

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

Katedra genetiky



Diplomová práce

2010

**Distribuce aerobních anoxygenních
fotosyntetických bakterií ve Středozezemním moři**

Bc. Eva Hojerová

Vedoucí práce: Mgr. Michal Koblížek Ph.D.

Eva Hojerová (2010): Distribuce aerobních anoxygenních fotosyntetických bakterií ve Středozezemním moři. (Distribution of aerobic anoxygenic photosynthetic bacteria in the Mediterranean Sea) – MSc. Thesis, in Czech, 52 pp, Faculty of Sciences, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

Infrared epifluorescence microscopy was used for analysis of distribution of anoxygenic phototrophic bacteria, cyanobacteria and heterotrophic bacteria in the Mediterranean Sea. The phylogeny of observed organisms was determined using fluorescence in situ hybridization technique. In addition, main ecological factors determining abundance of AAP bacteria were tested in laboratory manipulation experiments using infrared microscopy and infrared kinetic fluorometry.

Poděkování:

Především děkuji svému školiteli Dr. Michalu Koblížkovi za odborné vedení a trpělivost. Poděkování patří i kolegům z laboratoře a ústavu za vytvoření přátelského prostředí.

Projekt byl podpořen projektem Grantové agentury České republiky č. 206/07/0241. Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně pouze s použitím citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 7. 1. 2010

.....

podpis

Obsah:

1. Úvod	4
1.1. Aerobní anoxygenní fototrofové	5
1.2. Druhová rozmanitost AAP bakterií	8
1.3. Fotosyntéza	11
1.3.1. Pigmenty	11
1.3.2. Fotosyntetický aparát	13
1.3.3. Mechanismus bakteriální fotosyntézy	14
1.4. Středozevní moře	15
2. Cíle práce	17
3. Materiál a metody	18
3.1. Plavba TransMed	18
3.2. MODIVUS	19
3.3. Metody	22
3.3.1. Infračervená epifluorescenční mikroskopie (IREM)	22
3.3.2. FISH	24
3.3.3. Fluorometrie	27
4. Výsledky 28	
4.1. Rozšíření AAP bakterií ve Středozevním moři	28
4.2. Manipulační experimenty	38
5. Diskuze	44
6. Závěr	48
7. Seznam citované literatury	49

1. Úvod

Většinu povrchu Země pokrývá oceán. Vzhledem ke své ohromné rozloze určuje zásadním způsobem podnebí a koloběh prvků na této planetě a významně ovlivňuje život organizmů včetně člověka. I v 21. století ukrývá odpovědi na otázky týkající se vzniku a vývoje života, dlouhodobých změn klimatu a vztahů mezi živými organizmy. Každým dnem se rodí nové a zanikají překonané teorie. Problematikou spjatou s oceánem se zabývá stále větší počet vědců a badatelů. V současné době se stal oceán nejen místem nadnárodních a politických zájmů, ale především místem, které je třeba chránit. Nechráníme jenom životní prostředí pro nevyčísitelné množství rostlin a živočichů, ale i sami sebe. Mnozí Středoevropané si to jistě neuvědomují, ale oceán každý den zasahuje do života nás všech.

Světové oceány pokrývají 70 % povrchu Země a ve vývoji života na naší planetě hrály vždy nezastupitelnou roli. Ve svých vodách ukrývají velmi rozmanitý a bohatý život a není tedy divu, že se stal předmětem rozsáhlého zkoumání. V tradičních představách je primární produkce organické hmoty v oceánu zajišťována oxygenními fotosyntetickými mikroorganismy obsahujícími chlorofyl, řasami a sinicemi, tvořícími tzv. fytoplankton. Tyto organismy stojí na samém základě potravního řetězce a mají určující vliv na globální koloběh prvků v přírodě. Heterotrofní organismy (bakterie, zooplankton, ryby) potom využívají ať přímo nebo nepřímo organickou hmotu vytvořenou těmito primárními producenty a to jak k budování vlastní biomasy tak jako zdroje metabolické energie. V poslední době se ukazuje, že mnohé organismy využívají k získávání uhlíku a energie různé alternativní cesty, které donedávna nebyly známy. Ukazuje se například, že sinice rodu *Prochlorococcus*, který je nejhojnějším zástupcem fotosyntetických mikroorganismů v oceánu, může přijímat jednoduché aminokyseliny a využívat tedy i částečně heterotrofní způsob výživy. Některé jednobuněčné řasy mohou dokonce vystupovat jako predátoři a přímo lovit mořské bakterie. Na druhé straně se ukazuje, že mnohé mořské bakterie jsou schopné využívat energii světla. Do této skupiny náleží bakterie obsahující reakční centra obsahující bakteriochlorofyl, takzvaní aerobní anoxygenní fototrofové (AAP = Aerobic Anoxygenic Phototrophs) a pravděpodobně též bakterie obsahující proteorhodopsin. Tyto organismy balancují někde uprostřed mezi fototrofy a heterotrofy. Na jedné straně využívají energii získanou ze světla

podobně jako fytoplankton a na druhé straně jsou podobně jako heterotrofové závislí na zdrojích organického uhlíku. Našla se zde tedy nová metabolická strategie, která se jeví jako velmi výhodná a může pro fotoheterotrofy znamenat výraznou konkurenční výhodu. Poslední výzkumy ukazují, že výskyt těchto organismů v oceánech je poměrně častý, a můžeme tedy usuzovat, že hrají v mořském ekosystému podstatnou úlohu.

