106, 3859-3864.

JORGENSEN, A., – STERUD, E. 2006. The marine pathogenic genotype of *Spironucleus barkhanus* from farmed salmonids redescribed as *Spironucleus salmonicida* n. sp. J Eukaryot Microbiol 53, 531-541.

KAMIKAWA, R. a kol. 2014. Gene content evolution in discobid mitochondria deduced from the phylogenetic position and complete mitochondrial genome of *Tsukubamonas globosa*. Genome Biol Evol 6, 306-315.

KARNKOWSKA, A. a kol. 2016. A eukaryote without a mitochondrial organelle. Curr Biol 26, 1274-1284.

KULDA, J. – NOHÝNKOVÁ, E. 1978. Flagellates of the human intestine and of intestines of other species. In Kreier, J. P. (ed), Parasitic Protozoa, New York: Academic. 1-138.

KULDA, J. – NOHÝNKOVÁ, E. – ČEPIČKA, I. 2017. Retortamonadida (with notes on *Carpediemonas*-like organisms and Caviomonadidae). In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 1247-1278.

KOLÍSKO, M. a kol. 2008. Molecular phylogeny of diplomonads and enteromonads based on SSU rRNA, alpha- tubulin and HSP90 genes: Implications for the evolutionary history of the double karyomastigont of diplomonads. BMC Evol Biol 8, 205.

LANG, B. F. a kol. 1997. An ancestral mitochondrial DNA resembling a eubacterial genome in miniature Nature, 387, 493-497.

LEANDER, B. S. a kol., 2017. Euglenida. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 1047-1079.

LUKEŠ, J. a kol. 2018. Massive mitochondrial DNA content in diplonemid and kinetoplastid protists. IUBMB Life 70, 1267-1274.

MONFILS, K. A. a kol., 2011. Characterization of paramylon morphological diversity in photosynthetic euglenoids (Euglenales, Euglenophyta). Phycologia 50, 156-169.

MOREIRA, D. – LÓPEZ-GARCÍA, P. – VICKERMAN, K., 2004. An updated view of kinetoplastid phylogeny using environmental sequences and a closer outgroup: Proposal for a new classification of the class Kinetoplastea. Int J Syst Evol Microbiol 54, 1861-1875.

MOREIRA, D. a kol., 2016. Novel modes of RNA editing in mitochondria. Nucl Acids Res 44, 4907-4919.

O'KELLY, C. J. 1993. The jakobid flagellates: Structural features of *Jakoba*, *Reclinomonas* and *Histiona* and implications for the early diversification of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 40, 627-636.

O'KELLY, C. J. – NERAD, T. A. 1999. *Malawimonas jakobiformis* n. gen., n. sp. (Malawimonadidae n. fam.): A *Jakoba*-like heterotrophic nanoflagellate with discoidal mitochondrial cristae. J Eukaryot Microbiol 46, 522-531.

PAGE, F. C. – BLANTON, R. L. 1985. The Heterolobosea (Sarcodina: Rhizopoda), a new class uniting the Schizopyrenida and the Acrasidae (Acrasida). Protistologica 21, 121-132.

PÁNEK, T. a kol. 2017. Heterolobosea. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 1005-1046.

POYNTON, S. L. – STERUD, E. 2002. Guidelines for species descriptions of diplomonad flagellates from fish. J Fish Diseases 25, 15-31.

RENDON-MALDONADO, J. a kol. 2003. *Trichomonas vaginali*s: In vitro attachment and internalization of HIV-1 and HIV-1-infected lymphocytes. J Eukaryot Microbiol 50, 43-48.

SIMPSON, A. G. B. 2003. Cytoskeletal organization, phylogenetic affinities and systematics in the contentious taxon Excavata (Eukaryota). Int J Syst Evol Microbiol 53, 1759-1777.

SIMPSON, A. G. B. 2017. Jakobida. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 973-1004.

SIMPSON, A. G. B. – INAGAKI – Y., ROGER, A. J. 2006. Comprehensive multigene phylogenies of excavate protists reveal the evolutionary positions of "primitive" eukaryotes. Mol Biol Evol 23, 615-625.

SIMPSON, A. G. B. – PATTERSON, D. J. 1999. The ultrastructure od Carpediemonas membranifera (Eukaryota) with reference to the "Excavate hypothesis". Eur J Protistol 35, 353-370.

TYLER, K. M. – OLSON, C. L. – ENGMANN, D. M. 2003. The Life Cycle Of *Trypanosoma Cruzi*. In Tyler K. M. – Miles M. A. (eds.), American trypanosomiasis. World Class Parasites 7, Boston: Springer, 1-11.

VESTEG, M. a kol., 2019. Comparative molecular cell biology of phototrophic euglenids and parasitic trypanosomatids sheds light on the ancestor of Euglenozoa. Biol Rev Camb Phil Soc 94, 1701-1721.

YABUKI, A. a kol. 2011. *Tsukubamonas globosa* n. gen., n. sp., a novel excavate flagellate possibly holding a key for the early evolution in "Discoba". J Eukaryot Microbiol 58, 319-331.

YAMAGUCHI, A. – YUBUKI, N. – LEANDER, B. S. 2012. Morphostasis in a novel eukaryote illuminates the evolutionary transition from phagotrophy to phototrophy: description of *Rapaza viridis* n. gen. et sp. (Euglenozoa, Euglenida). BMC Evol Biol 12, 29.

YUBUKI, N. a kol., 2009. Ultrastructure and molecular phylogeny of *Calkinsia aureus*: Cellular identity of a novel clade of deep-sea euglenozoans with epibiotic bacteria. BMC Microbiol 9, 16.

YUBUKI, N., – LEANDER, B. S. 2008. Ultrastructure and molecular phylogeny of *Stephanopogon minuta*: An enigmatic microeukaryote from marine interstitial environments. Eur J Protistol 44, 241-253.

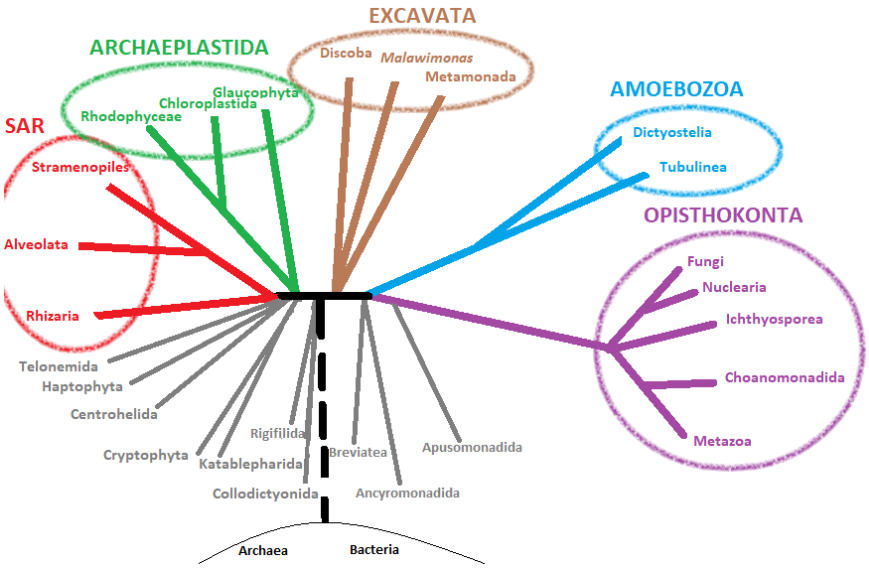
YUBUKI, N. – SIMPSON, A. G. B. – LEANDER, B. S. 2013. Comprehensive ultrastructure of *Kipferlia bialata* provides evidence for character evolution within the Fornicata (Excavata). Protist 164, 423-439.

28 ĎALŠIE SKUPINY PROTISTA

Miriam Trniková, Matej Vesteg

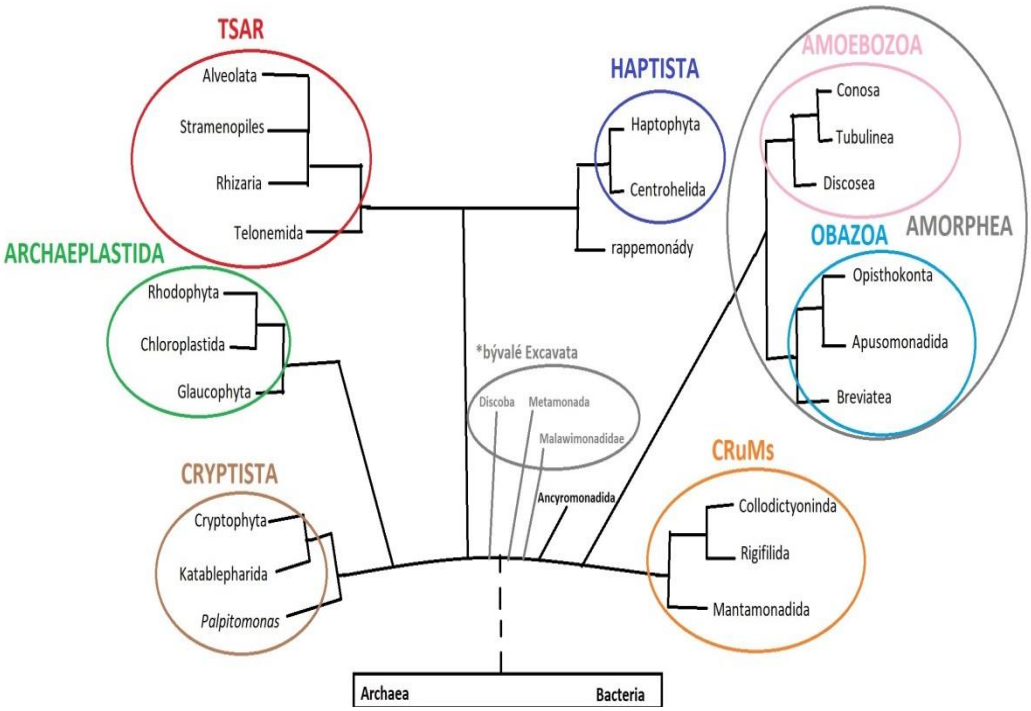
Najnovšie fylogenetické štúdie naznačujú, že skupiny **Amoebozoa** (viď kapitola 23), **Opisthokonta** (viď kapitola 24), **Archaeplastida** (viď kapitola 25) a **SAR** (viď kapitola 26) sú skutočne **monofyletické** (zahrňujú všetky organizmy, ktoré majú spoločného predka), zatiaľ čo skupina **Excavata nie**. Ukazuje sa, že rod *Malawimonas* s typickou exkavátnou morfológiou nie je príbuzný ani jednej z dvoch veľkých skupín Excavata – Discoba a Metamonada, ktorých príbuznosť je tiež sporná (viď kapitola 27).

Okrem skupín popísaných v kapitolách 23-27 však existuje celý rad skupín eukaryotov, ktoré nemožno na základe fylogenetických skupín zaradiť ani do jednej z nich. Ide napr. o taxóny **Haptophyta, Centrohelida, Cryptophyta, Kathablepharida, Telonemida, Breviatea, Apusomonadida, Collodictyonida, Rigifilida, Mantamonadida, Ancyromonadida, Picozoa, Hemimastigophora, „rappemonády“ a rod *Palpitomonas*.** Niektoré z týchto skupín však v súčasnosti predstavujú samostatné fylogenetické zoskupenia a/alebo sa ukazujú byť príbuzné niektorému (niektorým) z vyššie uvedených taxónov. Systém podľa Adl a kol. (2012) rozoznávajúci päť superskupín popísaných v kapitolách 23-27 (viď obr. 28.1) bol na základe najnovších fylogenetických analýz nedávno aktualizovaný (Adl a kol. 2019; viď obr. 28.2).



Obr. 28.1. Systém eukaryotov z roku 2012. *Upravené podľa Adl a kol. (2012).*

Opisthokonta sú príbuzné s **Breviatea a Apusozoa** a spolu tvoria nový taxón **Obazoa**. **Obazoa** sú príbuzné s **Amoebozoa** a sú spolu radené do taxónu **Amorphea** (viď obr. 28.2). Skupiny **Collodictyonida, Rigifilida a Mantamonadida** sú príbuzné a spoločne radené do spoločného taxónu **CRuMs**, ktorý je pravdepodobne sesterskou líniou Amorphea (Brown a kol., 2018; Adl a kol., 2019). Rod *Malawimonas* a skupina Ancyromonadida sú pravdepodobne na báze vetvy predstavovanej zoskupením CRuMs a Amorphea (Brown a kol., 2018).



28.2. Systém eukaryotov z roku 2019. *Upravené podľa Adl a kol. (2019) a ďalších publikácií citovaných v texte. Skupiny Archaeplastida, Cryptista, TSAR, Haptista, „rappemonády", ako aj niektoré ďalšie skupiny (napr. Picozoa) sa podľa tohto systému zaraďujú do spoločného taxónu Diaphoretiskes.*Bývalý taxón Excavata je s najväčšou pravdepodobnosťou parafyletický.*

Cryptophyta, Katablepharida a rod *Palpitomonas* sú fylogeneticky príbuzné, a preto sa podľa nového systému radia do spoločného taxónu **Cryptista**, ktorý je pravdepodobne sesterskou skupinou Archaeplastida (Burki a kol., 2016). **Haptophyta a Centrohelida** sú blízko príbuzné, a preto radené spolu radené do taxónu **Haptista** (Burki a kol., 2016; Adl a kol. 2019). Haptista sú pravdepodobne sesterskou skupinou SAR (Burki a kol., 2016) (resp. TSAR), možno však aj Cryptista alebo zoskupeniu Archaeplastida+Cryptista. **TSAR** je novonavrnutý taxón združujúci skupinu **SAR a Telonemida** (Strassert a kol., 2019; viď obr. 28.2). Picozoa sú pravdepodobne príbuzní skupiny Cryptista (Seenivasan a kol., 2013; Moreira a López-Garcia, 2014), možno však aj Archaeplastida (Burki a kol., 2016) a „rappemonády", sú pravdepodobne príbuzné Haptista (Kim a kol., 2011). Skupiny **Archaeplastida, SAR, Haptista, Cryptista** a niektoré ostatné skupiny nejasného postavenia, ktoré sú im príbuzné, pravdepodobne mali spoločného predka, a preto by mali byť združené do jedného taxónu – **Diaphoretickes** (alebo Corticata) (Brown a kol., 2018; Cavalier-Smith, 2018; Adl a kol., 2019).

Spoločným predchodcom eukaryotov mohol byť eukaryot s exkavátnou morfológiou (viď kapitola 27), ktorý hneď na začiatku divergoval na niekoľko línií. Niektoré z týchto línií si dodnes zachovali exkavátnu morfológiu (napr. niektoré línie v rámci Discoba a Metamonada a rod *Malawimonas*), iné línie ju stratili a z niektorých z nich sa vyvinuli vetvy smerujúce k Diaphoretickes a k línii predstavovanej zoskupením CRuMs a Amorphea.

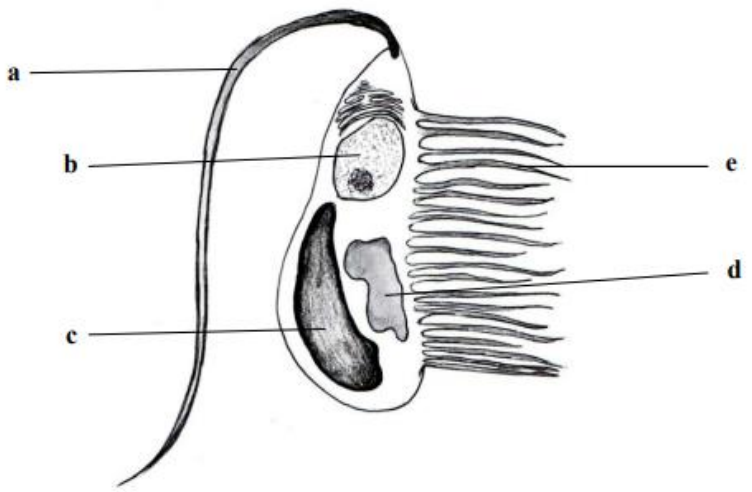
28.1 Obazoa

Monofyletická skupina **Obazoa** zahrňuje **Opisthokonta** (viď kapitola 24)**, Breviatea a Apusomonadida** (Brown a kol., 2013; Adl a kol., 2019). **Obazoa** spoločne s **Amoebozoa** (viď kapitola 23) tvoria v súčasnosti monofyletický taxón **Amorphea** (Adl a kol., 2019; viď obr. 28.2).

28.1.1 Breviatea

Breviatea sú skupinou malých (10-15 μm) **anaeróbnych alebo mikroaerofilných amébovitých bičíkovcov**, ktoré majú **jeden alebo dva bičíky** (jeden smerujúci dopredu, druhý dozadu) vychádzajúce z **predného** (anteriorneho) **konca** bunky. Ak jeden bičík chýba, prítomné je aspoň jeho bazálne teliesko. **Na ventrálnej** (brušnej) **strane** sú pozorovateľné takmer pravidelne usporiadané **pseudopódie** (panôžky). Na dorzálnej strane sa panôžky zvyčajne nenachádzajú (obr. 28.3). Panôžky slúžia na plazivý pohyb po substráte a na **lov baktérií**. V bunke sa nachádza jedna veľká mitochondria, ktorá nemá dobre diferencované kristy. Táto mitochondria neprodukuje energiu pomocou oxidatívnej fosforylácie, ale generuje energiu anaeróbnym spôsobom bez spotreby kyslíka (Heiss a kol., 2017). Takúto mitochondriu nazývame **hydrogenozóm**.

Zatiaľ boli popísaní iba štyria zástupcovia tejto skupiny. *Breviata anathema* (prvý objavený eukaryot zo skupiny Breviatea) je sladkovodný organizmus, ktorý bol v minulosti najprv považovaný za druh *Mastigamoeba invertens* zo skupiny Amoebozoa (Walker a kol., 2006). Tento zástupca má iba jeden bičík. Zvyšní traja zástupcovia *Lenisia limosa*, *Subulatomonas tetraspora* a *Pygsuia biforma* sú morskí (Heiss a kol., 2017).



Obr. 28.3. Stavba bunky skupiny Breviatea. *a – bičík, b – jadro, c – hydrogenozóm, d –potravová vakuola, e – pseudopódie*

28.1.2 Apusomonadida

Apusomonadida sú skupinou **voľne žijúcich heterotrofných aeróbnych malých** (5 až 20 μm) **amébovitých bičíkovcov s dvomi bičíkmi** (Heiss a kol., 2017). **Pseudopódie** sa

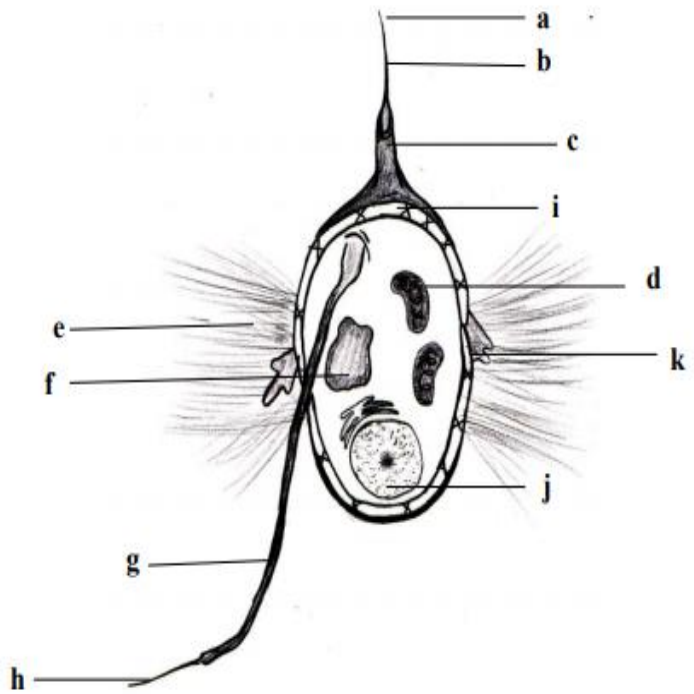
môžu formovať **na ventrálnej strane** bunky a slúžia k lovu**. Dorzálna časť cytoplazmatickej membrány** bunky je **vystužená pelikulou**, niekedy nazývanou aj **théka**. **Laterálne a ventrálne záhyby cytoplazmatickej membrány** pripomínajúce akýsi **plášť** bunky sú tiež vystužené pelikulou (Heiss a kol., 2017).

V prednej časti bunky sa nachádza štruktúra nazývaná **proboscis**, ktorá je pohyblivá a v nej je umiestený aj **predný bičík** (obr. 28.4). **Koncová zúžená časť bičíka** sa nazýva **akronéma**. Bazálna časť proboscisu je pokrytá membránovým golierom vystuženým pelikulou, ktorý je pokračovaním plášťa bunky. **Zadný bičík** vybieha von **z bočnej** ľavej **strany**. Niekedy je dlhší ako samotná bunka. Tiež je ukončený zúženou časťou – akronémou (obr. 28.4).

Jadro je umiestnené dorzálne a jadierko v jadre centrálne. Golgiho aparát (GA) je v prednej (anteriornej) časti bunky. Mitochondrie majú tubulárne kristy. Potravová vakuola sa nachádza obyčajne vo ventrálnej polovici a môže zasahovať až do dvoch tretín bunky (Heiss a kol., 2017).

Bunky sa rozmnožujú binárnym mitotickým delením. Pohlavné rozmnožovanie nie je známe.

Všetky doposiaľ známe druhy sú voľne žijúce a vo väčšine prípadov sú viazané na substrát. Druhy sa vyskytujú vo všetkých prostrediach, ako je sladkovodné, morské, litorálne (pobrežné prímorské) alebo pôdne. **Živia sa baktériami**. Medzi Apusomonadida zaraďujeme rody *Multimonas*, *Thecamonas*, *Podomonas* a *Manchomonas*, ktoré boli pôvodne zaraďované do rodu *Amastigomonas*. Pri druhu *Thecamonas oxoniensis* izolovaného z povrchu listu brečtanu bola pozorovaná aj tvorba cýst (Cavalier-Smith a Chao, 2010). Ďalším rodom bežne sa vyskytujúcim v pôde je rod *Apusomonas*.



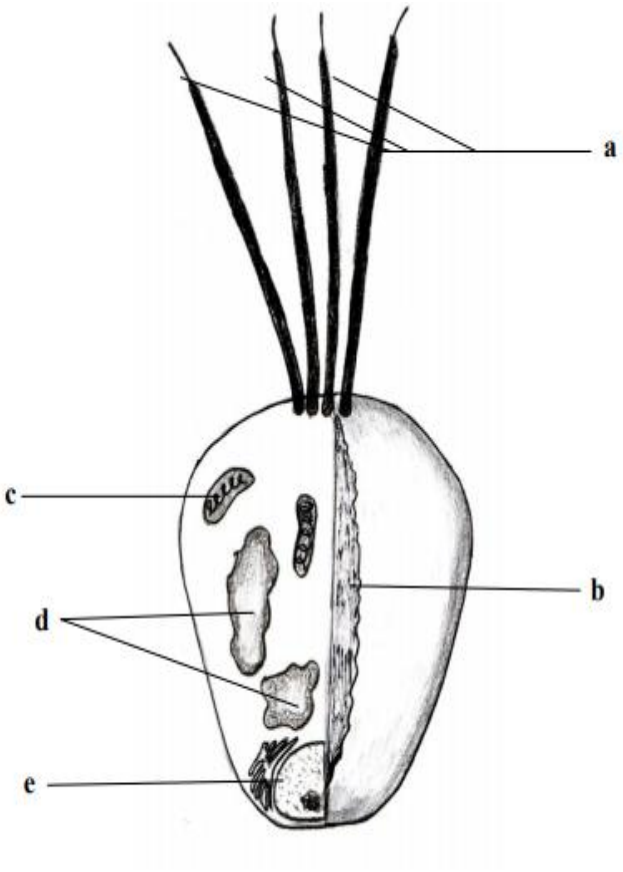
Obr. 28.4. Stavba bunky skupiny Apusumonadida. *a – akronéma predného bičíka, b – predný (anteriorny) bičík, c – proboscis pokrytý golierovitou membránovou štruktúrou vystuženou pelikulou, d – mitochondria, e – pseudopódie, f – potravová vakuola, g – zadný (posteriorny) bičík, h – akronéma zadného bičíka, i – pelikula, j – jadro, k – záhyby plášťa na bočných stranách bunky*

28.2 CRuMs

CRuMs je s najväčšou pravdepodobnosťou monofyletickým zoskupením skupín **Collodyctionida, Rigifilida a Mantamonadida** (Brown a kol., 2018; Adl a kol., 2019). CRuMs je pravdepodobne sesterskou skupinou taxónu Amorphea.

28.2.1 Collodictyonida

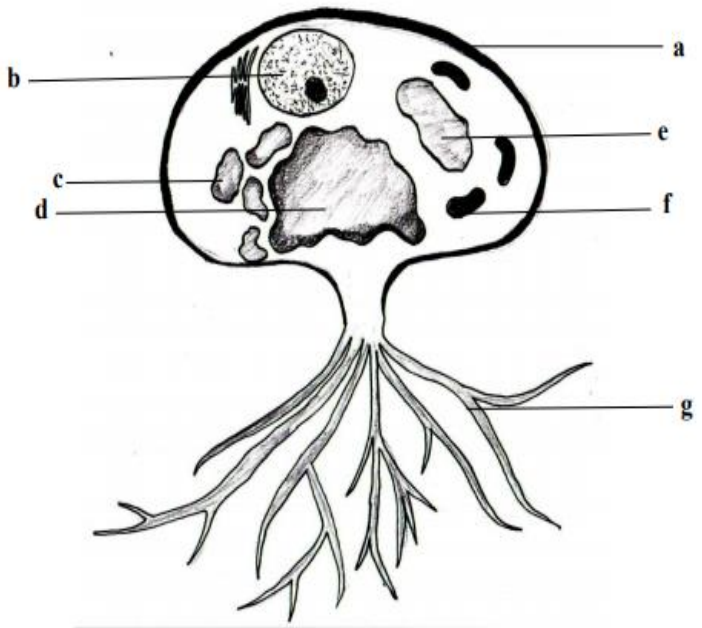
Collodictyonida (Collodictyonidae) sú skupinou **heterotrofných amébovitých bičíkovcov** s veľkosťou 10-15 µm, známych aj pop názvom **Diphylleidae** (resp. Sulcomonadidae). Obyčajne majú **dva bičíky** (morský rod *Diphylleia* a rod *Sulcomonas* najdený v čreve ropuchy), ale **sladkovodný rod *Collodictyon*** (obr. 28.5) má **bičíky štyri**. **Na brušnej** (ventrálnej) strane majú preliačeninu, resp. **brušnú ryhu** (cytostóm), ktorá sa tiahne pozdĺžne brušnou stranou bunky. Jej úlohou je fagocytovať korisť. Z brušnej ryhy môžu vybiehať aj pseudopódie, ktoré im napomáhajú pri chytaní koristi. Je otázne, či je táto štruktúra homologická s brušnou ryhou zástupcov skupín bývalého taxónu Excavata – Metamonada, Discoba a rod *Malawimonas*. Collodictyonida majú viacero potravových vakuol (Zhao a kol., 2012).



***Obr. 28.5. Stavba bunky rodu* Collodictyon**. *a – bičíky, b – cytostóm, c – mitochondria, d – potravové vakuoly, e – jadro*

28.2.2 Rigifilida

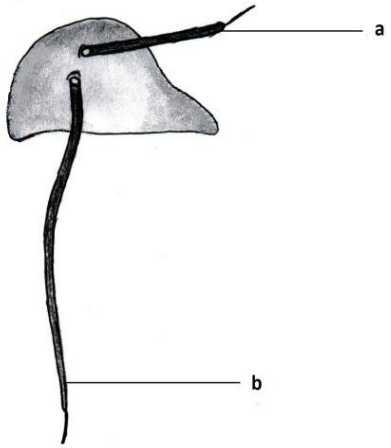
Rigifilida sú skupinou **bezbičíkatých, fagotrofných eukaryotických amébovitých mikrorganizmov**. Charakteristická je pre nich **radiálne symetrická** semirigidná (polopevná) dorzálna (chrbtová) **pelikula** čiastočne podporená mikrotubulami. **Filopódie** (tenké vetvené panôžky) vychádzajú **z ventrálnej** (brušnej) **strany** bunky (obr. 28.6). Filopódie slúžia na **zachytávanie baktérií**, ktorými sa živia. Jadro je umiestnené na dorzálnej (chrbtovej) strane bunky. Skupina Rigifilida má v bunke na ventrálnej strane **štyri typy vakuol**: bazálnu (najväčšia), potravové vakuoly, viaceré vakuoly asociované s bazálnou vakuolou a najmenšie vakuoly (spongiómy). Bazálna vakuola slúži pravdepodobne ako kontraktilná vakuola a spoločne so spongiómami sú zrejme významné z hľadiska udržiavania osmotického tlaku v bunke (Yabuki a kol., 2012). Golgiho aparát (GA) sa nachádza v dorzálnej časti bunky. Mitochondriové kristy sú ploché. Medzi zástupcov tejto skupiny patrí *Rigifila ramosa* a *Micronuclearia podoventralis*. Sú sladkovodní. Obývajú ryžové polia.



Obr. 28.6. Stavba bunky skupiny Rigifilida. *a – pelikula, b – jadro, c – menšie vakuoly, d – bazálna vakuola, e – potravová vakuola, f – mitochondrie, g – lepkavé filopódie*

28.2.3 Mantamonadida

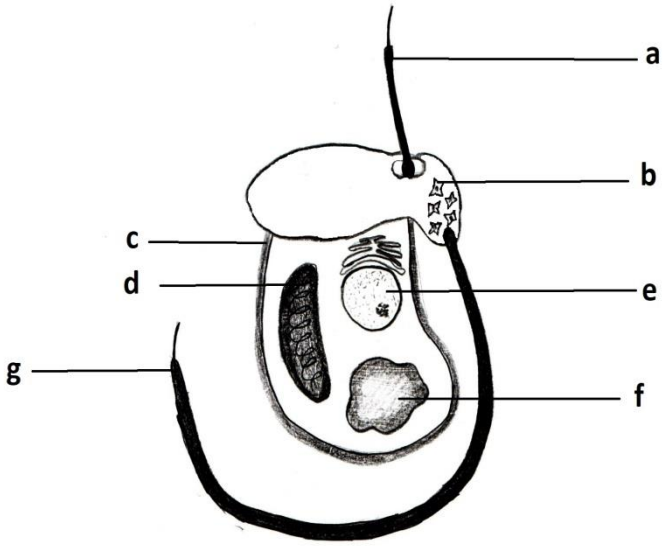
Do skupiny Mantamonadida patrí zatiaľ **jediný rod *Mantamonas*** s jedným popísaným druhom *Mantamonas plastica* (Glücksman a kol., 2010). Sú to malé (5 µm) heterotrofné bičíkovce, ktoré žijú **v morskom prostredí** a **pohybujú sa kĺzavým pohybom po substráte pomocou dlhého zadného bičíka**, na ktorom je väčšinou dobre pozorovateľná **akronéma** (obr. 28.7). **Predný bičík** je nápadne tenší a kratší, takmer nepohyblivý a **ťažko viditeľný** svetelným mikroskopom. Bunky sú veľmi **dorzoventrálne sploštené** a obyčajne majú asymetrickú štruktúru. Tento organizmus využíva **pseudopódie** na **lov baktérií** (Glücksman a kol., 2011).



Obr. 28.7. Stavba bunky skupiny Mantamonadida. *a – predný bičík, b – zadný bičík zakončený akronémou*

28.3 Ancyromonadida

Do skupiny **Ancyromonadida** (známe aj ako Planomonadida) patria heterotrofné **malé** (4-6 μm) morské alebo sladkovodné **bakteriovorné** (baktérie požierajúce) bičíkovce **s dvomi bičíkmi**. **Predný bičík** je veľmi **krátky**, niekedy je zakončený akronémou. **Zadný bičík** je **dlhý**, 2-3x dlhší ako celá bunka (obr. 28.8). Dlhší bičík zabezpečujú **prichytenie k substrátu a na kĺzavý pohyb po ňom**. V blízkosti bázy bičíkov sa nachádzajú **extruzómy**, ktoré napomáhajú **pri lovení koristi** (obr. 12). V tejto oblasti sa nachádza aj **fagocytárny aparát**. Celá bunka je **dorzoventrálne sploštená** a takmer celá cytoplazmatická membrána je z vnútra bunky vystužená **pelikulou**. (Heiss a kol., 2017). Mitochondriové kristy sú ploché.



Obr. 28.8. Stavba bunky skupiny Ancyromonadida. *a – predný bičík s akronémou, b – extruzómy, c – pelikula, d – mitochondria, e – jadro, f – potravová vakuola, g – zadný bičík s akronémou*

Do tejto skupiny patria morské rody *Ancyromonas* (typický rod skupiny Ancyromonadida, kozmopolitne rozšírený), *Planomonas* a *Fabomonas* a sladkovodné rody *Nutomonas* a *Striomonas*.

Fylogenetická pozícia Ancyromonadida nie je celkom jasná (Heiss a kol., 2017). Najnovšie fylogenomické analýzy ukazujú na blízku príbuznosť ku skupine Malawimonadidae, ktorá bola ešte donedávna radená medzi Excavata (Brown a kol., 2018). Ancyromonadida však môžu byť (prípadne aj spoločne so skupinou Malawimonadidae) aj sesterskou skupinou línie predstavovanej sesterskými skupinami CRuMs a Amorphea (Adl a kol., 2019). Ďalšou možnosťou je, že Ancyromonadida sú sesterskou líniou zoskupenia Malawimonadidae+CRuMs+Amorphea (Brown a kol., 2018).

28.4 Cryptista

Podľa systému Adl a kol. (2019) sa skupina Cryptista rozdeľuje len na dve taxonomické skupiny – Cryptophyceae (synonymum Cryptophyta) a rod *Palpitomonas*. Skupinu Cryptophyta Adl a kol. (2019) ďalej rozdeľujú na Cryptomonadales (zástupcovia s fotosyntetickými alebo nefotosyntetickými chloroplastami), Cyanthomonadacea (zástupcovia bez plastidov, napr. bakteriovorný rod *Goniomonas*) a Katablepharidacea (eukaryovorní predátori bez permanentne sa vyskytujúcich plastidov s istými morfologickými špecifikami).

Vzhľadom na špecifiká skupiny Katablepharidacea (synonymá Katableharida a Kathablepharida) je jej však venovaná samostatná kapitola 28.4.2 a kapitola 28.4.1 s názvom Cryptophyta je venovaná takmer výhradne zástupcom s chloroplastami (zástupcov bez nich zo skupiny Cyanthomonadacea je známych len veľmi málo). Pre naše účely teda rozdeľujeme skupinu **Cryptista** na tri skupiny – **Cryptophyta** (zahrňujúcu Cryptomonadales a Cyanthomonadacea), **Katablepharida a rod *Palpitomonas***. Taxón Cryptista je s najväčšou pravdepodobnosťou príbuzný taxónu Archaeplastida (Burki a kol., 2016).

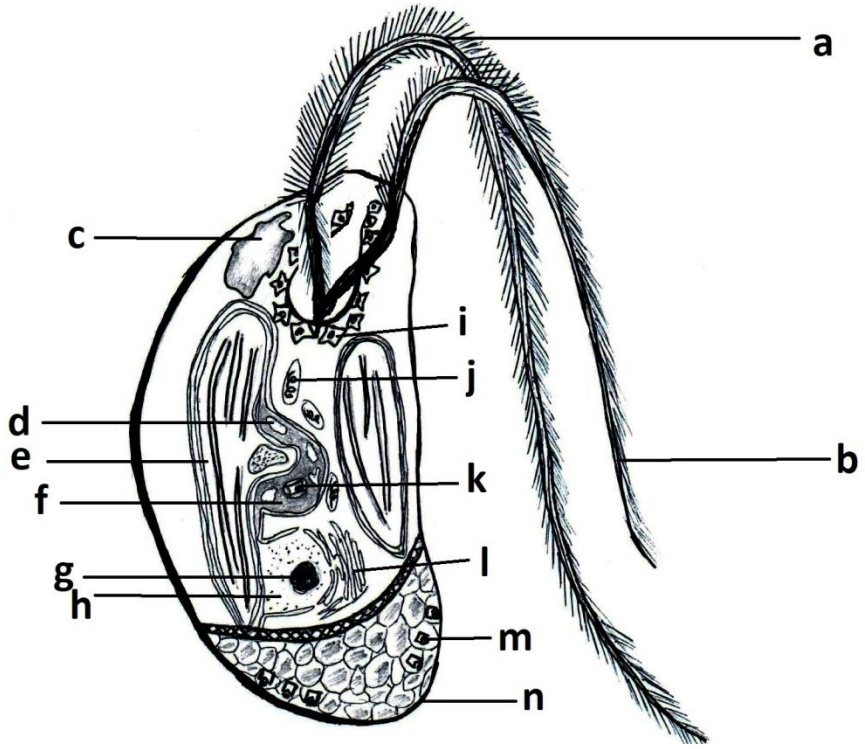
28.4.1 Cryptophyta

Cryptophyta (synonymum Cryptophyceae, kryptomonády) sú **poväčšine autotrofné bikontné bičíkovce** (s dvoma bičíkmi), charakteristické **asymetricky sploštenými bunkami** (Hoef-Emden a Archibald, 2017). **Ventrálna** (brušná) **strana** je **plochá** s preliačeninou a **dorzálna** (chrbtová) časť je **vyklenutá**. **Bičíky** sa nachádzajú **v prednej časti** bunky, **mierne zboku** (laterálne), sú **pokryté vlásenkami** (mastigonémy) a **jeden z nich** je obyčajne o niečo **kratší**. **Dlhší bičík** má **dva rady oproti sebe stojacich mastigoném** a **kratší bičík** len **jeden rad mastigoném** (Hoek a kol., 1995). Mastigonémy majú tubulárnu časť a na konci vlásenkovitý prívesok. Cryptophyta obsahujú aj tzv. rhizostyl, mikrotubulovú štruktúru, ktorá prechádza smerom od bázy jedného z bičíkov celou bunkou až do blízkosti jadra.

Chloroplasty obsahujú **chlorofyl *a* a *c*$_2$**, xantofyly (najmä alloxantín) a **jeden z fykobiliproteínov** (fykoerytrín alebo fykocyanín). Sú **obalené štyrmi membránami**. **Štvrtá membrána chloroplastu** je **pokrytá ribozómami** a je **kontinuálna s membránou drsného ER**, ktorá je kontinuálna s jadrovou membránou (obr. 28.9). **Chloroplasty vznikli sekundárnou endosymbiózou z červených rias**. Vo vnútri chloroplastov sa často nachádza aj pyrenoid a stigma v jeho blízkosti. **Tylakoidy** sú usporiadané väčšinou v skupinách **po dvoch**. Väčšina druhov obsahuje **len jeden chloroplast**, ktorý má **dve časti** (laloky) (Hoef-

Emden a Archibald, 2017). **Sfarbenie** Cryptophyta môže byť veľmi rozdielne a charakteristické pre rôzne druhy (John, 2002). **V závislosti od množstva a pomeru pigmentov** (najmä chlorofylov, fykocyanínu, fykoerytrínu a xantofylov) v chloroplastoch môže byť bunka **modrozelená, červená, červenohnedá, olivovozelená, hnedá alebo žltohnedá**. **Medzi vonkajšími a vnútornými dvojicami membrán chloroplastu** sa nachádza periplastidový priestor (pôvodne cytoplazma symbiotickej červenej riasy), v ktorom sa nachádzajú **ribozómy eukaryotického typu** (80S), zásobná látka – **škrob** a zvyšok jadra endosymbiotickej riasy – **nukleomorf** (Hoef-Emden a Archibald, 2017). Zástupcovia Cryptophyta preto obsahujú zvyčajne až štyri genómy – hostiteľský jadrový, mitochondriový (pôvodne α-proteobaktériový), plastidový (pôvodne plastidový genóm červenej riasy a ešte predtým genóm sinice) a nukleomorfový (pôvodne jadrový genóm červenej riasy) (Kim a kol., 2017).

Povrch bunky je pokrytý tzv. **periplastom**, ktorý je zložený z dvoch vrstiev skladajúcich sa prevažne z proteínov, medzi ktorými sa nachádza plazmatická membrána. Vnútorná vrstva periplastu môže obsahovať hexagonálne, polygonálne a rôzne tvarovo odlišné **doštičkovité útvary**. Vonkajšiu vrstvu periplastu tvoria doštičky, ružicovité šupiny a/alebo vlákna. Pod povrchom periplastu a najmä v oblasti ventrálne preliačeniny sa nachádzajú tzv. **ejektozómy** (obr. 28.9). Sú to vymrštiteľné telieska, ktoré slúžia k omráčeniu koristi a/alebo **k lovu**. V blízkosti preliačeniny sa nachádza obyčajne aj kontraktilá vakuola (obr. 28.9). Jadro obsahuje veľké jadierko. Jadrová membrána počas mitózy zaniká (otvorený typ mitózy). Cryptophyta majú len jednu veľkú rozvetvenú mitochondriu, ktorá sa rozprestiera po celej cytoplazme (Hoef-Emden a Archibald, 2017). Na priereze bunky sa tak môže zdať, že je v bunke prítomných mitochondrií viac. Mitochondriové kristy sú ploché.



Obr. 28.9. Stavba bunky skupiny Cryptophyta. *a – dlhší bičík s dvomi radmi mastigoném, b – kratší bičík s jedným radom mastigoném, c – kontraktilná vakuola, d – škrob, e – chloroplast, f – periplastidový priestor, g – jadierko, h – jadro, i – veľké ejektozómy, j – mitochondria, k – nukleomorf, l – endoplazmatické retikulum (ER), m – malé ejektozómy rozptýlené pod periplastom, n – periplast s doštičkami*

Väčšina zástupcov Cryptophyta je **fotosyntetických**. Sú súčasťou fytoplanktónu morských, brakických alebo jazerných ekosystémov. Obývajú chladné, mierne aj tropické moria, pobrežné vody, jazerá, rybníky, kaluže a dokonca boli nájdené aj v snehu (Hoef-Emden a Archibald, 2017). **Niektorí zástupcovia** sú aj nefotosyntetickí **s nefotosyntetickými plastidmi**. **Fagotrofný bakteriovorný** bentický **rod *Goniomonas*** dokonca **žiadne plastidy** ani neobsahuje. Tento rod spoločne s rodom *Hemiarma* je však v súčasnosti často považovaný za samostatnú líniu (Cyanthomonadacea), ktorá je na báze Cryptophyta.

Kryptomonády sú aj významnou zložkou potravy pre ďalšie planktónne predátori. Pre prežitie nepriaznivých podmienok vytvárajú cysty. Sú ohrozované nielen predátormi, ale aj intracelulárnymi parazitmi. Typická je pre nich vertikálna migrácia vo vodnom stĺpci. Migrujú do anoxického prostredia v noci a počas dňa sa zdržujú na hladine. V týchto zónach je menej predátorov (Hoef-Emden a Archibald, 2017). Cryptophyta sú často aj endosymbionti dinoflagelát alebo ciliát (napr. endosymbionty prvoka *Mesodinium rubrum*).

Cryptophyta sa väčšinou **rozmnožujú asexuálne otvorenou mitózou** a následným jednoduchým **pozdĺžnym delením** – tzv. **schizotómia**. Delenie začína v brušnej preliačenine. **Sexuálne rozmnožovanie** je najčastejšie **izogamia**. Po splynutí dvoch dvojbičíkatých buniek vzniká tzv. planozygota, ktorá má štyri bičíky. Pohlavné rozmnožovanie u mnohých druhov nebolo popísané. Je však známe napr. u *Proteomonas sulcata* alebo u rodov *Chroomonas* a *Cryptomonas* (Hoef-Emden a Archilbald, 2017). **Haploidné a diploidné štádiá** môžu zodpovedať dvom heteromorfným generáciám **s odlišnou morfológiou** (Bertrand a kol., 2015).

Na základe prítomnosti chlorofylu *c* a podobnej plastidovej ultraštruktúry zaradil Cavalier-Smith v roku 1981 Cryptophyta spoločne s Haptophyta a Heterokontophyta (Stramenopiles) do skupiny Chromista a neskôr skupinu Chromista a Alveolata do taxónu Chromalveolata (Cavalier-Smith, 1981, 2002). Fylogenetické analýzy plastidových génov Haptophyta, Stramenopiles, Alveolata a Cryptophyta ukazujú, že plastidy týchto štyroch skupín pochádzajú z červených rias. Chromalveolátna hypotéza predpokladala, že tieto skupiny mali spoločného predka, u ktorého došlo k jednej jedinej endosymbióze s červenou riasou (viď kapitola 22). Fylogenetické analýzy jadrových génov však väčšinou vyvracajú hypotézu o monofyletickom pôvode skupín Cryptophyta, Haptophyta a ostatných chromalveolátnych línií a ukazujú, že skupiny Stramenopiles a Alveolata sú blízko príbuzné skupine Rhizaria, s ktorou patria pod jednu monofyletickú taxonomickú skupinu SAR (Burki a kol., 2007), niekedy označovanú aj ako Harosa. V súčasnosti sa teda z veľkej časti skôr akceptuje, že u rôznych línií bývalého taxónu Chromalaveolata došlo k viacerým nezávislým sekundárnym, prípadne možno aj terciárnym endosymbiózam (viď kapitola 22). Jedna z novších taxonomických alternatív navrhovala, aby sa Cryptophyta a Haptophyta spolu s niekoľkými ďalšími heterotrofnými skupinami (iné línie, ktoré neboli pôvodne zahrnuté v chromalveolátnej hypotéze) zoskupili do novej taxonomickej skupiny Hacrobia (alebo CCTH – Cryptophyta, Centrohelida, Telonemida a Haptophyta) (Burki a kol., 2012; Cavalier-Smith, 2018). Dodnes je v niektorých systémoch zaužívané aj používanie systematickej skupiny Chromista, ktorá je ale v týchto systémoch členená už na SAR (synonymum Harosa) a Hacrobia (Cavalier-Smith, 2018). Nedávno bolo najmä na základe fylogenetických analýz navrhnuté, aby boli **Cryptophyta, Katablepharida** (viď kapitola 28.4.2) a **rod *Palpitomonas*** (viď kapitola 28.4.3.) radené do spoločného taxónu **Cryptista** (Burki a kol., 2016; Ald a kol., 2019). Príbuznosť Cryptophyta a Katablepharida dokazuje aj podobnosť ejektozómov a prítomnosť dvoch nerovnako dlhých bičíkov (Hoef-Emden a Archibald, 2017). Taxón **Cryptista** je na základe najnovších analýz pravdepodobne **príbuzný skupine Archaeplastida** (Burki a kol., 2016).

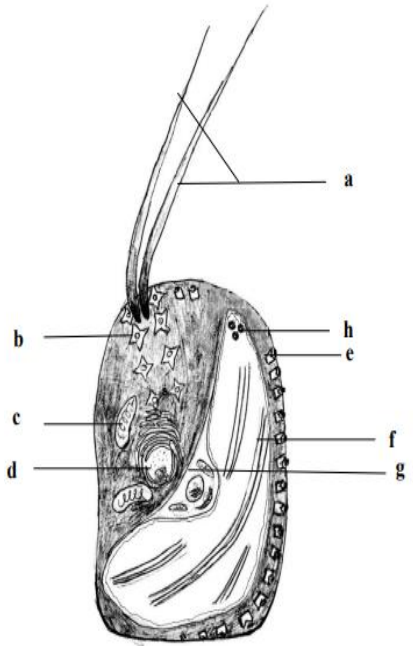
V počiatkoch šesťdesiatych rokov bol systém Cryptophyta vďaka metódam elektrónovej mikroskopie založený na ich ultraštruktúre. Systematici ich klasifikovali na základe prítomnosti jedného z typov fykobiliproteínov, ultraštruktúry plastidov, polohy nukleomorfu, morfológie bičíkatých štruktúr, periplastu či iných morfologických vlastností. Väčšina týchto znakov bola dobre preštudovaná a považovali sa za stabilné. Takáto klasifikácia na základe morfológie buniek však má svoje úskalia. Príkladom môže byť druh *Proteomonas sulcata*, ktorý mal dva odlišné morfologické typy (morfotypy). Oba morfotypy mali rovnaké fykobiliproteíny (fykoerytríny), ale mali odlišnú ultraštruktúru. Dnes vieme, že tieto dva morfotypy sú pravdepodobne haploidné a diploidné štádium tohto organizmu (Hoef-Emden a Archibald, 2017). V súčasnosti sa v systematike Cryptophyta využívajú najmä fylogenetické analýzy.

Typickým zástupcom Cryptophyta je bežný rod *Cryptomonas,* ktorý žije v sladkovodnom prostredí (Hoef-Emden a Melkonian, 2003). Vo vodnom prostredí sa tieto bičíkovce pohybujú špirálovitým pohybom (Kaneda a Furuya, 1987). Pôvodne tento rod existoval ako tri samostatné rody: *Cryptomonas*, *Campylomonas* a *Chilomonas*. Molekulové analýzy však naznačili, že *Campylomonas* a *Chilomonas* sú len odlišné morfologické štádia životného cyklu rodu *Cryptomonas* (Hoef-Emden a Melkonian, 2003).

Ďalšími rodmi zo skupiny Cryptophyta sú napr. *Chroomonas, Falcomonas, Geminigera, Proteomonas, Storeatula, Rhodomonas, Komma, Hanusia* a *Guillardia*.

28.4.2 Katablepharida

Katablepharida sú zvyčajne heterotrofné **mierne dorzoventrálne sploštené bičíkovce bez chloroplastov**. Jeden z najznámejších druhov, ***Hatena arenicola***, však často **obsahuje fototrofného endosymbionta** (obr. 28.10).



Obr. 28.10. Stavba bunky zástupcu* Hatena arenicola *zo skupiny Katablepharida. *a – bičíky, b – väčšie ejektozómy, c – mitochondrie, d – jadro s jadierkom, e – menšie ejektozómy, f –chloroplast endosymbionta obalený dvomi membránami, g – endosymbiont, h – stigma*

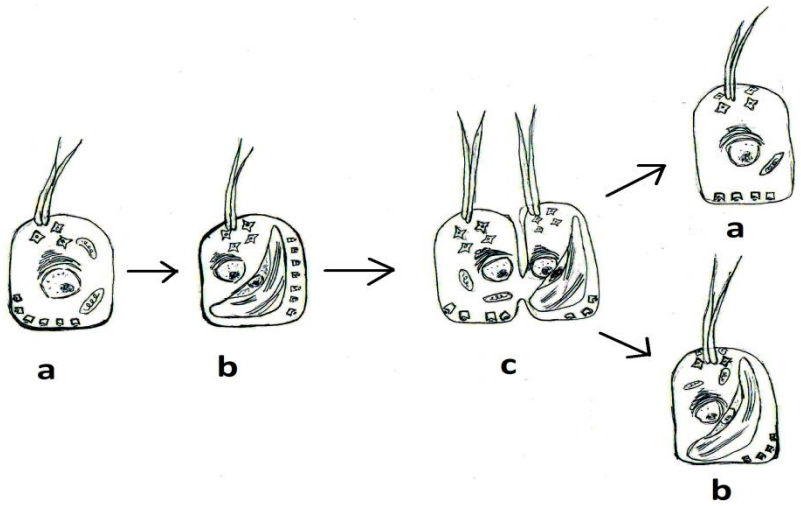
Zo subapikálnej ventrálnej strany bunniek zástupcov skupiny Katablepharida vychádzajú **dva nerovnako dlhé bičíky**, ktoré **nie sú pokryté mastigonémami**. Dlhší z nich smeruje anteriorne (dopredu) a kratší posteriorne (dozadu). **Na povrchu bunky a bičíkov** sa nachádza **dvojvrstvová obalová štruktúra** a pod ňou sa nachádza cytoplazmatická membrána (Lee a kol., 1991; Vørs 1992; Okamoto a Inouye, 2005). Katablepharida sa vyznačujú aj prítomnosťou dvoch typov ejektozómov. **Menšie ejektozómy** sú usporiadané **rovnomerne po celej bunke**. **Dve pozdĺžne rady väčších ejektozómov** sa nachádzajú **v blízkosti bázy bičíkov** (obr. 28.10). V prednej časti bunky sa nachádza Golgiho aparát (GA), v zadnej časti potravová vakuola a v strede bunky jadro (Lee a kol., 1991; Vørs 1992; Okamoto a Inouye, 2005). Mitochondriové kristy sú tubulárne. **Vyživovací mikrotubulový aparát** (cytopharynx), ktorý sa nachádza dorzoventrálne **v prednej časti bunky**, je pomerne komplikovaný (Lee a Kugrens, 1991; Okamoto a Inouye, 2005).

Skupina Katablepharida dlho bola a v systéme podľa Adl a kol. (2019) stále je zaraďovaná ku skupine Cryptophyta pre ich spoločné znaky ako podobnosť bunkovej štruktúry, prítomnosť ejektozómov a orientácia bičíkov. Viacerými morfologickými znakmi (napr. tubulárne mitochondriové kristy či bičíky bez mastigoném) sa však Katablepharida od Cryptophyta, ako sú popísané v kapitole 28.4.1., odlišujú. Morfológia vyživovacieho aparátu Katablepharida skôr pripomína cytostóm Ciliophora a/alebo apikálny komplex skupiny Apicomplexa (Lee a Kugrens, 1991; Okamoto a Inouye, 2005).

Zástupcovia Katablepharida sú **predátori**, ktorí sa pomerne **bežne** vyskytujú **v sladkovodnom aj morskom prostredí**. Distribúcia organizmov z tejto skupiny doposiaľ nebola veľmi dobre preskúmaná. Napr. druh *Leucocryptos marina* je fagotrofný dravec, ktorého možno nájsť v každom ročnom období v pobrežných vodách s kozmopolitným výskytom (Vørs, 1992). Rod *Katablepharis* je tiež pomerne bežnou zložkou morského planktónu. Medzi korisť druhu *Katablepharis japonica* patrí množstvo zástupcov morského planktónu (napr. baktérie, vrátane siníc, Dinoflagellata, Cryptophyta a Prasinophyta), vrátane toxických a škodlivých rias (Kwon a kol., 2017). Počas útoku na korisť tieto dravé bičíkovce narušia jej bunkové povrchy a potom prijímajú cytoplazmu z porušenej bunky pomocou mikrotubulového vyživovacieho aparátu.

Druh *Roombia truncata* sa líši od ostatných zástupcov Katablepharida tým, že bičíky vybiehajú z bradavičnatého subapikálneho výbežku na ventrálnej strane bunky, veľké ejektozómy sú prítomné v 5-11 pozdĺžnych radách a zväčšujú sa v radách posteriornym smerom. Počas kŕmenia požiera celú korisť (napr. rozsievka *Navicula* sp. alebo baktérie) (Okamoto a kol., 2009). Ak je korisťou rozsievka, jej schránka je po strávení vylúčená z bunky procesom exocytózy (Okamoto a kol., 2009).

Hatena arenicola je druh špecifický tým, že **môže mať v bunke prítomnú endosymbiotickú zelenú riasu rodu *Nephroselmis***. Symbiont si zachováva nielen chloroplast, ale aj jadro (niekedy až štyri jadrá) a mitochondriu/mitochondrie (Okamoto a Inouye, 2006). Symbiont je obalený jednou membránou a chloroplast predstavuje jeho najväčšiu časť (obr. 28.10). **Pri delení bunky** *Hatena arenicola* **sa symbiont prenesie len do jednej dcérskej bunky**, pričom druhá dcérska bunka musí znova fagocytovať endosymbionta z rodu *Nephroselmis*, aby mohla znova žiť autotrofne (Okamoto a Inouye, 2006). **Vyživovací aparát** je pozorovateľný **len u heterotrofných buniek bez endosymbionta**. U autotrofných buniek so symbiontom sa nachádza stigma, ktorá súčasťou chloroplastu endosymbionta, na mieste, kde má heterotrofné štádium umiestnený vyživovací aparát. Táto oblasť v prípade fototrofného štádia neobsahuje ejektozómy (Okamoto a Inouye, 2006). Životný cyklus *H. arenicola* je znázornený na obr. 28.11.



***Obr. 28.11. Životný cyklus* Hatena arenicola.** *a – heterotrofné štádium* H. arenicola *bez symbionta rodu* Nephroselmis, *b – fototrofné štádium* H. arenicola *s endosymbiontom rodu* Nephroselmis *(po fagocytóze endosymbionta, ktorého si ponechá len jedna dcérska bunka po delení), c – proces delenia bunky*

28.4.3 *Palpitomonas*

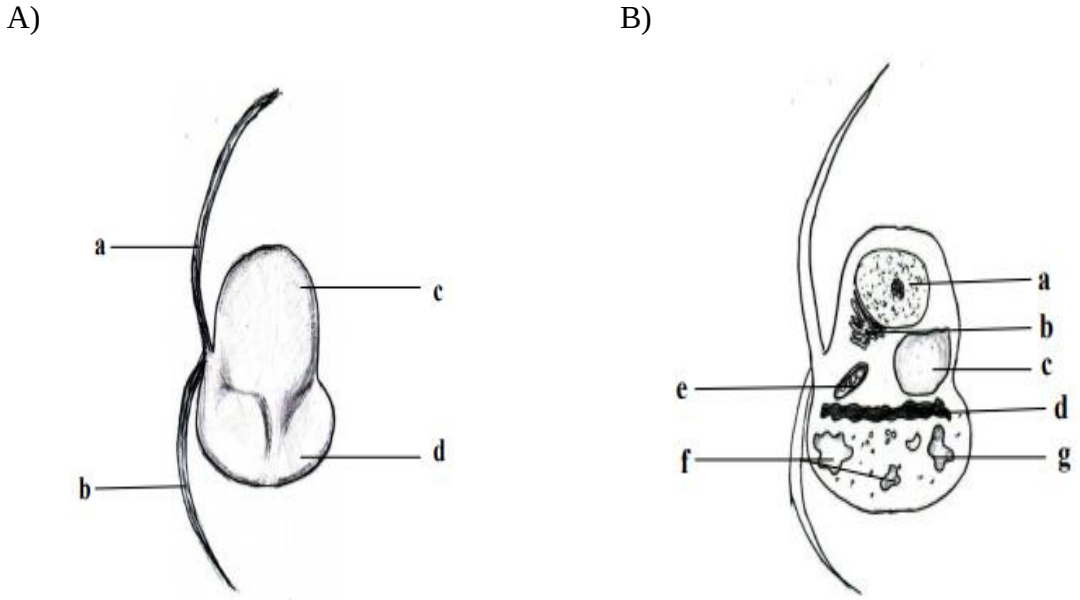
Rod *Palpitomonas* zahrňuje voľne žijúce, morské, heterotrofné bičíkovce s rozmerom približne 5 µm, ktoré majú dva približne rovnako dlhé bičíky. Jeden z bičíkov má jeden rad laterálnych mastigoném. Majú len jednu mitochondriu a mitochondriové kristy sú ploché (Yabuki a kol., 2010). Prvé fylogenetické štúdie naznačili možný vzťah k skupinám Archaeaplastida, Haptophyta a Cryptophyta (Yabuki a kol., 2010). Novšie fylogenetické štúdie ukazujú, že rod *Palpitomonas* je bazálnou líniou v rámci Cryptista (Yabuki a kol., 2014).

28.5 Picozoa

Skupina **Picozoa** zahŕňa **planktónne morské bičíkovce malých rozmerov** (pikoplanktón), ktoré môžu mať aj menej ako 3 µm. Pôvodne boli popísané ako nová línia na základe environmentálnych sekvencií. Zo začiatku sa predpokladalo, že by mohli mať sekundárny plastid s nukleomorfom, preto boli najprv označované ako Picobiliphyta (Not a kol., 2007). Vo fylogenetických štúdiách sa síce ukazovala ich príbuznosť k skupine Cryptophyta, resp. Cryptista (Seenivasan a kol., 2013; Moreira a López-Garcia, 2014) a v niektorých fylogenézach aj k Archaeplastida (Burki a kol., 2016), v súčasnosti je už jasné, že **žiadny chloroplast nemajú**. Prítomnosť chloroplastu vyvrátila štúdia detailne popisujúca ultraštruktúru bunky druhu *Picomonas judraskeda* (Seenivasan a kol., 2013). V súčasnosti sa preto táto skupina označuje ako Picozoa (Seenivasan a kol., 2013; Moreira a López-Garcia, 2014).

Bunka *P. judraskeda* má rozmery 2.5–3.8 x 2–2.5 µm. Bunkou prechádza hlboká **štrbina**, ktorá **bunku rozdeľuje na dve hemisférické časti** (prednú a zadnú). Prednú (anteriornu) a zadnú (posteriornu) časť od seba **z vnútra bunky oddeľuje plochá dosková vakuola**. **Z prednej časti vyrastajú dva laterálne inzertované** pomerne dlhé **bičíky**. Predný je dlhší a zadný kratší (obr. 28.12A). **V prednej časti** bunky sa nachádzajú **takmer všetky**

bunkové organely: ribozómy, ER, nápadné jadro a mitochondria s tubulárnymi kristami. GA je umiestnený medzi mitochondriou a jadrom. V prednej časti sa nachádza aj **membránou obalená štruktúra („microbody“) s neznámou funkciou**. **Zadná časť bunky** obsahuje **veľké množstvo vezikúl a vakuol**. V zadnej časti bunky sa nachádza aj **cytostóm** (obr. 28.12B). **Vyživujú sa endocytózou** malých častí organického materiálu s rozmermi do 150 nm a pravdepodobne aj vírusmi. **Pohybujú** sa veľmi zvláštnym spôsobom **pripomínajúcim skákanie** (Seenivasan a kol., 2013).



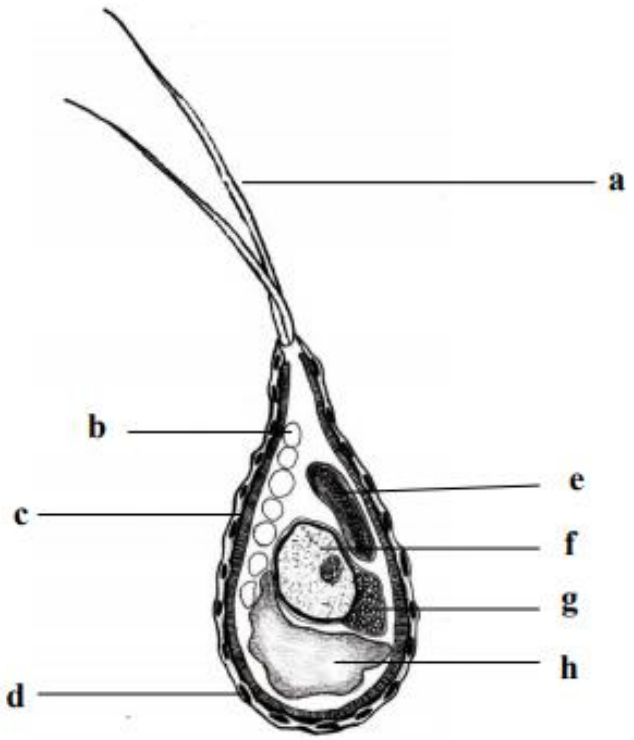
Obr. 28.12. Vonkajšia (A) a vnútorná (B) stavba bunky skupiny Picozoa
A) a – predný dlhší bičík, b – zadný kratší bičík, c – anteriorna časť bunky, d – posteriorna časť bunky
B) a – jadro, b – ER, c – „microbody“, d – doskovitá vakuola, e – mitochondria, f – vakuoly a vezikuly, g – cytostóm

28.6 Telonemida

Telonemida (synonymum Telonemia) boli ešte v nedávnej minulosti často zaraďované do taxónu Hacrobia (synonymum CCTH) spoločne s Cryptophyta, Katablepharida, Haptophyta, Centrohelida a Picozoa (Burki a kol., 2016; Cavalier-Smith, 2018). Najnovšie štúdie však naznačujú, že sú Telonemida s najväčšou pravdepodobnosťou **príbuzné skupine SAR**, a preto bol nedávno navrnutý **taxón TSAR** združujúci skupinu SAR a Telonemida. V rámci TSAR sú Telonemida najbazálnejšou skupinou (Strassert a kol., 2019).

Telonemida sú **morské heterotrofné bičíkovce bez chloroplastov s hruškovitým** (resp. kvapôčkovitým) **tvarom bunky**. Majú **dva takmer rovnako dlhé bičíky vychádzajúce z bázy anteriorneho** (predného) **kónického konca** (obr. 28.13). Bičíky smerujú počas plávania dozadu (Yabuki a kol., 2013; Ohtsuka a kol., 2015). V bunke sa nachádza **viacero vezikúl**, ktoré vytvárajú **pásovité zoskupenie** (obr. 28.13) a často je pozorovateľná aj veľká vezikula v ich blízkosti. Potravová vakuola je lokalizovaná v posteriornej (zadnej) časti bunky. Jej veľkosť závisí od množstva fagocytovanej potravy. Na ventrálnej strane v prednej časti bunky sa nachádza vyživovací aparát (Klaveness a kol., 2005), ktorého posteriorna polovica pripomína penetračný aparát (apikálny komplex) skupiny

Apicomplexa a vyživovací aparát skupiny Katablepharida (Yabuki a kol., 2013). Jadro je veľké, situované približne v strede bunky. Mitochondrie sú viacpočetné a obsahujú tubulárne kristy. V blízkosti jadra a/alebo mitochondrií sa nachádza **unikátna organela obalená jednou membránou – telonemozóm** (obr. 28.13). Táto štruktúra obsahuje početné pravidelne usporiadané tenké tubulárne štruktúry (Yabuki a kol., 2013). Pod povrchom bunky sa nachádza viacvrstvová komplikovaná cytoskeletárna štruktúra označovaná ako **subkortikálna lamena** (obr. 28.13), ktorá je charakteristickou črtou skupiny Telonemida (Klaveness a kol., 2005). Mikrotubulová štruktúra posteriornej a anteriornej časti lamely je odlišná (Yabuki a kol., 2013). **Medzi subkortikálnou lamelou a cytoplazmatickou membránou** sa nachádzajú aj **periférne vakuoly**, ktoré **pripomínajú kortikálne alveoly skupiny Alveolata** (Shalchian-Tabrizi a kol., 2006). Vzhľadom na príbuznosť k skupine SAR je možné, že sú tieto štruktúry skupín Alveolata a Telonemida homologické. Bunka má aj **extruzómy** s unikátnou štruktúrou približne rovnomerne rozložené po povrchových štruktúrach bunky (Yabuki a kol,. 2013).



Obr. 28.13. Stavba bunky skupiny Telonemida. *a – bičíky, b – pás vezikúl, c – subkortikálna lamela, d – periférne vakuoly pripomínajúce kortikálne alveoly skupiny Alveolata, e – mitochondria, f – jadro, g– telonemozóm, h – potravová vakuola*

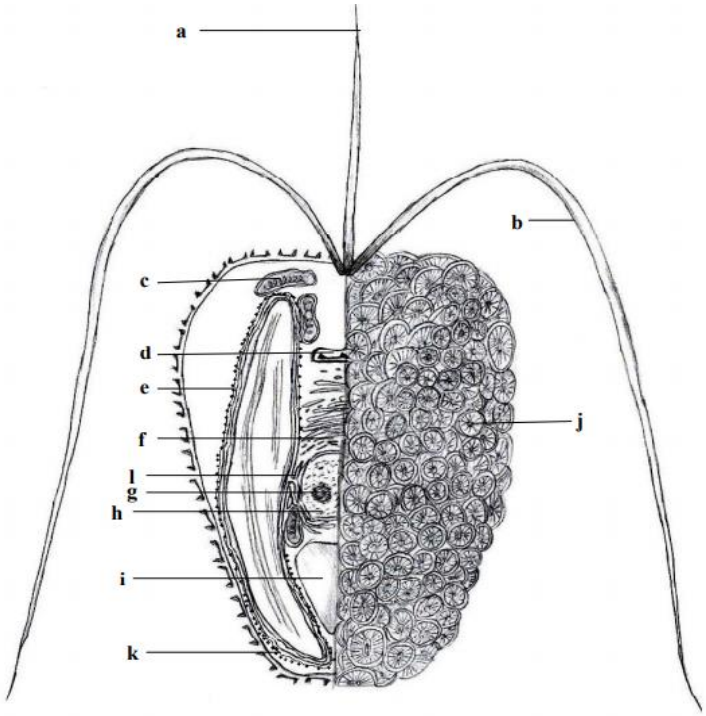
Doposiaľ boli formálne popísané len dva druhy, a to *Telonema antarctica* a *Telonema subtilis* (Shalchian-Tabrizi a kol., 2006; Yabuki a kol., 2013). Dlhší z bičíkov *T. antarctica* má pravdepodobne tripartitné mastigonémy (Klaveness a kol., 2005; Shalchian-Tabrizi a kol., 2006), ktoré ale u *T. subtilis* neboli potvrdené (Yabuki a kol., 2013). Tieto dva druhy žijú v morskom prostredí, ale predpokladá sa, že niektoré druhy budú popísané aj zo sladkovodného prostredia (Bertrand a kol., 2015), keďže boli získané environmentálne sekvencie 18S rRNA príbuzné rodu *Telonema* aj zo sladkých vôd (Bráte a kol., 2010).

28.7 Haptista

Do taxónu **Haptista** patria **Haptophyta a Centrohelida**, ktoré sú si blízko príbuzné (Burki a kol., 2016; Adl a kol. 2019). Ich príbuznými sú pravdepodobne aj tzv. „rappemonády“ (viď kapitola 28.8), ktoré sú však veľmi málo preštudované (Kim a kol., 2011). Najbližšiu sesterskú líniu Haptista by mohol predstavovať aj len nedávno popísaný prvok rodu *Ancoracysta* (Janouškovec a kol., 2017; Strassert a kol., 2019). **Haptista** (spoločne s prvokom rodu *Ancoracysta* a „rappemonádami“) sú pravdepodobne **sesterskou skupinou** SAR (Burki a kol., 2016), resp. **TSAR**, stále však nemožno celkom vylúčiť aj bližšiu príbuznosť Haptista s Cryptista alebo so zoskupením Cryptista+Archaeplastida (Strassert a kol., 2019).

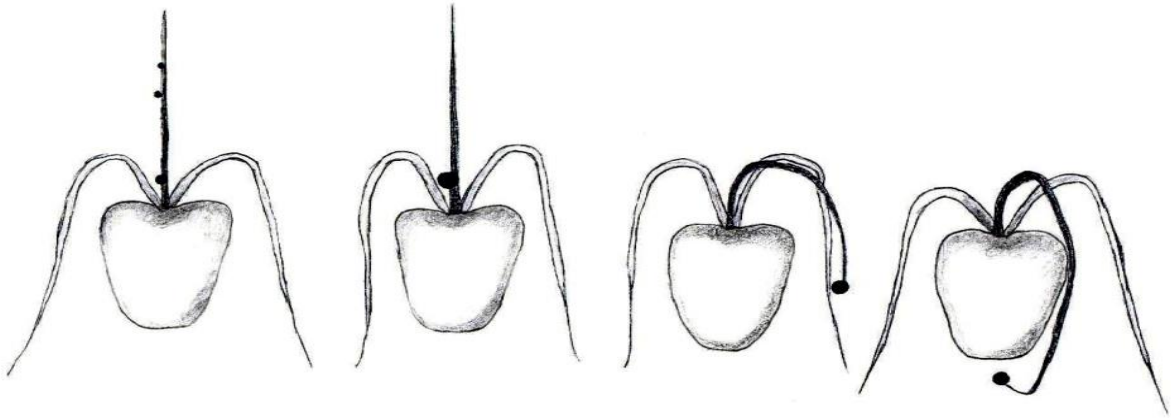
28.7.1 Haptophyta

Haptophyta (známe aj ako **Prymnesiophyta**) sú **fotosyntetické, planktónne jednojadrové bičíkovce**, charakteristické prítomnosťou haptonémy, po ktorej dostali aj názov. **Haptonéma** je **bičíkom podobná štruktúra**, **nachádzajúca sa medzi dvoma hladkými** ťažnými a zvyčajne **približne rovnako dlhými bičíkmi**, ktoré **vychádzajú z prednej** (anteriornej) **časti bunky** (obr. 28.14). Na rozdiel od klasických bičíkov (s organizáciou mikrotubulov 9+2), haptonéma obsahuje len 6-7 mikrotubulov, ktoré sú obklopené výbežkom endoplazmatického retikula (ER) (Eikrem a kol., 2017).



Obr. 28.14. Stavba bunky skupiny Haptophyta. *a – haptonéma, b – bičíky, c – mitochondria, d – tvorba nového kokolitu vo vezikule derivovanej z Golghiho aparátu (GA), e – plastid so štyrmi membránami, f – Golgiho aparát (GA), g – jadierko, h – jadro, i – vakuola, j – kokolity na povrchu bunky, k – ribozómy naviazané na štvrtej membráne plastidu, l – endoplazmatické retikulum (ER).*

Haptonéma môže niekedy presahovať aj celé telo bunky, ako je to u druhu *Chrysochromulina rotalis*, ale naopak u rodov *Isochrysis* a *Chrysotila* je haptonéma krátka a často problematicky identifikovateľná pod svetelným mikroskopom (Eikrem a kol., 2017). **Ak je haptonéma dlhá**, **jej funkciou je zachytiť a posunúť potravu k potravovej vakuole**. Keď sa organizmus voľne pohybuje vo vode, haptonéma je orientovaná smerom vpred. Drobné častice (napr. baktérie) sa prilepia na haptonému, prepravia sa na úsek cca 2 μm od bunky, kde sa vytvorí agregát. Následne sa agregát presunie na koniec haptonémy, haptonéma sa ohne a posunie agregát do zadnej (posteriornej) časti bunky, kde je fagocytovaný a stáva sa súčasťou potravovej vakuoly (Eikrem a kol., 2017; obr. 28.15). Dlhá aj krátka **haptonéma** môže slúžiť **aj na prichytenie k substrátu alebo na zmenu smeru pohybu**.



Obr. 28.15. Zhlukovanie potravy a posun potravy k potravovej vakuole pomocou haptonémy

Zástupcovia zo skupiny Haptophyta majú v bunke **jeden alebo dva pozdĺžne diskovité chloroplasty**. Chloroplasty obsahujú **chlorofyly *a*, c_1 a c_2**, betakarotén, diadinoxantín a diatoxantín (Zapata a kol., 2014). Chloroplasty majú **štyri membrány**. **Štvrtá** je fyzicky spojená **s membránou endoplazmatického retikula** (ER). **Plastidy vznikli sekundárnou endosymbiózou z červených rias**, no **neobsahujú nukleomorf** (redukované jadro endosymbiotickej riasy). **Tylakoidy** sú usporiadané do lamiel **v skupinách po troch**. Pyrenoid je obyčajne centrický, uložený v strede chloroplastu. **Zásobná látka** je **chrysolaminarín**, ktorá sa ukladá vo vezikulách (vakuolách) v zadnej časti bunky (Eikrem a kol., 2017).

V prednej časti bunky sa nachádza Golgiho aparát (GA) (Lee, 2008; obr. 28.14). **Bunky** sú celé **pokryté šupinami z organického materiálu** (obyčajne celulóza). **V niektorých prípadoch** (napr. *Emiliania huxleyi*) sú **šupiny kalcifikované $CaCO_3$** (obr. 28.16). **Kalcifikované šupiny** nazývame **kokolity**. **Šupiny sa tvoria vo veľkých vezikulách** vznikajúcich fúziou malých vezikúl **derivovaných z GA** (Taylor a kol., 2017). Produkcia kokolitov dosahuje maximum v popoludňajších hodinách a výrazne sa znižuje alebo sa úplne zastaví v noci. Tento denný rytmus ovplyvňuje nielen rast kokolitov, ale aj ostatné bunkové organely (Manton a Parke, 1962).

Haptophyta sú skupinou fotosyntetických mikroorganizmov (rias), ktorá uprednostňuje **väčšinou morské prostredia**. Hoci ide vzhľadom na počet druhov o relatívne malú skupinu, obzvlášť morskí zástupcovia majú **značný ekologický význam v biogeochemických cykloch v morských ekosystémoch a v kolobehu uhlíka a síry** na Zemi. **V mnohých oblastiach oceánov** sú **dominantnou zložkou fytoplaktónu**. Zástupcovia tejto skupiny predstavujú až viac ako 45% fytoplanktónu v južnom Atlantiku (Williams,

2006) a podľa nedávnych odhadov 30-50% všetkého fytoplanktónu oceánov, čo naznačuje, že majú veľmi významnú úlohu **v produkcii O_2 a fixácii CO_2**, a teda sú nenahraditeľné z hľadiska globálneho fungovania ekosystémov (Liu a kol., 2009). Obzvlášť významnú úlohu vo fixácii CO_2 majú malí (2,8±0,2 μm), poväčšine zatiaľ nekultivovaní zástupcovia Haptophyta, ktorí v subtropickom a tropickom severovýchodnom Atlantickom oceáne zabezpečujú takmer 30% celkovej primárnej produkcie (Jardillier a kol., 2010). Hoci sa Haptophyta na jednej strane významne podieľajú na fixácii CO_2 počas tmavej fázy fotosyntézy, **v procese kalcifikácie kokolitov sa CO_2** naopak **uvoľňuje** do morskej vody a následne do atmosféry. Proces kalcifikácie zjednodušene popisuje táto chemická reakcia:

$$Ca^{2+} + 2HCO_3^- \rightarrow CaCO_3 + CO_2 + H_2O$$

Kalcifikácia a fixácia CO_2 sú teda komplementárne procesy, ktoré sú neoddeliteľnou súčasťou kolobehu uhlíka na našej planéte. Niektoré druhy Haptophyta vytvárajú **veľké biele povlaky (white tides) na hladine oceánov**, ktoré je možné pozorovať na záberoch z družíc (Riebesell a kol., 2000). Za **biele sfarbenie** týchto povlakov sú zodpovedné práve **kacifikované kokolity** na povrchu týchto organizmov. Najznamejšími druhmi, ktoré vytvárajú takéto povlaky, sú ***Emiliania huxleyi*** a *Gephyrocapsa oceanica*. **Mnohí zástupcovia** Haptophyta (napr. *Phaeocystis* sp.) sú známi aj pre svoju **schopnosť produkovať** dimetylsulfoniopropionát (DMSP), prekurzorovú zlúčeninu **dimetylsulfoxidu** (DMS). Táto zlúčenina tvorí klimaticky aktívny plyn, ktorý tvorí **kondenzačné jadro oblakov** (Eikrem a kol., 2017).

Životný cyklus Haptophyta **zvyčajne zahŕňa striedanie haploidného a diploidného štádia**. V niektorých skupinách (napr. Pavlovophyceae) však nebolo striedanie generácií zatiaľ pozorované. Veľmi častým je aj **striedanie pohyblivých a nepohyblivých štádií**.

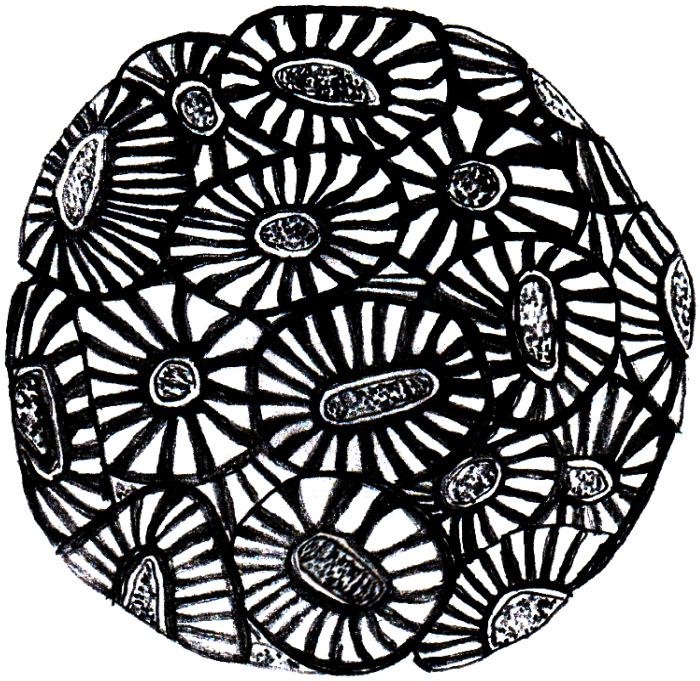
U viacerých zástupcov rodu *Phaeocystis* sú známe až štyri rôzne vývinové štádiá. Dve z nich sú haploidné a jednobunkové (mikroflagelát a mezoflagelát) a majú funkciu gamét. Ďalšie dve štádiá – jednobunkový makroflagelát a mnohobunková palmeloidná kolónia – sú diploidné. Predpokladá sa, že makroflagelát sa vyvíja do kolónie. Mikroflagelát a mezoflagelát sú meiózou produkovaní v kolónií. Životný cyklus je ukončený syngamiou (splynutím) mikroflageláta s mezoflagelátom, pričom vznikne makroflagelát, ktorý vytvorí novú kolóniu (Eikrem a kol., 2017).

Životné cykly u skupín kokolitoforov, ktoré produkujú kokolity, sú tiež typické striedaním haploidnej a diploidnej fázy. Každá fáza je charakteristická prítomnosťou rôznych typov kokolitov (Eikrem a kol., 2017). V prípade **najznámejšieho morského druhu *Emiliania huxleyi*** je **pohyblivé štádium pokryté nekalcifikovanými šupinami**, pričom **kokolitoforové štádium je pokryté kalcifikovanými kokolitmi** (obr. 28.16; Eikrem a kol., 2017). **Pohyblivé štádium** je obyčajne **haploidné** a **kokolitoforové štádium diploidné**. Zaujímavosťou je, že diploidné štádium *E. huxleyi* pokryté kokolitmi (Obr. 28.16) je často napádané lytickými vírusmi EhV, zatiaľ čo bičíkaté haploidné štádium pokryté nekalcifikovanými šupinami je voči týmto vírusom rezistentné. Vplyvom vírusov však môže aj diploidné štádium nadobudnúť morfológiu pohyblivého štádia bez kokolitov a stať sa rezistentným voči nim (Frada a kol., 2017).

Fylogenetické postavenie skupiny **Haptophyta** nie je doposiaľ celkom uspokojivo objasnené. Najnovšie práce naznačujú, že sú **blízko príbuzné Centrohelida** a spolu s nimi vytvárajú skupinu **Haptista**. Haptista sú zase **s najväčšou pravdepodobnosťou sesterskou skupinou SAR** (Burki a kol., 2016), resp. TSAR (Telonemida+SAR) alebo zoskupeniu Cryptista+Archaeplastida (Strassert a kol., 2019).

Skupinu Haptophyta tvoria dve triedy Pavlovophyceae a Coccolithophyceae. Do triedy Pavlovophyceae sa zaraďujú druhy, ktorých tvar šupín pripomína gombíky. Pohybujú sa zväčša dvomi nerovnako dlhými bičíkmi. Haptonéma je redukovaná. Charakteristické rody z tejto triedy sú napr. *Pavlova* a *Diacronema*.

Početnejšia na druhy je trieda Cocoolithophyceae, ktorá je pomerne rôznorodá. Druhy zaraďujúce sa do tejto triedy môžu a nemusia obsahovať kokolity, taktiež môžu a nemusia mať rovnako dlhé bičíky, haptonéma je pri niektorých druhoch dlhá a pri iných redukovaná. Do triedy sa zaraďujú tieto rady: Isochrysidales, Coccolithales, Prymnesiales, Phaeocystales.



Obr. 28.16. Kokolitoforové štádium prvoka* Emiliania huxleyi *pokryté kalcifikovanými šupinami (kokolitmi)

Isochrysidales je rad, do ktorého sú zaradení najznámejší zástupcovia skupiny Haptophyta s redukovanou haptonémou ako *Emiliania* sp., *Isochrysis* sp. a *Ruttnera* sp. (Eikrem a kol., 2017). Rod *Isochrysis* zahŕňa morské druhy *I. galbana, I. litoralis* a *I. maritima*. *I. galbana* obsahuje pomerne veľké množstvo hodnotných lipidov, ktoré sú využiteľné ako zdroj potravy pre komerčnú produkciu. Niektoré mastné kyseliny, ktoré produkuje tento druh, sú nevyhnutné pre rast a vývoj lariev mäkkýšov (Sukenik a Wahnon, 1991).

Rad Coccolithales je najpočetnejší z hľadiska zástupcov. Patria sem rody ako napr. *Acanthoica, Braarudosphaera, Calyptrosphaera, Chrysotila, Coccolithus, Corisphaera, Crenalithus, Cyclolithella, Discosphaera, Helicosphaera, Laminolithus, Rhabdosphaera, Syracosphaera, Umbellosphaera* a *Umbilicosphaera* (Eikrem a kol., 2017).

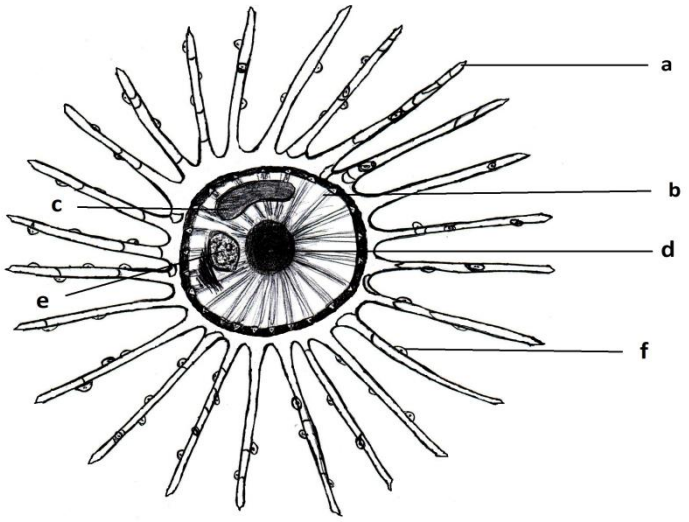
Haptonéma je veľmi dlhá u zástupcov z radu Prymnesiales a často veľmi užitočná pri lovení koristi. Patria sem napr. rody *Chrysochromulina, Haptolina a Prymnesium.* Druh *Prymnesium parvum* môže vážne ohrozovať morské živočíchy. Jeho toxicita spočíva v látke známej aj ako „prymnesín“, ktorá má silné cytotoxické, hemolytické, neurotoxické a ichtyotoxické účinky (Eaker a Wadstrom, 2016). Tento sekundárny metabolit je škodlivý najmä pre organizmy, ktoré dýchajú žiabrami, pretože umožňuje únik iónov z buniek žiabier (Manning a La Claire, 2010). Prymnesín má aj alelopatické účinky, ktoré *P. parvum* využíva na elimináciu konkurenčných druhov. *Chrysochromulina* je prevažne morský resp. brakický rod. Len zopár druhov rodu *Chrysochromulina* žije v sladkých vodách (napr. *C. breviturrita,*

C. inornamenta, C. laurentiana, C. parva). *Chrysochromulina polylepis* je charakteristická produkciou podobných toxínov ako v prípade druhu *P. parvum*.

Do radu Phaeocystales patrí napr. už spomínaný rod *Phaeocystis*.

28.7.2 Centrohelida

Centrohelida (kedysi známe ako Heliozoa, po slovensky Slncovky) sú skupinou **fagotrofných bičíkovcov s guľovitým tvarom bunky** a **dlhými tenkými nevetvenými panôžkami – axopódiami**, prípadne aj inými typmi panôžok. Axopódie sú **usporiadané radiálne** (lúčovito) – dookola bunky a sú **spevnené mikrotubulami** nazývanými **axonémy**, ktoré môžu byť trojuholníkového alebo hexagonálneho usporiadania (Gast, 2017). **Axonémy** vybiehajú z tzv. **centroplastu**, čo je časť cytoplazmy umiestnená **v strede bunky**, obsahujúca tzv. **mikrotubulové organizačné centrá**. **Jadro sa** teda **nenachádza v strede bunky** (obr. 28.17). Mitochondrie majú ploché (vrstevnaté) kristy. **Po celom povrchu bunky aj na axopódiách** sa nachádzajú **extruzómy**, ktoré slúžia na **zachytávanie potravy** (koristi). **Axopódie** sú využívané **aj na pohyb alebo prichytenie k** nejakému **povrchu**. **Povrch bunky** môže byť **hladký**, slizovitý alebo v niektorých prípadoch môže obsahovať aj organické alebo kremičité **šupiny** (Bertrand a kol., 2015; Gast, 2017).



Obr. 28.17. Stavba bunky Centrohelida. *a – axopódie, b – mikrotubuly, c – mitochondria, d – centroplast, e – jadro, f – extruzómy na povrchu axopódií*

Centrohelida sú to **voľne žijúce** prvoky, ktoré je možné nájsť **najmä v sladkovodnom prostredí**, väčšinou **v bentose**. **Živia sa požieraním baktérií** a iných **protistov a rias**. **Väčšie druhy** môžu mať aj **0,5 cm** a živiť sa aj **požieraním lariev bezstavovcov**. Môžu sa vyskytovať pri rôznych teplotách, pH a salinitách v závislosti od druhu a často obývajú aj extrémne stanovištia. Ako súčasť bentosu sa väčšinou **veľmi aktívne nepohybujú**. Niektorí zástupcovia využívajú axopódie aj na pripevnenie k substrátu a sú skôr považovaní za pasívnych predátorov, ktorí lovia korisť, ktorá pláva okolo nich (Gast, 2017). Hoci Centrohelida nie sú považované za fotosyntetické organizmy, v niektorých prípadoch

obsahujú vo svojej bunke aj fototrofnú korisť alebo endosymbiontov, prípadne ich funkčné chloroplasty.

Rozmnožujú sa nepohlavne, binárnym delením buniek, pričom často vznikajú dve nerovnako veľké dcérske bunky. V niektorých prípadoch sa najprv mnohonásobne rozdelia jadrá a potom nasleduje mnohonásobné delenie buniek, čím vzniká z jednej bunky veľké množstvo potomstva (Gast, 2017).

Centrohelida sú skupinou, ktorá bola donedávna často zaraďovaná do skupiny Hacrobia (CCTH) spoločne s Haptophyta, Cryptophyta, Telonemida a inými skupinami (Burki a kol., 2012). Fylogenetické analýzy ukazujú, že **Centrohelida a Haptophyta** sú sesterské skupiny a spolu vytvárajú taxón **Haptista**, ktorý je pravdepodobne (aj spoločne s „rappemonádami“) sesterskou skupinou skupiny SAR (resp. TSAR) (Burki a kol., 2016; Strassert a kol., 2019). Haptista a SAR (resp. TSAR) zase pravdepodobne predstavujú sesterskú líniu k zoskupeniu Cryptista+Archaeplastida (Burki a kol., 2016). Stále však nemožno celkom vylúčiť možnosť, že sú Haptista bližšie príbuzné zoskupeniu Cryptista+Archaeplastida ako skupine TSAR (Strassert a kol., 2019).

Za zmienku stojí, že skupiny Gymnosphaerida and Heliomonadida majú podobnú morfológiu ako Centrohelida, aj keď v detailoch sa odlišujú. Ukazuje sa však, že nie sú fylogeneticky príbuzné skupine Centrohelida. Ich postavenie v systéme eukaryotov však zostáva nejasné (Gast, 2017).

Skupinu Centrohelida rozdeľujeme do troch podskupín: Acanthocystidae, Heterophryidae a Raphidiophrydae (Gast, 2017).

Bunky zástupcov Acanthocystidae sú pokryté dvomi alebo tromi typmi kremičitých šupín. Patria sem rody *Acanthocystis*, *Choanocystis*, *Pseudoraphidiocystis*, *Echinocystis*, *Pseudoraphidiphrys* a *Pterocystis* (Gast, 2017).

Bunky zástupcov Heterophryidae sú nahé alebo so slizovým púzdrom. Patria sem rody *Sphaerastrum*, *Heterophrys*, *Oxnerella* a *Chlamydaster* (Gast, 2017).

Povrch buniek Raphidiophryidae obsahuje kremičité šupiny a výbežky. Patria sem rody *Parasphaerastrum*, *Polyplacocystis*, *Raphidiophrys* a *Raphidiocystis* (Gast, 2017).

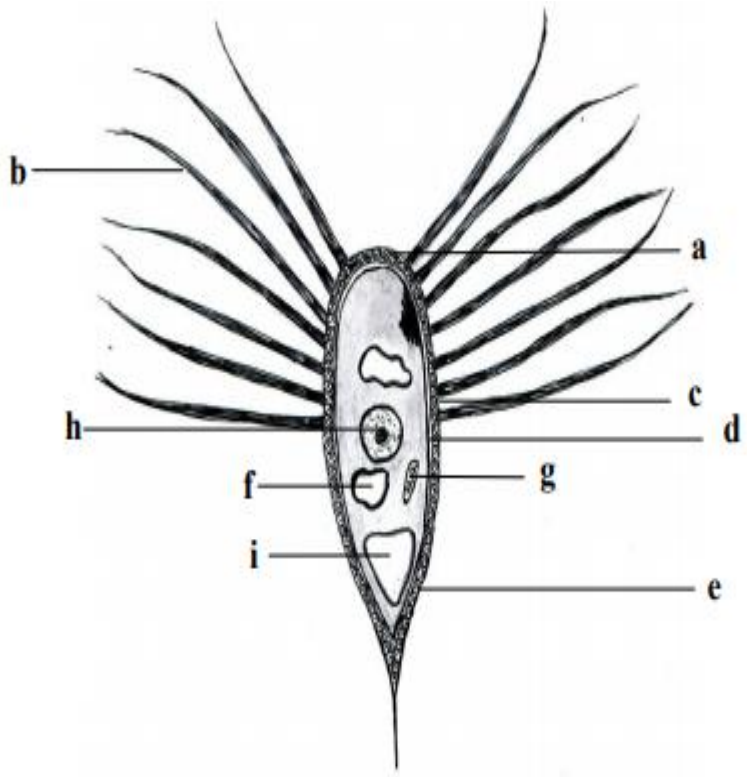
28.8 „Rappemonády“

„Rappemonády“ (z angl. „rappemonads“) sú **malé** eukaryotické mikroorganizmy **objavené na základe environmentálnych sekvencií**. **Detailná ultraštruktúra** týchto organizmov **nie je známa**, ale **pravdepodobne obsahujú** 2-4 **chloroplasty**. Tvoria **súčasť fytoplaktónu** v morských aj sladkovodných ekosystémoch. Ich najbližšími **príbuznými** sú pravdepodobne **Haptophyta**. Vzhľadom na túto príbuznosť sa predpokladá, že plastidy rappemonád majú rovnaký pôvod ako plastidy Haptophyta (Kim a kol., 2011). Možno očakávať, že v budúcnosti bude pravdepodobne tento taxón radený do taxónu Haptista spoločne s Centrohelida.

28.9 Hemimastigophora

Organizmy tejto skupiny sa vyznačujú **dorzoventrálne sploštenou bunkou**, ktorá je **na zadnom konci zašpicatená**. **Niektorí zástupcovia** majú bunku **červovitého tvaru**. **Predná časť bunky** je **skrátená, hríbovitého tvaru** a nazýva sa **kapitulum**. **V posteriornej časti** bunky sa nachádza **kontraktilná vakuola**. Najvýraznejšou črtou sú **dva rady približne rovnako dlhých bičíkov, vychádzajúce z dvoch rýh na oboch bočných stranách bunky** (obr. 28.18). **Dve protistojné laterálne rady bičíkov** sa nazývajú **kinety** (Foissner a kol.,

1988). **V jednej kinete** sa nachádza **7-12 bičíkov**. **U niektorých druhov** sú tieto laterálne **kinety prítomné len v anteriornej časti bunky** a ryhy nemusia byť zreteľné (Foissner a Foissner 1993). Na povrchu bunky je **cytoplazmatická membrána** a **pod ňou tenká a hrubá kortikálna vrstva**. Celá táto **povrchová štruktúra** sa nazýva **pelikula** a **hrubá vrstva epiplazma** (obr. 28.18). Tenká vrstva pelikuly môže u niektorých zástupcov chýbať. **Pelikula** je **vystužená mikrotubulami** a veľmi **pripomína pelikulu** bičíkovcov zo skupiny **Euglenida**. U rodu *Spironema* bol pozorovaný aj plazivý pohyb buniek (metabólia) charakteristický pre euglény (Foissner a Foissner, 1993). **Jadro** Hemimastigophora tiež pripomína jadro euglén. Obsahuje **jedno centrálne uložené jadierko**, ktoré **počas delenia jadra nezaniká**. Majú teda **uzavretý typ mitózy**. Tieto charakteristiky naznačovali, že tieto bičíkovce by mohli byť príbuzné skupiny Euglenida (Foissner a kol., 1988; Foissner a Foissner, 1993). V súčasnosti sa však ukazuje, že táto skupina je skôr samostatnou líniou vyššieho taxonomického postavenia, ktorá je pravdepodobne sesterskou líniou Diaphoretickes (zoskupenia predstavovaného TSAR, Archaeplastida, Cryptista, Haptista a ďalšími skupinami) (Lax a kol., 2018).



Obr. 28.18. Stavba bunky Hemimastigophora. *a – kapitulum, b – bičíky vychádzajúce z dvoch rýh, c – cytoplazmatická membrána, d – pelikula, e – epiplazma, f – potravová vakuola, g – mitochondria, h – jadro s centrálne uloženým jadierkom, i – kontraktilná vakuola*

Doposiaľ je detailnejšie popísaná ultraštruktúra iba u rodov *Spironema*, *Hemimastix* a *Stereonema* (Foissner a kol., 1988; Foissner a Foissner, 1993; Lax a kol. 2018). Žijú **prevažne v pôde a sladkých vodách**. Niektoré sú schopné sa prichytiť aj k substrátu. Pôdny druh *Hemimastix amphikineta* známy z Austrálie a Čile sa živí fagocytovaním baktérií a menších bičíkovcov (Foissner a kol., 1988). Ďalší zástupcovia sú známi aj z Európy a USA a sú tiež **fagotrofní** (Foissner a Foissner, 1993).

Literatúra

ADL, S. M. a kol. 2012. The revised classification of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 59, 429-493.

ADL, S. M. a kol. 2019. Revisions to the classification, nomenclature and diversity of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol 66, 4-119.

BERTRAND, J. C. a kol. 2015. Environmental microbiology: Fundamentals and applications: Microbial ecology. London: Springer.

BRÅTE, J. a kol. 2010. Telonemia-specific environmental 18S rDNA PCR reveals unknown diversity and multiple marine-freshwater colonizations. BMC Microbiol 10, 168.

BROWN, M. W. a kol. 2013. Phylogenomics demonstrates that breviate flagellates are related to opisthokonts and apusomonads. Proc Biol Sci 280, 20131755.

BROWN, M.W. a kol. 2018. Phylogenomics places orphan protistan lineages in a novel eukaryotic super-group. Genome Biol Evol 10, 427-433.

BURKI, F. a kol. 2007. Phylogenomics reshuffles the eukaryotic supergroups. PLoS ONE 2, e790.

BURKI, F. a kol. 2012. The evolutionary history of haptophytes and cryptophytes: phylogenomic evidence for separate origins. Proc Biol Sci 279, 2246-2254.

BURKI, F. a kol. 2016. Untangling the early diversification of eukaryotes: a phylogenomic study of the evolutionary origins of Centrohelida, Haptophyta and Cryptista. Proc R Soc B 283, 20152802.

CAVALIER-SMITH, T. 1981. Eukaryote kingdoms: seven or nine? Biosystems 14, 461-481.

CAVALIER-SMITH, T. 2002. The phagotrophic origin of eukaryotes and the phylogenetic classification of Protozoa. Int J Syst Evol Microbiol 52, 297-354.

CAVALIER-SMITH, T. 2018. Kingdom Chromista and its eight phyla: a new synthesis emphasising periplastid protein targeting, cytoskeletal and periplastid evolution, and ancient divergences. Protoplasma 255, 297-357.

CAVALIER-SMITH, T. a CHAO, E. E. 2010. Phylogeny and evolution of Apusomonadida (Protozoa: Apusozoa). Protist 161, 549-576.

EAKER, D. - WADSTROM, T. 2016. Natural toxins: Proceedings of the 6th international symposium on animal, plant and microbial toxins. Uppsala: Elsevier.

EIKREM, W. a kol. 2017. Haptophyta. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 893-954.

FOISSNER, I. – FOISSNER, W. 1993. Revision of the family Spironemidae Doflein (Protista, Hemimastigophora), with description of two new species, *Spironema terricola* n. sp. and *Stereonema geiseri* n. g., n. sp. J Eukaryot Microbiol 40, 422-438.

FOISSNER, W. – BLATTERER, H. – FOISSNER, I. 1988. The hemimastigophora (*Hemimastix amphikineta* nov. gen., nov. spec.), a new protistan phylum from gondwanian soils. Eur J Protistol 23, 361-383

FRADA, M. F. a kol. 2017. Morphological switch to a resistant subpopulation in response to viral infection in the bloom-forming coccolithophore *Emiliania huxleyi*. PLoS Pathog 13, e1006775.

GAST, R. J. 2017. Centrohelida and other heliozoan-like prostists. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 955-972.

GLÜCKSMAN, E. a kol. 2011. The novel marine gliding zooflagellate genus *Mantamonas* (Mantamonadida ord. n.: Apusozoa). Protist 162, 207-221.

HEISS, A. a kol. 2017. Apusomonadida. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 1619-1646.

HOEF-EMDEN, K. – ARCHIBLAD, J. 2017. Cryptophyta. In Archibald, J. M. – Simpson, A. G. B. – Slamovits, C. H. (eds.), Handbook of the protists. (2nd edition of Margulis, L. a kol., eds. Handbook of the Protoctista) Springer International Publishing AG (e-book), 851-892.

HOEF-EMDEN, K. – MELKONIAN, M. 2003. Revision of the genus *Cryptomonas* (Cryptophyceae): A combination of molecular phylogeny and morphology provides insights into a long-hidden dimorphism. Protist 154(3), 371-409.

HOEK, CH. – MANN, D. – JAHNS, H. M. 1995. Algae: An introduction to phycology. Cambridge: Cambridge University Press.

JANOUŠKOVEC, J. a kol. 2017. A new lineage of eukaryotes illuminates early mitochondrial genome reduction. Curr Biol 27, 3717–3724.

JARDILLIER, J. a kol. 2010. Significant CO_2 fixation by small prymnesiophytes in the subtropical and tropical northeast Atlantic Ocean. Int Soc Microb Ecol 4, 1180-1192.

JOHN, D. M. 2002. The freshwater algal flora of the British Isles: An identification guide to freshwater and terrestrial algae. London: Cambridge University Press.

KANEDA, H. – FURUYA, M. 1987. Effects of the timing of flashes of light during the course of cellular rotation on phototactic orientation of individual cells of *Cryptomonas*. Plant Physiol 84, 178-181.

KIM, E. a kol. 2011. Newly identified and diverse plastid-bearing branch on the eukaryotic tree of life. Proc Natl Acad Sci USA 108, 1496-1500.

KIM, J. I. a kol. 2017. Evolutionary dynamics of cryptophyte plastid genomes. Genome Biol Evol 9, 1859 - 1872.

KLAVENESS, D. a kol. 2005. *Telonema antarcticum* sp. nov., a common marine phagotrophic flagellate. Int J Syst Evol Microbiol 55, 2595–2604.

KWON, J.E. a kol. 2017. Newly discovered role of the heterotrophic nanoflagellate *Katablepharis japonica*, a predator of toxic or harmful dinoflagellates and raphidophytes, Harmful Algae 68, 224-239.

LAX, G. a kol., 2018. Hemimastigophora is a novel supra-kingdom-level lineage of eukaryotes. Nature 564, 410-414.

LEE, R. E. – KUGRENS, P. 1991. Feeding apparatus od the colorless flagellate *Katablepharis* (Cryptophyceae). J Phycol 27, 725-733.

LEE, R. E. – KUGRENS, P. – MYLNIKOV, A. P. 1991. *Katablepharis ovalis*, a colorless flagellate with interesting cytological characteristics. J Phycol 27, 505-513.

LEE, R. E. 2008. Phycology. 4th edition. Cambridge: Cambridge University Press.

LIU, H. a kol. 2009. Extreme diversity in noncalcifying haptophytes explains a major pigment paradox in open oceans. Proc Natl Acad Sci USA 106, 12803-12808.

MANNING, S. R. – La Claire J. W. 2010. Prymnesins: Toxic metabolites of the golden alga, *Prymnesium parvum* Carter (Haptophyta). Mar Drugs, 8, 678-704.

MANTON, I. – PARKE, M. 1962. Preliminary observations on scales and their mode of origin in *Chrysochromulina polylepis* sp. nov. J Mar Biol Ass UK 42, 565-578.

MOREIRA, D. – LÓPEZ-GARCIA, P. 2014. The rise and fall of Picobiliphytes: How assumed autotrophs turned out to be heterotrophs. Bioessays 36, 468-474.

NOT, F. a kol. 2007. Picobiliphytes: a marine picoplanktonic algal group with unknown affinities to other eukaryotes. Science 315, 253-255.

OHTSUKA, S. a kol. 2015. Marine Protists: Diversity and Dynamics. Tokyo: Springer.

OKAMOTO, N. – INOUYE, I. 2005. The katablepharids are a distant sister group of the Cryptophyta: A proposal for Katablepharidophyta divisio nova/Kathablepharida phylum novum based on SSU rDNA and beta-tubulin Phylogeny. Protist 156, 163-179.

OKAMOTO, N. – INOUYE, I. 2006. *Hatena arenicola* gen. et sp. nov., a katablepharid undergoing probable plastid acquisition. Protist 157, 401-419.

OKAMOTO, N. a kol. 2009. Molecular phylogeny and description of the novel katablepharid *Roombia truncata* gen. et sp. nov., and establishment of the Hacrobia taxon nov. PLOS One 4, e7080.

RIEBESELL, U. a kol. 2000. Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO_2. Nature 407, 364-367.

SEENIVASAN, R. a kol. 2013. *Picomonas judraskeda* gen. et sp. nov.: The first identified member of the Picozoa phylum nov., a widespread group of picoeukaryotes, formerly known as 'Picobiliphytes'. PLOS One 8, e59565.

SHALCHIAN-TABRIZI, K. a kol. 2006. Telonemia, a new protist phylum with affinity to chromist lineages. Proc Biol Sci 273, 1833-1842.

STRASSERT, J. F. H. a kol., 2019. New phylogenomic analysis of the enigmatic phylum Telonemia further resolves the eukaryote tree of life. Mol Biol Evol 36, 757-765.

SUKENIK, A. – WAHNON, R. 1991. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. I. *Isochrysis galbana*. Aquaculture 97, 61-72.

TAYLOR, A. R. a kol. 2017. Coccolithophore cell biology: chalking up progress. Annu Rev Mar Sci 9, 283-310.

VØRS, N. 1992. Ultrastructure and autecology of the marine, heterotrophic flagellate *Leucocryptos marina* (Braarud) Butcher 1967 (Katablepharidaceae/Kathablepharidae), with a discussion of the genera *Leucocryptos* and *Katablepharis*/*Kathablepharis*. Eur J Protistol 28, 369-389.

WALKER, G. a kol. 2006. Ultrastructural description of *Breviata anathema*, n. gen., n. sp., the organism previously studied as "*Mastigamoeba invertens*". J Eukaryot Microbiol 53, 65-78.

WILLIAMS, B. J. 2006. Hydrobiological modelling. Newcastle: Lulu.

YABUKI, A. – INAGAKI, Y. – ISHIDA, K.. 2010. *Palpitomonas bilix* gen. et sp. nov.: A novel deep-branching heterotroph possibly related to Archaeplastida or Hacrobia. Protist 161, 523-538.

YABUKI, A. a kol. 2012. *Rigifila ramosa* n. gen., n. sp., a filose apusozoan with a distinctive pellicle, is related to *Micronuclearia*. Protist 164, 75-88.

YABUKI, A. a kol. 2013. Fine structure of *Telonema subtilis* Griessmann, 1913: a flagellate with a unique cytoskeletal structure among eukaryotes. Protist 164, 556-569.

YABUKI, A. a kol. 2014. *Palpitomonas bilix* represents a basal cryptist lineage: insight into the character evolution in Cryptista. Sci Rep 4, 4641.

ZAPATA, M. a kol. 2004. Photosynthetic pigments in 37 species (65 strains) of Haptophyta: implications for oceanography and chemotaxonomy. Mar Ecol Prog Ser 270, 83-102.

ZHAO, S. a kol. 2012. *Collodictyon* — an ancient lineage in the tree of eukaryotes. Mol Biol Evol 29, 1557-1568.

Názov: **ZÁKLADY MIKROBIOLÓGIE, PROTISTOLÓGIE A ALGOLÓGIE**
(vysokoškolské skriptá)

Autori :
Matej Vesteg
Dominika Ihradská – Diana Jelenčíková
Michal Kapitáň – Simona Kobušová – Barbora Kostolanská
Ján Kvasnica – Diana Lihanová – Katarína Majkútová
Miriam Trniková – Karin Zajacová
Alexandra Lukáčová

Rozsah: 409 strán
Vydanie: prvé
Vydavateľ: Belianum. Vydavateľstvo Univerzity Mateja Bela v B. Bystrici
Edícia: Fakulta prírodných vied Univerzity Mateja Bela v B. Bystrici, 2020

ISBN 978-80-557-1708-1
(online)