1.1. Aerobní anoxygenní fototrofové

Zájem o objasnění otázky vzniku fotosyntetických organismů přivedla Prof. Paula Falkowského na oceánské dno k sopečným vývěřům (Koblížek a Prášil, 2002). Falkowski a jeho tým předpokládal, že primitivní formy fotosyntézy mohly vzniknout díky bakteriochlorofylu *a* (BChl *a*, pigment schopný využívat infračervené záření, vlnová délka 750 – 1100 nm), na základě chemického a tepelného zázemí u hlubokomořských vývěřů. Prostřednictvím batiskafu *Alvin* a s citlivým infračerveným fluorimetrem hledali signál BChl *a* v tektonicky aktivních místech Tichého oceánu. Nicméně měření v oblasti hydrotermálních vývěřů se ukázalo jako neúspěšné. Signál překvapivě našli při dalším testování přístroje, a to na hladině.

Tato náhoda vedla ke znovuobjevení a popsání AAP bakterií. Již před přibližně 30 lety byli v Japonsku z pobřežní vody, písku a povrchu řas izolováni první zástupci AAP bakterií (Shiba a kol., 1979) náležející do rodu *Erythrobacter* a *Roseobacter*. Od té doby jsou hojně popisovány nové rody.

Aerobní anoxygenní fototrofní bakterie se pohybují na hranici mezi anaerobními fototrofy a aerobními heterotrofy. Převážně využívají heterotrofii, ale když je zdroj živin nedostačující, jsou schopni pokrýt 30 - 50% energetického výdeje fotosyntézou (Koblížek a Prášil, 2002).

Jak napovídá název bakterií, probíhá fotosyntéza aerobně, tedy v přítomnosti vzduchu. Druhá část názvu – anoxygenní – je odvozena od skutečnosti, že AAP bakterie nevyužívají vodu (jako zdroj elektronů) pro redukci fotopigmentu a tím neuvolňují kyslík. Dalšími zvláštními vlastnostmi jsou: často vysoká koncentrace karotenoidů v buňkách (Nishimura a kol., 1989; Noguchi a kol., 1992), nepřítomnost Calvinova cyklu (Yurkov a Beatty, 1998),

nízký obsah fotosyntetických komplexů v buňce (Yurkov a Csotonyi, 2009) a inhibice biosyntézy BChla *a* světlem.

S prvními objevy se usuzovalo, že se jedná o malou skupinu bakterií, která je svým výskytem vázaná na specifické ekologické podmínky. Ale jakmile se AAP bakterie začaly studovat intenzivněji, byly nalezeny ve všech zkoumaných prostředích.

Aerobní anoxygenní fototrofové se vyskytují prakticky v každém prostředí kde byli hledáni. Nacházíme je ve vodách všeho typu - sladké i slané, stojaté i tekoucí. Jako půdní byly vyizolovány dva rody: *Craurococcus rozeus* a *Paracraurococcus ruber* (Saitoh a kol., 1998).

Přítomnost AAP byla dokonce prokázána v prostředích s extrémními podmínkami.

V Tichém oceánu, v hloubce kolem 2000 m, byl v blízkosti černých kuřáků a hydrotermálních vývěrů objeven kmen JF-1, Obr.: 1.1. (Yurkov a Beatty, 1998).

Obr.: 1.1. Polymorfní bakterie kmene JF-1, fotografie z elektronového mikroskopu, negativní kontrast. Vyizolované u hydrotermálního vývěru v Tichém oceánu.



Přejato z Yurkov a Beatty, 1998.
Měřítko 1 μ m.

Další zástupci byli nalezeni například v hyperslaných pramenech v Kanadě (Csotonyi a kol., 2008) nebo byla přítomnost AAP detekována v Bolívii v „solné poušti“ v nadmořské výšce kolem 4300 metrů nad mořem, Obr.: 1.2. (Hojerová *nepublikováno*).

Výskyt a početní zastoupení AAP bakterií v rámci celkové bakteriální masy je různý. Záleží na mnoha faktorech. Svou roli hrají: hloubka, světlo, živiny, pH, teplota, salinita, promíchání vod, specifické vlastnosti pro daný druh.

Množství a procentuální zastoupení AAP v rámci všech prokaryotických buněk kolísá. Na volném oceánu se pohybují mezi 0,1 – 24,2 % (Lami a kol., 2007). Většinou však jsou naměřené hodnoty kolem 10 % (Kolber a kol. 2001, Sieracki a kol., 2006). Vyšší zastoupení AAP ve vodách je při ústí řek (Waidner a Kirchman, 2007), okrajových mořích, při pobřeží a ve vodách bohatých na živiny.



Obr.: 1.2. Salar de Uyuni, Bolívie. Fotografie AAP bykterií z infračerveného epifluorescenčního mikroskopu. Měřítko 20 μm .

ERROR: ioerror
OFFENDING COMMAND: image

STACK: