

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta

**Ekologie Aktinobakteriálních čeledí *Micrococcaceae*,
Streptomycetaceae a *Nocardiaceae* v terestrických
ekosystémech.**

Bakalářská práce

Barbora Hejdová

Školitel: Ing. Jiří Bárta, Ph.D.

České Budějovice 2014

Bakalářská diplomová práce

Hejdová, B., 2014: Ekologie Aktinobakteriálních čeledí *Micrococcaceae*, *Streptomycetaceae* a *Nocardiaceae* v terestrických ekosystémech. [Ecology of Actinobacterial classes of *Micrococcaceae*, *Streptomycetaceae* and *Nocardiaceae* in terrestrial ecosystems. Bc. Thesis, in Czech] - 43p., Faculty of Science, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation

The families *Micrococacceae*, *Nocardiaceae* and *Streptomycetaceae* belong to a large phylum Actinobacteria. This phylum is ecologically important and many of its members are mainly found in soil, where they are involved in the carbon cycle and other degradation processes. This capability of degradation of complex bololymers is typical for the genera *Arthrobacter* and *Rhodococcus* in the bioremediation process. Other members like *Streptomyces* are characterized by the ability to produce antibiotics, which are used in the pharmaceutical industry. In this work, we focus on metabolism of selected actinobacterilal families, but also on the pathogenicity and to their occurrence in different habitats. We will use these pieces of information to evaluate the abundance and metabolic potential of these families in soil collected from the north-eastern region of Siberia along the Kolyma River (Cherskii, Republic of Sakha, Russia). Sequencing of the samples showed the highest occurrence of *Streptomyces* and *Arthrobacter* genera and have also relatively large metabolic potential cellulose and phenolics degradation, mainly in the upper soil layers.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce.

Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, 18. 4. 2014

.....

Barbora Hejdová

Poděkování

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala svému školiteli Ing. Jiřímu Bártovi, Ph.D za odborné vedení mé bakalářské práce, za cenné rady a připomínky a především za trpělivost a ochotu, kterou mi věnoval. Poděkování patří i mé rodině za neustálou podporu a dodávání pozitivní energie v průběhu studia.

Obsah

Úvod	1
1 Aktinobakterie	2
1.1 Čeleď <i>Micrococcaceae</i>	3
1.1.1 Rod <i>Arthrobacter</i>	4
1.2 Čeleď <i>Nocardiaceae</i>	6
1.2.1 Rod <i>Nocardia</i>	7
1.2.2 Rod <i>Rhodococcus</i>	9
1.3 Čeleď <i>Streptomycetaceae</i>	12
1.3.1 Rod <i>Streptomyces</i>	13
1.4 Aktinobakterie a Arktida	16
2 Metody	18
2.1 Odběrová oblast	18
2.2 Zpracování vzorků a vyhodnocení dat	18
3 Výsledky a diskuze	19
3.1 Výskyt rodu <i>Arthrobacter</i> v půdách sibiřské Arktidy	20
3.2 Výskyt rodu <i>Rhodococcus</i> v půdách sibiřské Arktidy	21
3.3 Výskyt rodu <i>Streptomyces</i> v půdách sibiřské Arktidy	23
3.4 Shrnutí metabolického potenciálu vybraných čeledí	24
4 Závěr	27
5 Seznam použité literatury	28

Úvod

Aktinobakterie jsou velmi známý kmen bakterií, který zahrnuje velké množství významných čeledí. V této práci byly vybrány tři, na které se zaměřuje blíže. Jedná se o čeledě *Micrococcaceae*, *Streptomycetaceae* a *Nocardiaceae*. Zástupci těchto čeledí se vyskytují převážně v půdě. Někteří se však kromě přírodních stanovišť objevují jako lidské patogeny, v některých případech i patogeny rostlinné. K těmto patří například rod *Nocardia*, jehož zástupci způsobují nokardiózu a některé druhy rodu *Rhodococcus*, které způsobují převážně infekce plic. Patogenní druhy najdeme i u rodu *Arthrobacter*. Rod *Streptomyces* zahrnuje patogenní druhy pro rostliny. Nejznámější je *Streptomyces scabies*, jenž způsobuje strupovitost brambor.

V půdě mají Aktinobakterie a jejich zástupci významnou úlohu. Jsou součástí koloběhu uhlíku a podílí se na rozkladných procesech mnohých sloučenin. Všechny vybrané rody jsou například schopné degradovat aromatické sloučeniny, rod *Streptomyces* rozkládá celulózu. Významný je také rod *Rhodococcus*, který dokáže degradovat látky znečišťující prostředí.

Kromě těchto vlastností bylo zjištěno, že mnohé druhy produkují sekundární metabolity, které mohou mít různorodá využití. U vybraných čeledí, a zvláště pak u rodu *Streptomyces*, se jedná převážně o antibiotické látky. Nejznámější je streptomycin, bleomycin nebo avermectin. Rod *Arthrobacter* produkuje chinolonová antibiotika s vysokou účinností proti gram-pozitivním bakteriím. Patří sem také různé extracelulární enzymy, které svým producentům propůjčují rozmanité vlastnosti. Mohou jim například zvýšit odolnost a tím možnost přežití v nehostinných podmínkách či hostitelích. Mají vliv i na degradační potenciál.

Tato práce si klade následující cíle:

1. Shromáždit informace o Aktinobakteriích a jejich vybraných čeledích *Micrococcaceae*, *Nocardiaceae* a *Streptomycetaceae*.
2. Stanovit relativní zastoupení vybraných čeledí Aktinobakterií ve vzorcích arktických půd.
3. Určit metabolický potenciál degradace celulózy a fenolických látek vybraných čeledí v arktických půdách.

1 Aktinobakterie

Kmen Aktinobakterie se řadí mezi gram-pozitivní bakterie, které mají ve své DNA vysoký obsah guaninu a cytosinu a většina jich je aerobních. Je to jeden z největších bakteriálních kmenů (Ventura et al. 2007). Jeho zástupci jsou hojně rozšířeni, původně izolováni z půdy. Najdeme je však i ve sladkých vodách (Ghai et al. 2012). Mají důležitou úlohu v rozkladu organických látek, zejména celulózy, fenolických látek a chitinu, čímž se podílí na celkovém koloběhu uhlíku na naší planetě. V půdě tak přispívají k doplňování živin a jsou též zapojeni do procesu tvorby humusu. Najdeme mezi nimi i patogenní rody jako jsou *Mycobacterium*, *Corynebacterium* nebo *Nocardia*. Mezi původce lidských onemocnění se řadí také zástupci řádu *Actinomycetales*.

Aktinobakterie jsou dobře známé pro svou produkci sekundárních metabolitů, což je činí farmakologicky a též komerčně významnými. Příkladem je půdní rod *Streptomyces* pro svou produkci antibiotik (např. aktinomycin) či gastrointestinální kmenzál *Bifidobacterium* (Ventura et al. 2007). Aktinobakterie rodu *Frankia* jsou významné jako symbionti rostlin, které dokážou vázat dusík. Další zástupci umí degradovat pesticidy (*Streptomyces xiamenesis*, *Micromonospora saelicesensis*) (Fuentes et al. 2010) a dokonce odbourávat xenobiotika (De Schrijver & De Mot 1999). Díky této různorodosti se může zdát, že by mohly být kořenem stromu života. Servin et al. (2008) se však domnívá, že tomu tak není, jelikož pro to nejsou dostatečně věrohodné či žádné důkazy. Aktinobakterie byly dříve řazeny k houbám a to proto, že některé tvoří vláknité kolonie, které připomínají mycelium hub. Z této skutečnosti také pochází jejich dřívější název *Actinomycetes*.

Mezi nejznámější a nejprostudovanější čeledě patří *Actinomycetaceae*, *Micrococcaceae*, *Microbacteriaceae*, *Nocardiaceae*, *Streptomycetaceae*, *Frankineae* a *Propionibacteriaceae* (Dworkin et al. 2006). Mikrobiologové se neustále snaží izolovat nové bakteriální druhy z různých ekosystémů, které zařazují do fylogeneticky příbuzných skupin. Provádí se u nich metabolický screening a testují se růstové podmínky těchto izolátů. Na druhé straně probíhají velmi podrobné studie mikrobiální diverzity pomocí specifické sekvenace SSU genů pomocí NextGen sekvestorů, které produkují obrovské množství sekvenčních dat. Proto je logická snaha zkombinovat oba přístupy a snažit se pomocí již známých izolátů a znalosti jejich metabolismu charakterizovat mikrobiální společenstva z hlediska jejich funkční diverzity.

Tato práce se bude specificky zabývat čeleděmi *Micrococcaceae*, *Nocardiaceae*, *Streptomycetaceae* a jejich vybranými druhy (Tab. I).

Tabulka I: Vybrané čeledi a rody třídy Aktinobakterií (upraveno podle Dworkin et. al 2006).

Čeď	Rody
<i>Micrococcaceae</i>	<i>Micrococcus</i>
	<i>Arthrobacter</i>
	<i>Renibacterium</i>
	<i>Kocuria</i>
	<i>Stomatococcus</i>
	<i>Nesterenkonia</i>
	<i>Rothia</i>
<i>Nocardiaceae</i>	<i>Nocardia</i>
	<i>Rhodococcus</i>
<i>Streptomycetaceae</i>	<i>Streptomyces</i>
	<i>Kitasatospora</i>
	<i>Streptacidiphilus</i>

1.1 Čeď *Micrococcaceae*

Taxonomické zařazení: doména Bacteria, kmen Actinobacteria, třída Actinobacteria.

Patří sem rody: *Arthrobacter*, *Kocuria*, *Micrococcus*, *Nesterenkonia*, *Renibacterium*, *Rothia*, *Stomatococcus*. Všechny zmíněné rody jsou charakterizovány výskytem L-lysinu jako diagnostické diaminokyseliny peptidoglykanu (Dworkin et al. 2006).

Micrococcaceae jsou gram-pozitivní koky vyskytující se většinou ve shlucích. Aerobní i anaerobní druhy produkují oxid uhličitý a anaerobní druhy navíc vodík (Branson 1968). U řady zástupců této čeledě byla prokázána vysoká odolnost a přizpůsobivost. Venugopal et al. (1994) dokonce izoloval *Micrococcus varians* z hovězího masa, které bylo skladováno ve vakuu nebo pod oxidem uhličitým více než 15 týdnů při teplotě 0,2 a 4°C. Izolovaný kmen byl navíc odolný i vůči vysokým koncentracím soli (15% NaCl) a byl rezistentní vůči lysozymu - enzymu, který u mnohých bakterií účinně ničí buněčnou stěnu.

U zástupců čeledě *Micrococcaceae*, izolovaných z tradičních sýrů, byla zjištěna produkce sirovodíku z cysteinu a také velké množství sloučenin síry: sulfidy, thioly, thioestery a některé dosud neidentifikované (Bloes-Breton et al. 1997).

Některé rody čeledě *Micrococcaceae*, izolované z mořské houby v oblasti Florida Keys, by mohly sloužit jako nové zdroje pro výrobu biologicky aktivních přírodních produktů (Palomo et al. 2013). Jedná se především o druhy rodu *Kocuria* a *Micrococcus*. Izoláty byly testovány na produkci sekundárních metabolitů proti klinicky významným kmenům (*Bacillus subtilis*, methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* a *Candida albicans*). U třech nezávislých izolátů byla prokázána produkce bioaktivní látky proti MRSA (methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*), která byla identifikovaná jako kocurin – nový člen rodiny antibiotik, založených na peptidu thiazolylu (Palomo et al. 2013). Tato antibiotika fungují na principu blokování proteosyntézy bakterií (Walsh et al. 2010).

1.1.1 Rod *Arthrobacter*

Základní charakteristika a výskyt

Rod *Arthrobacter* zahrnuje převážně půdní nesporulující a obligátně aerobní bakterie. Je to jeden z nejčastěji izolovaných rodů v půdě (Mongodin et al. 2006). Je typický tím, že dokáže přežít extrémně nehostinné podmínky. Jeho členy lze najít v běžných i hlubokých podpovrchových půdách, v arktickém ledu nebo v prostředích kontaminovaných chemickými a radioaktivními látkami. Přestože netvoří spóry ani jiná klidová stádia, jsou zástupci tohoto rodu pozoruhodně rezistentní vůči vysoušení (Chen et al. 1973) a nedostatku živin (Boylen et al. 1978), díky čemuž jsou v půdě tak hojné.

Tyto bakterie jsou koryneformní a vykazují takzvanou gram-variabilitu. Geneticky se řadí do gram-positivní větve Aktinobakterií, ale během svého života mohou být i gram-negativní (Beveridge 1990). Jsou schopné využívat mnohé substráty, jako například nikotin, nukleové kyseliny, sacharidy ale i různé herbicidy a pesticidy.

Patogenita

Zástupci rodu *Arthrobacter* zatím nebyli popsáni jako původci onemocnění u člověka. Nicméně v posledních letech byl z klinických vzorků izolován nový druh *Arthrobacter cumminsii* (Funke et al. 1996). Tento druh má specifické složení mastných

kyselin v membráně a je proto snadno identifikovatelný. Bylo též prokázáno, že *A. cumminsii* je odolný vůči některým antimikrobiálním látkám, zejména vůči aminoglykosidům a chinolonům, na které je většina koryneformních bakterií citlivá. Je pravděpodobné, že *A. cumminsii* je v mnoha klinických laboratořích nesprávně identifikován vzhledem k jeho absenci v zavedených identifikačních systémech (Funke et al. 1998). Druhý nově zaznamenaný druh byl *Arthrobacter woluwensis*, který byl izolovaný z lidské krve (Funke et al. 1996).

Metabolismus

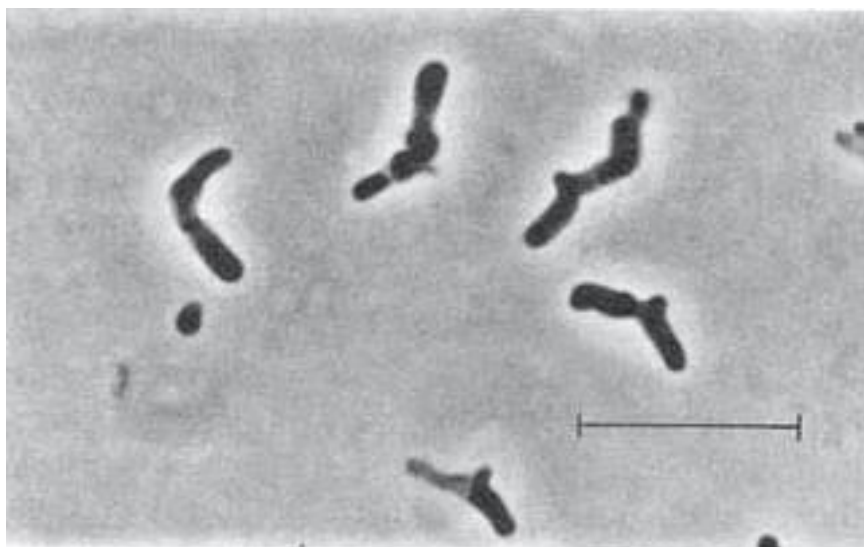
Zástupci druhu *Arthrobacter globiformis* jsou schopni jak redukce dusičnanů, tak i fermentace. Produkují laktát, acetát a ethanol pro svůj anaerobní růst. Také druh *Arthrobacter nicotianae* je schopný anaerobní respirace nitrátů (Eschbach et al. 2003). Studie Megharaj et al. (2003) prokázala, že některé druhy *Arthrobacter* umí redukovat šestimocný chrom na trojmocný.

Spolu s výrobou jaderného paliva dochází k odtoku nebezpečného odpadu, který kontaminuje půdu a podzemní vodu. Další studie ukazují, že některé rody *Arthrobacter* v aerobních podmínkách tolerují sloučeniny uranu, konkrétně UO_2^{2+} (Katsenovich et al. 2013). Kmen G975 (*Arthrobacter oxydans*) byl zaznamenán jako nejrychleji rostoucí a vůči uranu nejvíce tolerantní. Z růstového média ho odstraní až 90%.

Rod *Arthrobacter* produkuje chinolonová antibiotika s vysokou účinností proti gram-pozitivním bakteriím, včetně druhů *Staphylococcus epidermidis* a *S. aureus*, které jsou odolné vůči mnohým jiným antibiotickým látkám (Kamigiri et al. 1996). O produkci antibiotik bakteriemi, pocházejícími z Arktidy či Antarktidy, není známo příliš mnoho. Nicméně v nedávné době proběhla studie, při níž byla u izolátů ze Severního ledového oceánu prokázána produkce antibiotik. Mezi nalezenými bakteriemi měl své místo i rod *Arthrobacter*, který produkoval arthrobaciliny (A-C) (Wietz et al. 2012).

Nejsou informace o tom, že by tento rod byl schopen rozkládat celulózu. Naproti tomu degraduje aromatické sloučeniny jako například sloučeniny pyridinu (O'Loughlin et al. 1999), 4-chlorfenol a další aromatické látky, čehož může být využito pro bioremediaci (Westerberg et al. 2000). Dále degraduje pentachlorfenol, který je častým kontaminantem v půdě, jelikož se používá jako fungicid k ochraně dřeva (Schenk et al. 1990). Byl také prokázán rozklad herbicidu atrazinu (Zhang et al. 2011).

Podle Smacchi et al. (1999) produkuje druh *Arthrobacter nicotianae* serinové proteázy, jejichž aktivita závisí na pH. V další studii Smacchi et al. (2000) prokázal produkci extracelulární esterázy. Rod *Arthrobacter* je také znám pro svou schopnost degradovat zemědělské pesticidy, například karbaryl (Hayatsu et al. 1999).



Obr. 1: *Arthrobacter globiformis* (úsečka 10 μ m, upraveno podle Dworkin et al. 2006).

1.2 Čeleď *Nocardiaceae*

Taxonomické zařazení: doména Bacteria, kmen Actinobacteria, třída Actinobacteria.

Zahrnuje dva rody: *Nocardia*, *Rhodococcus*

Nocardiaceae je čeleď aerobních živinově nenáročných Aktinobakterií, které jsou, jako všechny výše uvedené, běžně nacházeny v půdě a vodě. Zástupci této čeledě byli izolováni i z antarktických půd (Lyons et al. 1996). Jejich buněčná stěna obsahuje kromě peptidoglykanu i mykolové kyseliny. Polysacharidová část jejich buněčné stěny je bohatá na galaktózu a arabinosu. Buněčná stěna neobsahuje fosfolipid fosfatidylcholin (Dworkin et al. 2006).

1.2.1 Rod *Nocardia*

Základní charakteristika a výskyt

Zástupci rodu *Nocardia* jsou chemoorganotrofní nepohyblivé aktinomycety. Tvoří hyfy s různou morfologií od zakrnlých po značně rozvětvené (Dworkin et al. 2006). V současné době obsahuje tento rod 38 druhů, přičemž téměř polovina z nich byla objevena v posledních pěti letech v izolátech klinického materiálu (Gürtler et al. 2001; Hamid et al. 2001; Kageyama et al. 2003; Yassin et al. 2003) a v půdě (Zhang et al. 2004; Saintpierre-Bonaccio et al. 2004).

Většina zástupců rodu *Nocardia* tvoří karotenoidy - pigmenty, které specificky zbarvují jejich kolonie na kultivačních médiích do různých odstínů oranžové, růžové, červené a žluté. Morfologie jejich kolonií je opět velmi různorodá. Mohou být hladké až zrnité, pomačkané, nepravidelné či vrchovaté. Přítomnost vzdušných hyf koloniím dává na povrchu práškový nebo sametový vzhled (Dworkin et al. 2006).

Významným druhem této čeledě je *Nocardia farcinica*. Podobně jako druh *N. asteroides* i tento druh je schopen žít v půdě a vodě stejně jako v živočišných tkáních, což vede k různým onemocněním. Jedná se o tyčinkovitou bakterii, která tvoří endospory a může se též rozpadat na koky. Ideální teplota pro růst obou zmíněných rodů je kolem 37°C. Druh *N. farcinica* produkuje bioaktivní molekuly jako jsou antibiotika a enzymy, které jsou průmyslově významné. U tohoto druhu bylo nalezeno 103 typů oxygenáz, což ukazuje na jeho vysoký metabolický potenciál pro rozklad aromatických látek (Ishikawa et al. 2004).

Patogenita

Patogenním druhem tohoto rodu je *N. asteroides*. Pokud se dostane do hostitele, kterým je i člověk, stává se původcem různých onemocnění. Většinou však tzv. nokardioza propukne pravděpodobněji u jedinců s oslabeným imunitním systémem. Jedná se tedy o oportunní patogen. Nález *N. asteroides* u člověka nemusí být vždy indikátorem závažného onemocnění, nicméně tento druh je považován za nejčastější příčinu nokardiálních infekcí. Primární cestou vstupu patogenu do hostitele je inhalace, a proto tato bakterie nejčastěji vyvolává pulmonální onemocnění, která mohou být někdy zaměňována s tuberkulózou. Při rozšíření bakterie mimo plíce napadá pohrudnici, osrdečník, mediastinum a v neposlední řadě též CNS, kde se tvoří mozkové abscesy (Wilson 2012). Podle Hubble et al. (1995) může být dokonce původcem Parkinsonovy choroby. K léčbě onemocnění, která tento druh

způsobuje, se nejčastěji využívají sulfonamidy a ampicilin. Proti penicilinu je rod *Nocardia* rezistentní (Wilson 2012; Wallace Jr. et al. 1978).

Nocardia brasiliensis je také původcem nokardiozy. Vytváří v těle imunosupresivní prostředí tím, že manipuluje s funkcí T-lymfocytů (Rosas-Taraco et al. 2012). Primárně se do těla dostává plicemi, prvními příznaky infekce však mohou být i kožní léze způsobené poraněním kontaminovaným předmětem. K nákaze jsou opět náchylnější jedinci s oslabeným imunitním systémem (HIV pozitivní pacienti, pacienti po transplantaci kostní dřeně nebo pacienti dlouhodobě léčení kortikosteroidy) (Paramythiotou et al. 2012). Podle Smego et al. (1984) mohou zástupci tohoto druhu způsobovat širokou škálu onemocnění od již zmíněných onemocnění plic, kůže a měkkých tkání po onemocnění CNS, která jsou velmi závažná a ve většině případů končí smrtí. Kromě hostitelského organismu je pro tento druh primárním stanovištěm samozřejmě půda. Onemocnění způsobená druhy rodu *Nocardia* trvají i přes léčbu antibiotiky několik týdnů až měsíců (Paramythiotou et al. 2012).

Druh *N. farcinica* produkuje oxygenázy, které ovlivňují jeho patogenitu. Některé pravděpodobně hrají roli v obraně proti toxickým látkám v půdě nebo v hostiteli (Ishikawa et al. 2004). Z tohoto důvodu je to poměrně nebezpečný patogen napadající kromě člověka i skot, koně a další živočichy. Jeho odolnost vůči léčbě zapříčiňuje vysokou úmrtnost nakažených (Muñoz et al. 2007). Beaman et al. (1994) uvádí, že některé druhy rodu *Nocardia* mohou v hostiteli přetrvávat dlouhou dobu.

Původci plicních onemocnění jsou také druhy *Nocardia veterana*, *Nocardia cyriacigeorgica* a další (Pottumarthy et al. 2003; Schlaberg et al. 2008).

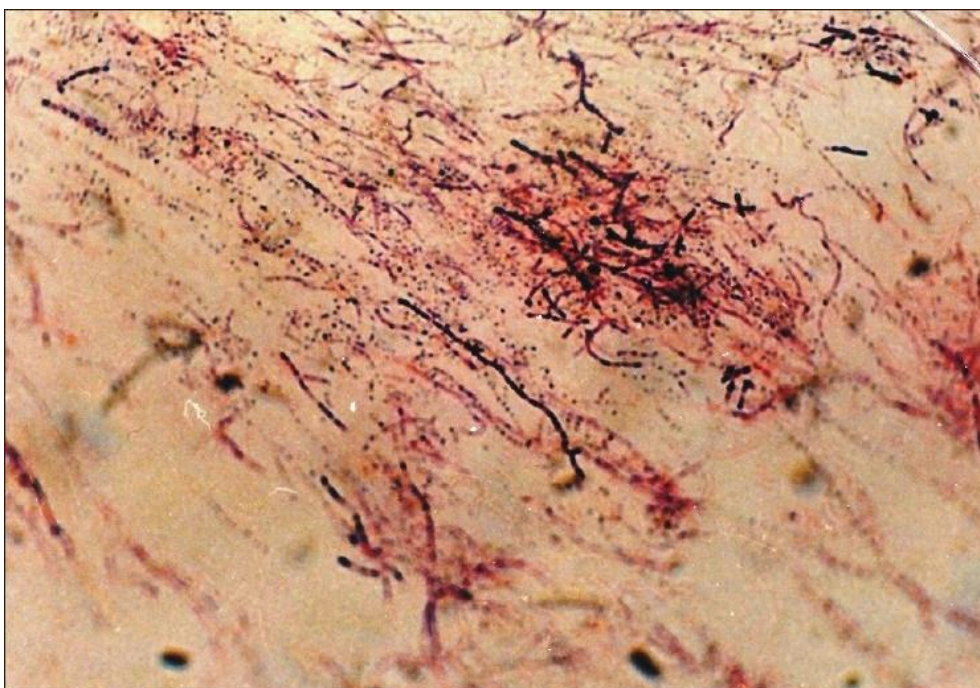
Metabolismus

Prakticky po celém světě můžeme najít již zmíněný druh *N. asteroides*, který jakožto saprofyt žije na mrtvé rozkládající se organické hmotě. Jako zdroj uhlíku je schopen využívat širokou škálu sloučeniny. Primárně acetát, glukonát, sacharózu a acetamidy. Při asimilaci dusíku vytváří aminokyseliny glutamát a glutamin (Wilson 2012).

Přestože rod *Nocardia* se doposud nejevil jako příliš významný pokud jde o produkci antibiotik, nedávno bylo zjištěno, že *Nocardia* sp. produkují velice významné antibiotikum, které je účinné proti zlatému stafylokokovi rezistentnímu na methicilin (MRSA) (Sohn et al. 2008). Účinnost nargenicinu byla dokonce daleko větší než účinnost běžně aplikovaných antibiotik (oxacillin, vancomycin, monensin, erythromycin a spiramycin). Produkci antibiotik též vykazuje druh *Nocardia brasiliensis* (Tanaka et al. 1997).

Rozkladu celulózy je schopen druh *N. cellulans*, u jiných druhů zatím tato schopnost nebyla zaznamenána (Metcalfé & Brown 1957).

Zástupci tohoto rodu jsou podle Eggeling & Sahm (1980) schopni rozkládat coniferyl alkohol a další aromatické sloučeniny. U druhu *Nocardia otitidiscaviarum* byl zaznamenán rozklad fenolu a některých alkanů nebo polycyklických aromatických uhlovodíků, avšak ne toluenu a xylenu (Zeinali et al. 2007; Kim et al. 2002). U členů druhu *Nocardia brasiliensis* byla objevena proteolytická aktivita. Tyto proteolytické enzymy byly schopny například hydrolyzovat kasein (Zlotnik et al. 1984).



Obr. 2: *Nocardia asteroides* (Bassiri-Jahromi & Doostkam 2011).

1.2.2 Rod *Rhodococcus*

Základní charakteristika a výskyt

Zástupci tohoto rodu jsou, stejně jako výše uvedené rody, charakterizováni jako aerobní, nesporulující a nepohyblivé bakterie blízké rodům *Mycobacteria*, *Nocardia* a *Corynebacteria*. Jsou to vláknité bakterie obsahující katalázu, které se mohou větvit nebo tvořit větvičí se hyfy. V buněčné stěně mají mykolové kyseliny (Dworkin et al. 2006). Byly izolovány z mnoha prostředí, převážně z půdy, rhizosféry, mořské vody, odpadní vody a též z aktivovaného kalu (Fernández de las Heras et al. 2009). Z mnoha důvodů jsou významné, zejména pro své metabolické schopnosti, k nimž pravděpodobně přispívají jejich velké

lineární plasmidy (van der Geize et al. 2004). Ty jsou zdrojem různých biodegradačních enzymů jako například fenylalanin dehydrogenáza a endoglykosidáza (Warhurst et al. 1994) a genů kódujících oxygenázy (McLeod et al. 2006).

Zástupci druhu *R. equi* se vyznačují unikátním periplazmatickým prostorem, který je odlišuje od ostatních gram-pozitivních i negativních bakterií. Mají silnou buněčnou stěnu, která funguje jako bariéra proti pronikání hydrofilních molekul do buňky. Tato skutečnost a obsah mykolových kyselin v buněčné stěně jim dodává odolnost vůči vlivům vnějšího prostředí, například sníženému obsahu kyslíku či kyselému prostředí (Meijer et al. 2004).

Patogenita

Některé druhy patřící do rodu *Rhodococcus* jsou původci onemocnění a to nejen u člověka, ale i u zvířat (Bell et al. 1998). Gundelly et al. (2014) uvádí, že *Rhodococcus equi*, dříve označován jako *Corynebacterium equi*, je původcem pneumonie u hřibů a prasat. Se zvyšováním počtu HIV pozitivních pacientů v posledních letech se rozšířil i jako patogen u člověka, kde bývá častý zvláště u pacientů užívajících imunosupresiva nebo pacientů s lymfomem, leukémií a jinými onemocněními, při kterých dochází k poškození buněk zajišťujících imunitu (Winn et al. 2006). Tito pacienti jsou obecně velmi náchylní a jakákoliv infekce je pro ně mnohdy až životně nebezpečná. Objevují se u nich infekce plic, byl však zaznamenán i případ perikarditidy (Gundelly et al. 2014) a granulomatózních lézí (Prescott 1991). Léčba *R. equi* bývá zdlouhavá a běžné jsou i relapsy (Weinstock et al. 2002). Bylo prokázáno, že infekce se může přenášet kontaktem s kontaminovanými výkaly či půdou (Prescott 1991).

Při léčbě je problémem poměrně vysoká odolnost toho druhu k současně používaným antibiotikům. Množství léků, které lze použít, je navíc sníženo z důvodu intracelulární lokalizace bakterie uvnitř makrofágů. Budou tedy potřeba nová účinnější léčiva. Aktuální studie ukazuje využití koňského antimikrobiálního peptidu eCATH1, který efektivně snižuje počet intracelulárních bakterií v makrofázích (Schlüsselhuber et al. 2013).

Dalšími lidskými patogeny jsou druhy *R. erythropolis*, *R. rhodnii* a *R. rhodochrous*, který se ve vzorcích vyskytuje nejméně (Winn et al. 2006). V neposlední řadě tento rod zahrnuje druhy, které jsou patogenní pro rostliny (Stes et al. 2013).

Metabolismus

Mnohé druhy rodu *Rhodococcus* dokáží degradovat řadu látek znečišťujících životní prostředí a transformují nebo syntetizují sloučeniny s možným dalším využitím. Uplatnění tak nacházejí v oblasti životního prostředí, farmaceutických, chemických nebo energetických odvětvích. V průmyslu je pak lze využít jako biokatalyzátory pro jejich výjimečnou schopnost degradovat hydrofobní přírodní látky a xenobiotika včetně polychlorovaných bifenyly (van der Geize et al. 2004). Podle Fernandes et al. (2003) jsou též vhodnými kandidáty pro průmyslovou výrobu bioaktivních steroidních sloučenin, které lze využít ve farmaceutickém průmyslu. Mohou se použít jako katalyzátory při výrobě fosilních paliv a akrylamidů (McLeod et al. 2006).

Druh *Rhodococcus erythropolis* byl nedávno navržen jako biologický ochranný prostředek pro ochranu rostlin před infekcí způsobenou bakteriemi z rodu *Pectobacterium*. Bylo totiž zjištěno, že dokáže degradovat molekuly zodpovědné za mezibuněčnou komunikaci mezi zástupci rodu *Pectobacterium* a zabraňuje tak napadení tzv. měkkou bakteriální hnilobou (Barbey et al. 2013).

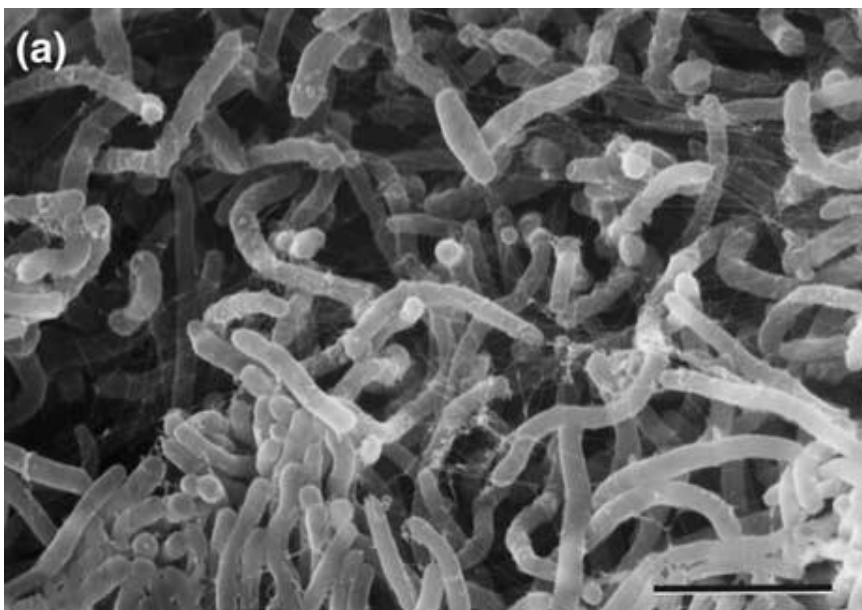
Kitagawa & Tamura (2008) uvádějí, že jsou zástupci druhu *R. erythropolis* též producenti antibiotik. Podle jejich antibiotického spektra a růstových charakteristik byli rozděleni do tří skupin, ve kterých kmeny navzájem neinhibovaly vlastní růst. Každá z těchto skupin vytvářela jiný druh antibiotik a vykazovala aktivitu proti odlišným druhům bakterií.

Nedávno byli izolováni noví zástupci se schopností degradovat cholesterol, testosteron, progesteron a další steroidní látky. Následné analýzy jejich genomu naznačují, že se pravděpodobně jedná o zástupce rodu *Rhodococcus*, konkrétně *Rhodococcus ruber* a *Rhodococcus aetherivorans* (Fernández de las Heras et al. 2009).

V literatuře se neobjevuje příliš mnoho zmínek o schopnosti rodu *Rhodococcus* degradovat celulózu ani jiné polymery. Hetzler et al. (2013) to potvrdil ve své studii, kdy *R. opacus* musel projít rekombinantními změnami, aby celulózu rozkládal. Tuto schopnost může získat zřejmě dodatečně i pomocí laterálního genového přenosu. Na druhé straně bylo potvrzeno, že tento rod degraduje nejrůznější alifatické a aromatické uhlovodíky (halogenované a N-substituované), heterocyklické a polycyklické aromatické sloučeniny (Larkin et al. 2005). Příkladem je jejich růst na o-xylenu, benzenu, toluenu, ethylebenzenu, isopropylbenzenu a dalších sloučeninách (Dockyu et al. 2002). Členové rodu *Rhodococcus* mají též schopnost degradovat fenol, a proto se Paisio et al. (2012) domnívá, že tento organismus by mohl být vhodným mikroorganismem bioremediace odpadních vod

obsahujících fenol. Podle Aislabie & Lloyd-Jones (1995) je tento rod také schopen degradovat pesticidy.

Druhy *Rhodococcus equi* a *Rhodococcus erythropolis* se používají k produkci extracelulární cholesterol-oxigenázy, která má široké využití v medicíně, zemědělství i farmaceutickém průmyslu. Tento enzym produkují též zástupci rodů *Arthrobacter* a *Streptomyces* (Lashkarian et al. 2010).



Obr. 3: *R. opacus* kultivovaný na glukonátu (úsečka 5 μ m, upraveno podle Alvarez et al. 2004).

1.3 Čeleď *Streptomycetaceae*

Taxonomické zařazení: doména Bacteria, kmen Actinobacteria, třída Actinobacteria.

Zahrnuje rody: *Streptomyces*, *Kitasatospora* a *Streptacidiphilus*.

Čeleď *Streptomycetaceae* byla vyčleněna v roce 1943 (Waksman & Henrici 1943). Původně zahrnovala jen rod *Streptomyces*, poté byl roku 1997 přidán rod *Kitasatospora* (Zhang et al. 1997) a v roce 2003 do ní byl přiřazen rod *Streptacidiphilus* (Kim et al. 2003).

Členové čeledě *Streptomycetaceae* rostou při různých hodnotách pH v rozmezí od 3,5 do 11,5 (Dworkin et al. 2006). Jsou to aerobní, gram-pozitivní Aktinomycety, které tvoří značně rozvětvené pseudomycelium. Vlákna mycelia tvoří řetízky složené ze tří a více spor.

Produkují mnoho pigmentů zodpovědných za barvu substrátu a vláken mycelia (Dworkin et al. 2006). Jsou to chemoorganotrofní organismy přizpůsobivé široké škále podmínek a prostředí. Degradují polymery a jiné, člověkem užívané, materiály včetně pryže a plastů (Lodders et al. 2007). Zástupci všech tří výše uvedených rodů jsou široce rozšířeni v půdě. Některé druhy mohou být také patogeny jak pro rostliny, tak pro živočichy i člověka (Dworkin et al. 2006). Patogenních druhů je však poměrně málo (Lodders et al. 2007). Naopak Schrempf (2008) ve své studii uvádí, že rody čeledě *Streptomycetaceae* mohou být použity k léčbě onemocnění způsobených patogenními mikroorganismy, parazity nebo proliferací nádorových buněk.

Na rozdíl od většiny bakterií jsou zástupci patřící do této čeledě charakteristické velkou lineární genomovou DNA, která může být doprovázena kruhovými nebo lineárními plasmidy (Schrempf 2008). Genom těchto bakterií patří k vůbec největším z prokaryotních mikroorganismů. Úplný genom byl sekvenován u *Streptomyces coelicolor* již v roce 2002 a bylo zjištěno, že obsahuje 7 825 genů (Bentley et al. 2002). Členové čeledě *Streptomycetaceae* mají velmi komplexní, ale dobře prostudovaný vývojový cyklus, a proto se také druh *S. coelicolor* používá jako modelový organismus pro různé typy studií. Jelikož mají zástupci tohoto rodu velký potenciál v biotechnologiích, při objevování nových bioaktivních látek byly za tímto účelem sekvenovány geomy několika druhů (konkrétně *S. avermitilis*, *S. bingchengensis*, *S. coelicolor*, *S. flavogriseus*, *S. griseus*, and *S. scabiei*) a sekvenování mnoha druhů stále probíhá. Tato metoda poskytuje také cenný zdroj pro identifikaci charakteristických molekulárních rysů, které jsou specifické pro řád *Streptomycetales* a poskytují informace o jeho evolučním vztahu k ostatním řádům Aktinobakterií (Gao et al. 2012).

1.3.1 Rod *Streptomyces*

Základní charakteristika a výskyt

Jak již bylo zmíněno, druhy patřící do rodu *Streptomyces*, jsou gram-pozitivní bakterie, které se vyskytují převážně v půdě či hnijící vegetaci, kde jsou významní rozkladači. Svou strukturou se podobají houbám. Jejich vegetativní hyfy tvoří značně rozvětvené mycelium, které v dospělosti vytváří řetězce tří až mnoha spór. Tyto spóry jsou nepohyblivé. Při kultivaci na komplexním médiu tvoří oddělené kolonie, zpočátku s hladkým povrchem, které se později vyvinou v mycelium. Kolonie jsou mnohobuněčné, diferencované

organismy s poměrně složitým životním cyklem. Stejně jako většina Aktinobakterií se i druhy rodu *Streptomyces* vyznačují vysokým obsahem GC v genomu. Optimální teplota pro většinu z nich je 25-35°C, optimální pH pak 6,5-8,0 (Dworkin et al. 2006).

Typickým představitelem čeledě *Streptomycetaceae* je *Streptomyces coelicolor*. Jak bylo zmíněno výše, u tohoto druhu byl sekvenován celý jeho lineární genom o velikosti 8 667 507 párů bazí, jenž obsahuje největší počet genů, který byl doposud u bakterií zjištěn. Ve své studii Bentley et al. (2002) uvádí, že v genech se objevuje více než 20 klastrů, kódujících již známé nebo potencionální sekundární metabolity. Dále obsahuje regulační geny a to především ty, které jsou pravděpodobně zapojeny do reakcí na vnější podněty a stres, ale také mnoho sad duplicitních genů působících v různých fázích klonálního vývoje, což je pro bakterie unikátní. Tento druh produkuje řadu různých antibiotik, například novobiocin, clorobiocin a coumermycin A 1 (Wolpert et al. 2007).

Patogenita

Bakterie rodu *Rhodococcus* jsou saprofyté, některé druhy však získaly patogenní aktivitu a vzhledem k tomu, že jsou to půdní bakterie, jsou to převážně fytopatogeny, které napadají hlavně kořenovou zeleninu (např. brambory, řepa, mrkev). Nejčastěji je nalezneme na bramborách, kde *Streptomyces scabies* vytváří takzvanou strupovitost brambor, která je způsobena specifickými fytopatogenními látkami známými jako thaxtominy (Lerat et al. 2009). Většina izolovaných druhů *S. scabies* nedegradovala xanthin a byla citlivá na penicilin a streptomycin (Lambert et al. 1989).

Jako patogen u lidí byl izolován z klinických vzorků pacientů s mycetomem druh *Streptomyces sudanensis* (Quintana et al. 2008) a *Streptomyces somaliensis*, který způsobuje vážné infekce hlubokých tkání a kostí (Kirby et al. 2012).

Metabolismus

Druhy rodu *Streptomyces* jsou schopni redukce dusičnanů na dusitany. Většina degraduje polymerní substráty jako jsou kasein, želatina, hypoxanthin, škrob a také celulózu. Probíhá v nich glykolýza a pentózofosfátový cyklus. Kromě toho využívají jako zdroj uhlíku pro energii a růst celou řadu organických sloučenin včetně cukrů, alkoholů, aminokyselin a aromatických sloučenin (Dworkin et al. 2006).

Nejvýznamější vlastností rodu *Streptomyces* je schopnost produkovat bioaktivní sekundárních metabolity - antimykotika, antivirotika, antihypertenziva, imunosupresiva a zejména antibiotika (Procópio et al. 2012). Druhy patřící do tohoto rodu jsou v současné době producenti skoro 2/3 všech známých antibiotik, ale i dalších biologicky významných látek včetně antiparazitických čindel, herbicidů a jiných průmyslově využitelných sloučenin (Běhal 2000). Co se týče produkce antibiotik, je rod *Streptomyces* v mikrobiálním světě neaktivnější. Podle Watve et al. (2001) jsou dosud objevená antibiotika zatím jen zlomkem skutečného množství, které tento rod produkuje. Významná je také produkce široké škály různých pigmentů, které jsou zodpovědné za zbarvení vegetativního mycelia. Produkce pigmentů do značné míry závisí na složení média a kultivačních podmínkách.

Druh *Streptomyces verticillus* produkuje antibiotikum bleomycin, který se používá jako cytostatikum k léčbě mnoha zhoubných nádorů jako jsou nádory zárodečných buněk, lymfomy, nádory hlavy a krku či Kaposiho sarkom. Mechanismem účinku je narušení dvoušroubovice DNA produkcí volných radikálů. Bleomycin však může být inaktivován bleomycin-hydrolázou, která se vyskytuje v normálních i nádorových buňkách. (Azambuja et al. 2005). Dalším producentem sekundárních metabolitů je *Streptomyces avermitilis*. Produkuje avermectinu, což je velmi rozšířená antiparazitická látka, která se používá u dobytka k jeho odčervení nebo zbavení parazitického hmyzu. Člověka pak chrání před říční slepotou, což je parazitické onemocnění (Demain 1999).

Zástupci rodu *Streptomyces* produkují velké množství extracelulárních enzymů jakožto součást jejich saprofytického způsobu života. Jejich schopnost syntetizovat enzymy jako produkty primárního metabolismu může vést k produkci mnoha průmyslově významných proteinů. Podle Gilbert et al. (1995) by mohl být tento druh použit k produkci proteinů ve velkém měřítku. V současnosti se takto často využívá druh *Streptomyces lividans* (Palacín et al. 2003). Druh *Streptomyces griseus* vytváří také mnoho užitečných sekundárních metabolitů například inhibitory enzymů a také 70% z přirozeně se vyskytujících antibiotik. Hlavním z nich je streptomycin (Lezhava et al. 1995). Zástupci *S. griseus* izolované z domácího prachu synteizují valinomycin, který snižuje aktivitu nukleových kyselin buněk a ve vyšších koncentracích ($>100 \text{ ng/ml}^{-1}$) způsobuje až jejich apoptózu, která nastane do dvou dnů. Podle Paananen et al. (2000) může valinomycin velmi ovlivnit imunitní systém již v malých dávkách tím, že inhibuje cytotoxicitu buněk zajišťujících imunitu a snižuje u nich produkci cytokínů.

Tento rod degraduje kromě celulózy (Bernat & Długoński 2009) také lignin (Crawford et al. 1983; Deobald & Crawford 1987) a některé polycyklické aromatické

uhlovodíky jako jsou naftalen nebo fenantren (Balachandran et al. 2012). K degradaci využívají nejrůznější enzymy například lipázy a esterázy (Soror et al. 2009), endoglukanázy (Noda et al. 2013), endoxylanázy, peroxidázy (Tuncer et al. 2004) a byla také zjištěna produkce fibrinolytického enzymu, který patří do serinových proteáz. Tento enzym se využívá při léčbě trombotických onemocnění (Ju et al. 2012).

Podle Fadullon et al. (1998) by mohl být rod *Streptomyces* též využit při degradaci pesticidů v kontaminované půdě.



Obr. 4: Morfologie vzdušného mycelia některých druhů *Streptomyces* (upraveno podle Dworkin et.al 2006).

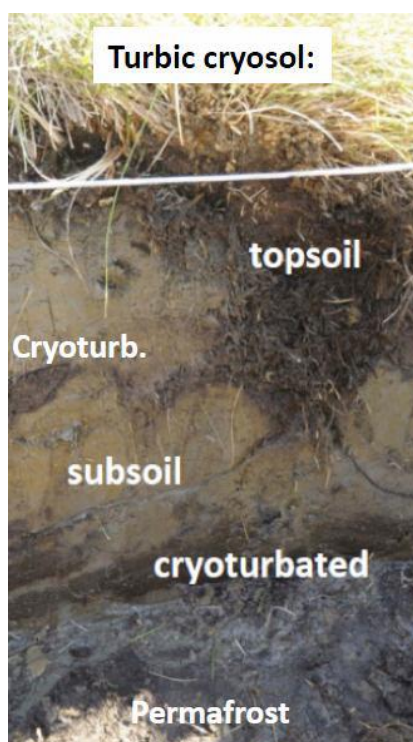
1.4 Aktinobakterie a Arktida

Arktida je oblast za severním polárním kruhem, kde teploty ani v létě nepřesahují 10°C. Skládá se z obrovského, ledem pokrytého Severního ledového oceánu a permafrostu.

Arktida je typická pro dlouhé, velmi studené zimy (teplota kolem - 40°C) a krátká chladná léta (kolem 0°C Fitzpatrick 1997). Půdy arktické tundry jsou trvale zmrzlé (od hloubky 25-90 cm). V létě, kdy se denní teploty dostávají k nule, může horní vrstva permafrostu tát, spodní vrstvy zmrzlé půdy jsou ale pro vodu nepropustné. Voda zůstává na povrchu, který se tak stává rozbředlý a zamokřený. Proto bývá tundra během teplých měsíců pokrytá močály, jezery a bažinami. Opakovaným působením mrazu a tání vznikají v půdě

díky nestejným fyzikálním vlastnostem odlišné vrstvy. Na povrchu se tvoří hrubší horninové úlomky a prostor mezi nimi je vyplněn jemnozrnnou zeminou.

Zjednodušeně se dají půdní horizonty rozdělit do čtyř skupin (Obr. 5) na svrchní vrstvu (topsoil), která je nejbohatší na organickou hmotu, spodní vrstvu (subsoil), kde je podíl organické hmoty nízký. Dále pak kryoturbace, které vznikají již zmíněným opakovaným mrznutím a táním a následným ponořováním vrchních organických vrstev hlouběji do půdního profilu (Bockheim & Tarnocai 1998). Zvyšují tak heterogenitu arktických půd a způsobují nerovnoměrné rozložení organické hmoty v půdním profilu. O kryoturbačních, jejich mikrobiálním společenstvu a jeho aktivitě se v současné době ví velmi málo. Nejnovější studie ukazují, že v kryoturbačních je odlišné mikrobiální společenstvo oproti vrchním organickým vrstvám (Gittel et al. 2014) a také transformace organické hmoty je v těchto horizontech silně potlačena (Wild et al. 2013; Shnecker et al. 2014). Poslední vrstvou je trvale zmrzlá půda permafrost.



Obr. 5: Půdní profil aktivní vrstvy permafrostu, kryoturpace jsou tmavé oblasti organické hmoty v půdním profilu (© Tim Urich).

2 Metody

2.1 Odběrová oblast

Vzorky půd byly odebrány v srpnu roku 2010 v severovýchodní Sibiři podél řeky Kolyma (Cherskii, Republic of Sakha, Rusko). Byla vybrána tři místa s ohledem na vegetaci, která dominovala. Oblasti byly klasifikovány jako travní tundra (grass tundra), keříčková tundra (tussock tundra) a lišejníková tundra (moss tundra). Vzorky byly odebrány z třech půdních profilů pro každou oblast s daným typem vegetace. V každém profilu se odebraly nejsvrchnější aktivní vrstvy (topsoil), minerální horizonty (subsoil), kryoturbované horizonty a permafrost.

2.2 Zpracování vzorků a vyhodnocení dat

Z odebraných půd byly před homogenizací každého vzorku odstraněny živé kořeny a poté se vzorky udržovaly v chladu až do dalšího zpracování. Následná extrakce nukleových kyselin byla prováděna podle Ulrich et al. (2008) a poté čištěna pomocí CleanAll DNA/RNA Clean-up and Concentration Micro Kit (Norgen Biotek Corp., Ontario, Canada). Celková DNA byla kvantifikována pomocí SybrGreen (Leininger et al. 2006). Příprava vzorků pro sekvenace proběhla podle Caporaso et al. (2011). Bioinformatické zpracování (tj. kontrola kvality získaných sekvencí, detekce dimerních sekvencí, taxonomické zařazení atd.) bylo provedeno pomocí bioinformatického balíčku Qiime 1.6.0 (Caporaso et al. 2011).

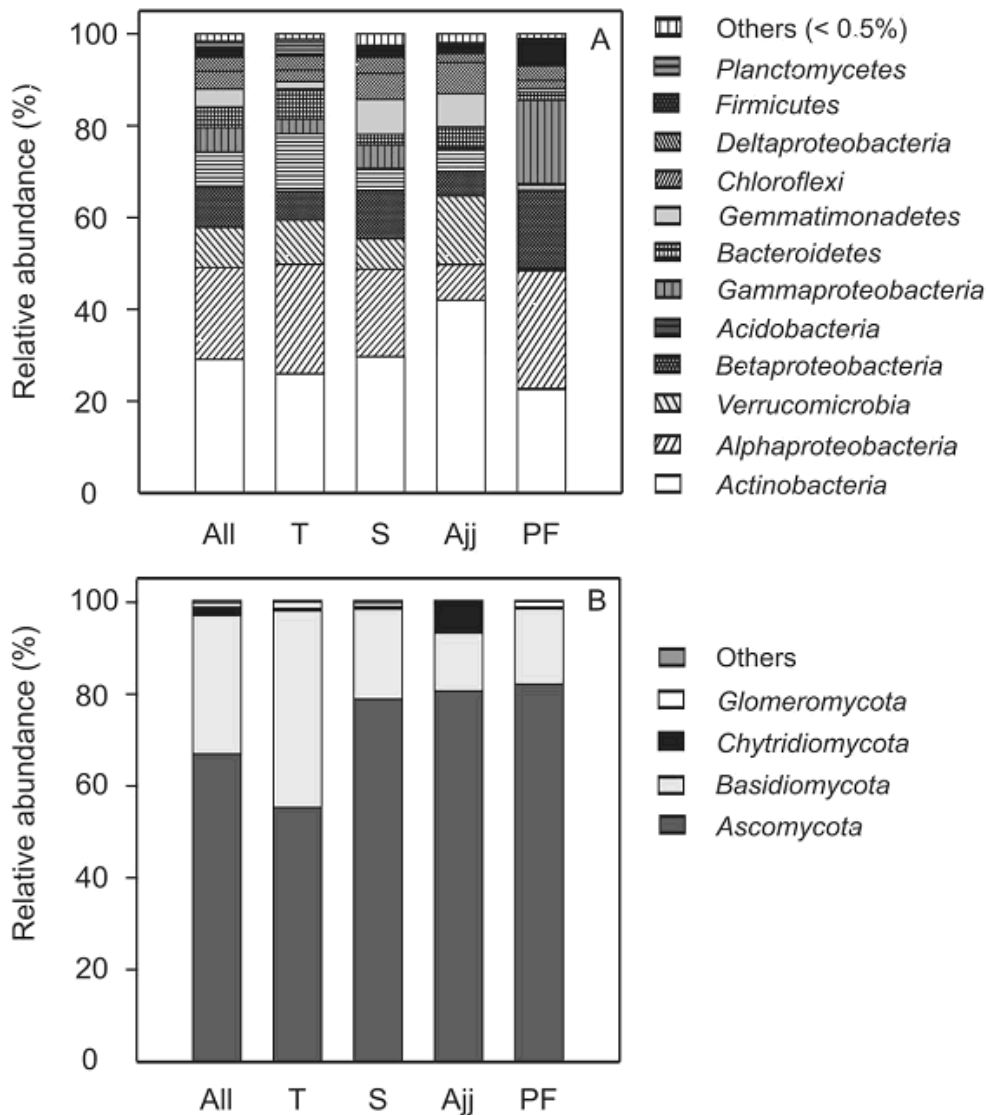
V rámci předložené bakalářské práce byly zpracovávány již získané informace o taxonomickém složení bakteriálního společenstva s přiřazeným počtem sekvencí k jednotlivým vzorkům půdy (tzv. OTU tabulka). Z poskytnuté OTU tabulky byla použita data o vybraných čeledích a rodech. Množství sekvenovaných vzorků pro jednotlivé rody bylo následně zrelativizováno vzhledem k počtu všech získaných sekvencí pro jednotlivé půdní vrstvy. Tím bylo získáno jejich relativní zastoupení v půdních horizontech a vybraných oblastech Arktidy. Pro přehlednost byly jako jednotky stanoveny promile. Následně byly sestaveny grafy se směrodatnými odchylkami. Vyhodnocení metabolického potenciálu bylo založeno na srovnání již získaných hodnot relativního zastoupení vybraných rodů s jejich schopností degradovat buď celulózu nebo aromatické sloučeniny. Zpracování dat (výpočet průměrných hodnot a směrodatných odchylek) probíhalo v programu MS Excel 2003.

3 Výsledky a diskuze

Tato práce se zaměřuje na Aktinobakterie a jejich výskyt v arktické půdě. Aktinobakterie jsou početný kmen bakterií, které hrají významnou roli v rozkladu různých organických látek v půdě (celulózy, fenolytických látek, chitinu atd.). Jsou ale také významné díky svým schopnostem produkovat různé sekundární metabolity, od antimikrobiálních látek po různé extracelulární enzymy. Zapojují se do koloběhu uhlíku a nejnovější studie ukazují, že v Arktické půdě jsou velmi rozšířené (Obr. 6). Z tohoto důvodu se na ně tato práce zaměřuje podrobněji. Cílem předchozích kapitol bylo shrnutí základních informací o tomto kmenu a byly vybrány tři čeledě (*Micrococcaceae*, *Nocardiaceae*, *Streptomycetaceae*), které byly popsány podrobněji. Dalším cílem této práce bylo zhodnotit zastoupení vybraných čeledí ve vzorcích arktické půdy. Celkem bylo ke kmenu Aktinobakterie přiřazeno 220 387 sekvencí, nejvíce ve svrchní vrstvě (146 228) a nejméně v permafrostu (3 602 Tab. II).

Tabulka II: Počty sekvencí přiřazených ke kmenu Aktinobakterií a vybraným rodům v jednotlivých vrstvách arktických půd.

	Aktinobakterie	Rod <i>Arthrobacter</i>	Rod <i>Rhodococcus</i>	Rod <i>Streptomyces</i>
Topsoil	146 228	836	61	2154
Subsoil	9 306	14	38	38
Cryoturbation	61 251	72	48	232
Permafrost	3 602	3	58	5
<i>Součet</i>	<i>220 387</i>	<i>925</i>	<i>205</i>	<i>2429</i>



Obr. 6: Relativní zastoupení hlavních bakterálních kmenů v půdě sibiřské Arktidy. All – průměr ze všech půdních horizontů, T – svrchní organická vrstva, S – spodní minerální vrstva, Ajj – kryoturbovaná organická vrstva, PF – permafrost (převzato z Gittel et al. 2014).

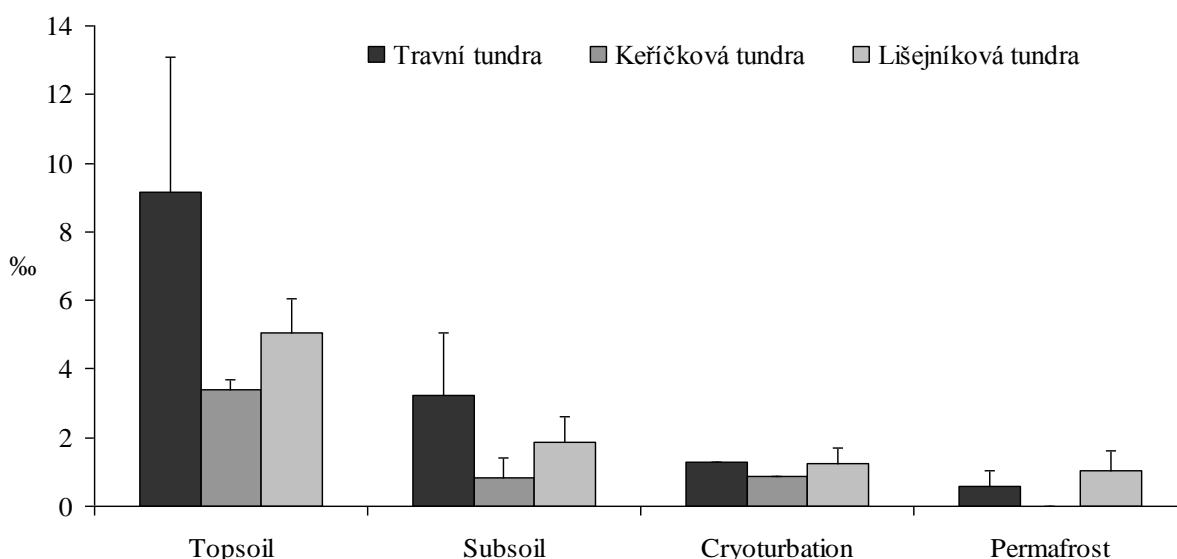
3.1 Výskyt rodu *Arthrobacter* v půdách sibiřské Arktidy

Z celkového počtu sekvencí taxonomicky zařazených do kmene *Actinobacteria* (220 387) bylo celkem 925 sekvencí taxonomicky přiřazeno k rodu *Arthrobacter* (Tab. II). Z toho 836 bylo v nejsvrchnější vrstvě půdy (topsoil), což činí v průměru 5,7‰ z celkového počtu sekvencí v tomto horizontu. Pokud porovnáme vrchní vrstvu z hlediska typu tundry (Lashinskyi, nepublikovaná data), nejvíce zástupců, 9,2‰, bylo nalezeno v oblasti travní

tundry (Obr. 7). V oblasti lišejníkové tundry bylo nalezeno 5,1‰ a v oblasti keříčkové tundry 3,4‰.

Ze vzorků vrstvy subsoil bylo identifikováno opět nejvíce zástupců rodu *Arthrobacter* v půdě oblasti travní tundry (3,2‰). V kryoturbacích bylo zastoupení tohoto rodu podobné ve všech oblastech. Pohybovalo se mezi 1,3-0,9‰. V permafrostu bylo obecně nalezeno nejméně zástupců rodu *Arthrobacter*. V permafrostu lišejníkové tundry bylo nalezeno 1,0‰ zástupců, v oblasti travní tundry 0,6‰ a ze vzorků permafrostu keříčkové tundry nebyly identifikovány dokonce žádní zástupci rodu *Arthrobacter*.

Je zajímavé, že získaná data ukazují na poměrně malé relativní zastoupení tohoto rodu v arktických půdách (4,1‰), ačkoliv literatura uvádí, že je to jeden z nejčastěji izolovaných rodů, který je schopen přežít i velmi nehostinné podmínky (Mongodin et al. 2006).



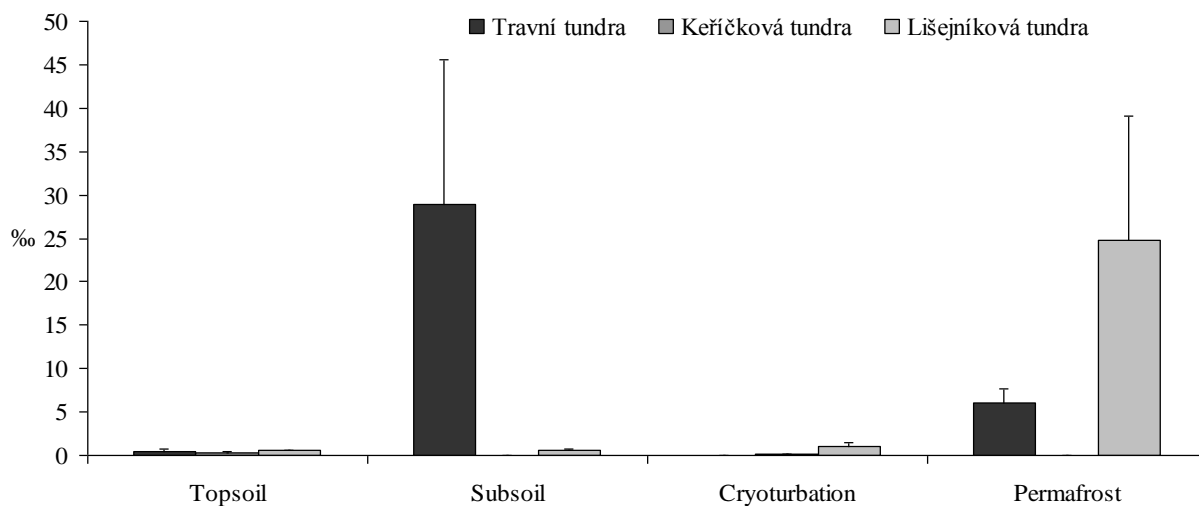
Obr. 7: Relativní zastoupení rodu *Arthrobacter* v jednotlivých vrstvách arktických půd a různých typech arktické tundry (podle Lashinskyi, nepublikováno).

3.2 Výskyt rodu *Rhodococcus* v půdách sibiřské Arktidy

Relativní zastoupení rodu *Rhodococcus* v arktických půdách bylo značně nevyrovnané. Členové tohoto rodu tvořili jen malou část z odebraných vzorků. Ze získaných sekvencí, které byly taxonomicky zařazeny do kmene Aktinobakterií (220 387), bylo do rodu *Rhodococcus* přiřazeno 205 sekvencí (Tab. II). Obecně byl tedy výskyt rodu *Rhodococcus*

malý, s ohledem na půdní vrstvy a konkrétní oblasti tundry (Lashinskyi, nepublikovaná data) tvořily výjimku vzorky odebrané z vrstvy subsoil oblasti travní tundry (Obr. 8). Zde bylo relativní zastoupení 28,9%. Dále pak vzorky permafrostu z oblasti lišejníkové tundry s relativním zastoupením 24,8% a 6‰ v permafrostu oblasti travní tundry. Ve vrstvě topsoil všech oblastí tundry nebylo zaznamenáno více než 0,5‰ sekvencí, jež by náležely do tohoto rodu. Relativní zastoupení v kryoturbacích ve všech oblastech činilo 0,8‰, přičemž z kryoturbací oblasti travní tundry nebyli sekvenováni žádní zástupci rodu *Rhodococcus*. Také vzorky půdy z permafrostu a vrstvy subsoil odebrané v oblasti keříčkové tundry neobsahovaly žádné zástupce tohoto rodu.

Jak je uvedeno výše, největší relativní zastoupení členů rodu *Rhodococcus* bylo zaznamenáno v subsoil a v permafrostu. Důvodem může být to, že někteří zástupci tohoto rodu mají silnou buněčnou stěnu, která navíc obsahuje mykologové kyseliny, což jim poskytuje větší odolnost proti vlivům vnějšího prostředí. Pravděpodobně z tohoto důvodu se zástupci rodu *Rhodococcus* nevyskytovali příliš v topsoil odkud mohli být vykompetováni jinými duhy, ale naopak v permafrostu a částečně i v kryoturbacích, kde se pro tyto rody zřejmě otevřela nová nika.



Obr. 8: Relativní zastoupení rodu *Rhodococcus* v jednotlivých vrstvách arktických půd a různých typech arktické tundry (podle Lashinskyi, nepublikováno).

3.3 Výskyt rodu *Streptomyces* v půdách sibiřské Arktidy

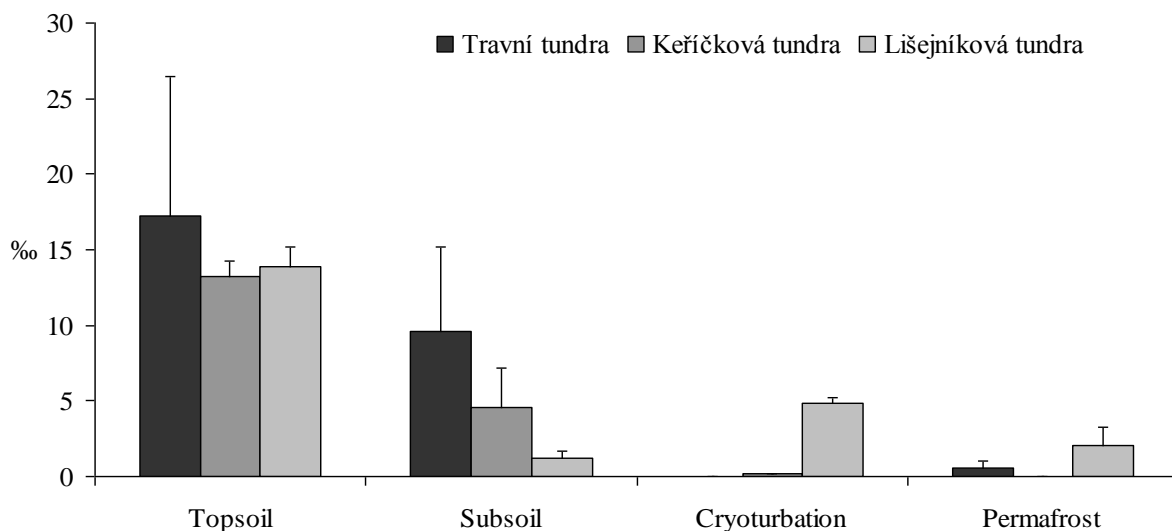
Průměrné relativní zastoupení rodu *Streptomyces* v arktických půdách bylo ze čtyř vybraných rodů nejvyšší (11,0%). Podobně jako u rodu *Arthrobacter* byl i u tohoto rodu nejvyšší výskyt v nejsvrchnější vrstvě půdy (topsoil). Z celkového množství 146 228 sekvencí, které byly z této vrstvy identifikovány a přiřazeny do kmene Aktinobakterií, jich bylo 2 154 (14,7%) taxonomicky přiřazeno k rodu *Streptomyces* (obr. 9). Při porovnání relativního zastoupení v této vrstvě s ohledem na konkrétní oblasti tundry bylo největší zastoupení v půdě travní tundry (17,2%), poté lišejníkové tundry (13,9%) a v oblasti keříčkové tundry byl relativní výskyt 13,2%.

Při porovnání výskytu tohoto rodu v dalších vrstvách půdy byl vyšší výskyt zaznamenán také ve vzorcích vrstvy subsoil odebraných z oblasti travní tundry. Z těchto vzorků bylo identifikováno 9,6% sekvencí, které byly přiřazeny k rodu *Streptomyces*. Nejméně zástupců bylo v této vrstvě zaznamenáno v oblasti lišejníkové tundry (1,2%).

Zastoupení v kryoturbacích a permafrostu bylo nejnižší, činilo 5,0% a 2,7%. Ze vzorků půd kryoturbací oblasti travní tundry a permafrostu oblasti keříčkové tundry nebyli sekvenováni žádní členové tohoto rodu.

Ze čtyř zkoumaných rodů (*Arthrobacter*, *Nocardia*, *Rhodococcus* a *Streptomyces*), které se v půdě vyskytovaly celkově v 16,2%, byl nejhojněji zastoupen rod *Streptomyces* (11,0%) a *Arthrobacter* (4,2%). U rodu *Streptomyces* to lze přisuzovat jeho schopnosti produkovat antimikrobiální látky a extracelulární enzymy, což mu zajišťuje výhodu jak ničit ostatní mikroorganismy v boji o živiny, tak i schopnost degradovat komplexní biopolymery. Jak je vidět na obrázku 9, největší výskyt byl zaznamenán v nejsvrchnější vrstvě půdy, která je i v této oblasti stále nejbohatší na živiny a je proto pro tento typ bakterií příznivým prostředím. Lloyd (1969) ve své studii ukazuje na možnou korelaci jejich výskytu s vyšším množstvím organické hmoty, což se shoduje s jejich výraznějším výskytem ve svrchních vrstvách půdy v našich výsledcích.

Přestože průměrné relativní zastoupení tohoto rodu v kryoturbacích a v subsoil bylo skoro stejné (3,8% a 4,1%), jak ukazuje tabulka II počet zástupců rodu *Streptomyces* v kryoturbacích, které mají v porovnání podobné množství organického uhlíku jako vrchní vrstvy, byl v této vrstvě vyšší, než ve vrstvě subsoil. Mohlo by to zřejmě souviset s anaerobními podmínkami a kvalitou organické hmoty v těchto horizontech ale i s diametrálně odlišným složením bakteriálního a houbového společenstva (Gittel et al. 2014).



Obr. 9: Relativní zastoupení rodu *Streptomyces* v jednotlivých vrstvách arktických půd a různých typech arktické tundry (podle Lashinskyi, nepublikováno).

Zdaleka nejnižší bylo z vybraných rodů zastoupení rodu *Nocardia*. Byla identifikována jediná sekvence ze vzorků půdy oblasti lišejníkové tundry ve vrstvě s kryoturbacemi, což je pochopitelné, jelikož pro většinu druhů je ideální teplota kolem 37°C a proto se těmito bakteriím daří spíše jako lidským patogenům. Mnohé druhy také nebyly ještě identifikovány. Důvodem pro tak nízké zastoupení tohoto rodu proto může být také zvolený postup výběru operativních taxonomických jednotek, kdy se použila metoda tzv. „closed reference otu picking“, která na rozdíl od „open reference otu picking“ nedetekuje nové bakteriální druhy (OTU; Caporaso et al. 2011).

3.4 Shrnutí metabolického potenciálu vybraných čeledí

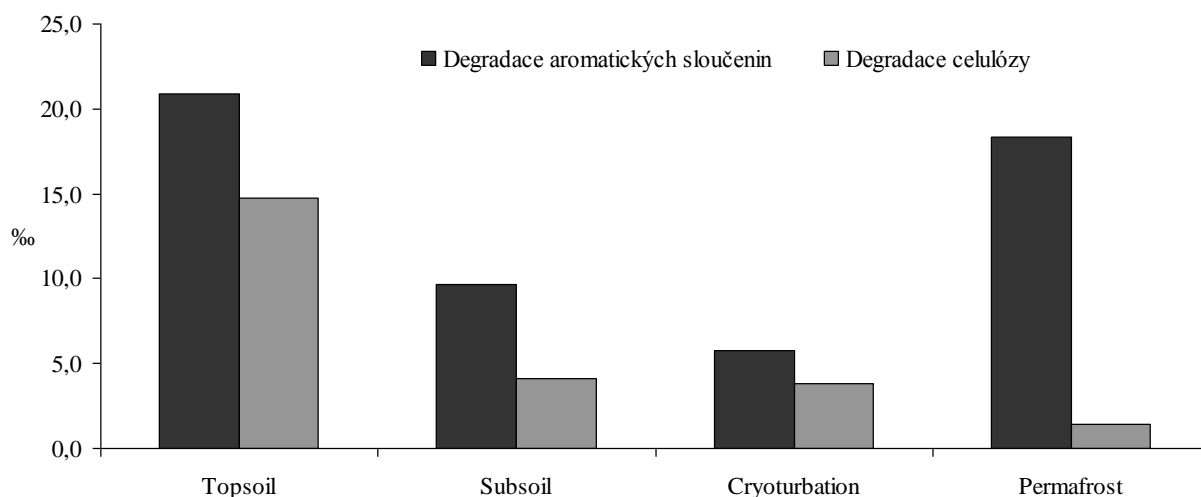
Posledním cílem této práce bylo zhodnotit metabolický potenciál jednotlivých bakterií v závislosti na jejich zastoupení v odebraných půdních vzorcích.

Z literatury víme, že z našich zkoumaných rodů pouze rod *Streptomyces* a druh *Nocardia cellulans*, jsou schopné degradovat celulózu. Vzhledem k minimálnímu zastoupení rodu *Nocardia* metabolický potenciál degradace celulózy víceméně reflektoval relativní zastoupení rodu *Streptomyces*. V předchozí kapitole bylo zjištěno, že tento rod se nejvíce vyskytoval v topsoil a nejméně v permafrostu. Z toho logicky vyplývá, že i nejvyšší potenciál

pro degradaci celulózy bude v této půdní vrstvě. Ve vrstvách subsoil a horizontu s kryoturbacemi je potenciál degradovat celulózu podobný a v permafrostu je již velmi nízký. Můžeme tedy říci, že schopnost rozkládat celulózu našich zájmových čeledí se soustřeďuje hlavně na nejsvrchnější vrstvu půdy.

Podobné výsledky byly zjištěny pro degradaci aromatických sloučenin, přestože tuto schopnost si během evoluce osvojily všechny vybrané rody bakterií (Tab. III). Největší potenciál pro degradaci aromatických sloučenin byl zaznamenán ve vrstvě topsoil (20,9%). Vzhledem k počtu zástupců s touto schopností, kteří byli nalezeni v kryoturbacích (353), by v této vrstvě mohl být degradační potenciál o něco větší než ve vrstvě subsoil (90) nebo permafrostu (66). Ve vyjádření se vztahem k celkovému výskytu bakterií v tomto půdním horizontu je to však pouhých 5,8%. Naopak v permafrostu je degradační potenciál pro aromatické sloučeniny vyšší (18,3%). Tento nárůst je způsoben vyšším výskytem rodu *Rhodococcus* v této vrstvě půdy vzhledem k ostatním Aktinobakteriím. Je tedy jasné, že největší potenciál pro degradaci aromatických sloučenin v arktických půdách je ve vrstvě topsoil a v permafrostu.

Je nutné uvést, že získané výsledky pro jednotlivé rody a jejich schopnosti degradovat celulózu či aromatické sloučeniny, nemohou být vztahovány na kmen Aktinobakterie jako celek. Tato práce se zaměřuje na hodnocení výskytu a vybraných vlastností pouze u určitých, které tvoří jen malou část z tak početného kmene.



Obr. 10: Metabolický potenciál rozkladu aromatických sloučenin a celulózy u vybraných rodů *Arthrobacter*, *Nocardia*, *Rhodococcus* a *Streptomyces* v půdních vrstvách sibiřské Arktidy vzhledem k celkovému zastoupení Aktinobakterií.

Tabulka III: Vybrané Aktinobakteriální čeledě a rody a jejich metabolické schopnosti.

Čeď	Rod	Produkce antibiotik	Degradace celulózy	Degradace aromatických sloučenin	Produkce extracelulárních enzymů	Patogenita	Literatura
<i>Micrococcaceae</i>	<i>Arthrobacter</i>	+	-	+	+	+/-	Wietz et al. 2012; Westerberg et al. 2000; Smacchi et al. 2000; Funke et al. 1996; Hayatsu et al. 1999
<i>Nocardiaceae</i>	<i>Nocardia</i>	+	+/-	+	+	+	Palomo et al. 2013; Metcalfe & Brown 1957; Eggeling & Sahn 1980; Zlotnik et al. 1984; Wilson 2012
	<i>Rhodococcus</i>	+	-	+	+/-	+	Van der Geize et al. 2004; Hetzler et al. 2013; Kitagawa & Tamura 2008 Lashkarian et al. 2010; Gundelly et al. 2014; Aislabie & Lloyd-Jones 1995
<i>Streptomycetaceae</i>	<i>Streptomyces</i>	+	+	+	+	+	Běhal 2000; Bernat & Długoński 2009; Balachandran et al. 2012 Gilbert et al. 1995; Quintana et al. 2008; Fadullon et al. 1998

4 Závěr

Cílem této práce bylo v první řadě shrnout dostupné informace o Aktinobakteriích a vybraných čeledích (*Micrococcaceae*, *Nocardiaceae* a *Streptomyetaceae*) z hlediska jejich fyziologie a ekologie. Všechny vybrané čeledě jsou bakterie, které se vyskytují primárně v půdě. Některé jejich rody mohou být též lidské patogeny nebo fytopatogeny. Tyto bakterie se vyznačují schopností degradovat širokou škálu sloučenin a produkují různé sekundární metabolity. Najdeme zde i druhy, které mohou být využity v procesu bioremediace.

Další cíl se zaměřoval na stanovení relativního zastoupení vybraných čeledí v půdách sibiřské Arktidy. Z vybraných čeledí byl zjištěn největší výskyt rodu *Streptomyces* (11,0%) a nejnižší u rodu *Nocardia*. S ohledem na půdní vrstvy se zdá, že pro Aktinobakterie je nejvhodnějším stanovištěm v půdách sibiřské Arktidy svrchní organická vrstva (topsoil), protože bakterie zde mají většinu potřebných živin. Nízké zastoupení vybraných rodů v nejhlubších vrstvách půdy naznačuje, že tento kmen zahrnuje i velmi odolné zástupce, kteří jsou schopni přežít i tak náročné podmínky, jako je zmrzlá arktická půda.

Posledním cílem této práce proto bylo zhodnotit metabolický potenciál vybraných čeledí a jejich rodů. Metabolický potenciál pro degradaci celulózy byl pro vybrané čeledě 11,0% a soustředoval se převážně na vrstvu topsoil. Potenciál pro degradaci aromatických sloučenin byl vyšší (16,2%), jelikož tato schopnost byla zjištěna u všech vybraných rodů. Schopnost rozkládat aromatické látky se opět soustředovala nejvíce na vrstvu topsoil, ale též byla poměrně vysoká v kryoturbacích a v permafrostu dokonce srovnatelná se svrchním horizontem.

5 Seznam použité literatury

- AISLABIE J, LLOYD-JONES G (1995) A review of bacterial-degradation of pesticides. Australian Journal of Soil Research 33(6): 925-942.
- ALVAREZ HM, SILVA RA, CESARI AC et al. (2004) Physiological and morphological responses of the soil bacterium *Rhodococcus opacus* strain PD630 to water stress. FEMS Microbiology Ecology 50(2):75-86.
- AZAMBUJA E, FLECK JF, BATISTA RG, MENNA BARRETO SS (2005) Bleomycin lung toxicity: who are the patients with increased risk? Pulmonary Pharmacology & Therapeutics 18: 363–366.
- BALACHANDRAN C, DURAI PANDIYAN V, BALAKRISHNA K, IGNACIMUTHU S (2012) Petroleum and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation and naphthalene metabolism in *Streptomyces* sp. (ERI-CPDA-1) isolated from oil contaminated soil. Bioresource technology 112: 83-90.
- BARBEY C, CREPIN A, BERGEAU D et al. (2013) In Planta Biocontrol of *Pectobacterium atrosepticum* by *Rhodococcus erythropolis* Involves Silencing of Pathogen Communication by the Rhodococcal Gamma-Lactone Catabolic Pathway. PLoS ONE 8: e66642.
- BASSIRI-JAHROMI S, DOOSTKAM A (2011) *Actinomyces* and *Nocardia* Infections in Chronic Granulomatous Disease. Journal of Global Infectious Disease 3(4): 348–352.
- BEAMAN BL, BEAMAN L (1994) *Nocardia* species: host-parasite relationships. Clinical Microbiology Reviews 7(2): 213–264.
- BELL KS, PHILP JC, AW DW, CHRISTOFI N (1998) The genus *Rhodococcus*. Journal of Applied Microbiology 85(2): 195–210.
- BENTLEY SD, CHATER KF, CERDEÑO-TÁRRAGA AM et al. (2002) Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). Nature 417: 141-7.
- BERNAT P, DŁUGOŃSKI J (2009) Isolation of *Streptomyces* sp. strain capable of butyltin compounds degradation with high efficiency. Journal of Hazardous Materials 171: 660-4.
- BEVERIDGE TJ (1990) Mechanism of gram variability in select bacteria. Journal of Bacteriology 172: 1609-1620.

- BĚHAL V (2000) Bioactive Products from Streptomyces. Advances in Applied Microbiology 47: 113-156.
- BLOES-BRETON S, BERGERE JL (1997) Volatile sulfur compounds produced by *Micrococcaceae* and coryneform bacteria isolated from cheeses. LAIT 77: 543-559.
- BOCKHEIM JG, TARNOCAI C (1998) Recognition of cryoturbation for classifying permafrostaffected soils. Geoderma 81: 281-293.
- BOYLEN CW, MULKS MH (1978) The survival of coryneform bacteria during periods of prolonged nutrient starvation. Journal of General Microbiology 105: 323-334.
- BRANSON D (1968) Identification of Micrococcaceae in Clinical Bakteriologie. Applied Microbiology 16(6): 906-911.
- CAPORASO JG, LAUBER CL, WALTERS WA, BERG-615 LYONS D, LOZUPONE CA, TURNBAUGH PJ et al. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 108: 4516-4522.
- CRAWFORD DL, POMETTO III AL, CRAWFORD RL (1983) Lignin Degradation by *Streptomyces viridosporus*: Isolation and Characterization of a New Polymeric Lignin Degradation Intermediate. Applied and Environmental Microbiology 45(3): 898-904.
- DEMAIN A (1999) Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. Applied Microbiology and Biotechnology 52: 455-463.
- DEOBALD LA, CRAWFORD DL (1987) Activities of cellulase and other extracellular enzymes during lignin solubilization by *Streptomyces viridosporus*. Applied Microbiology and Biotechnology 26(2): 158-163.
- DWORKIN M (Editor-in-Chief), FALKOW S, ROSENBERG E, SCHLEIFER KH, STACKEBRANDT E (Editors) (2006) The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bakteria, Third Edition. Springer.
- ESCHBACH M, MÖBITZ H, ROMPF A, JAHN D (2003) Members of the genus *Arthrobacter* grow anaerobically using nitrate ammonification and fermentative processes: anaerobic adaptation of aerobic bacteria abundant in soil. FEMS Microbiology Letters 223(2): 227-30.
- FADULLON FS, KARNIS JS, TORRENTS A (1998) Degradation of atrazine in soil by *Streptomyces*. Journal of Environmental Science and Health, part B 33(1): 37-49.

- FERNANDES P, CRUZ A, ANGELOVA B, PINHEIRO HM, CABRAL JMS (2003) Microbial conversion of steroid compounds: recent developments. *Enzyme and Microbial Technology* 32: 688–705.
- FERNÁNDEZ DE LAS HERAS L, GARCÍA FERNÁNDEZ E, MARÍA NAVARRO LLORENS J, PERERA J, DRZYZGA O (2009) Morphological, Physiological, and Molecular Characterization of a Newly Isolated Steroid-Degrading Actinomycete, Identified as *Rhodococcus ruber* Strain Chol-4. *Current Microbiology* 59: 548–553.
- FITZPATRICK EA (1997) Arctic soils and permafrost. *Ecology of Arctic Environments* (eds. Woodin SJ, Marquiss M), Blackwell Science, Oxford: 1-40.
- FUENTES MS, BENIMELI CS, CUOZZO SA, AMOROSO MJ (2010) Isolation of pesticide-degrading actinomycetes from a contaminated site: Bacterial growth, removal and dechlorination of organochlorine pesticides. *International Biodeterioration & Biodegradation* 64: 434-441.
- FUNKE G, HUSTON RA, BEMARD KA, PFYFFER GE, COLLINS MD (1996) Isolation of *Arthrobacter* spp. from clinical specimen and description of *Arthrobacter cumminsii* sp. nov. and *Arthrobacter woluwensis* sp. nov.. *Journal of Clinical Microbiology* 34: 2356–2363.
- FUNKE G, PAGANO-NIEDERER M, SJÖDÉN B, FALSEN E (1998) Characteristics of *Arthrobacter cumminsii*, the most frequently encountered *Arthrobacter* species in human clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 36(6): 1539-43.
- GAO B, GUPTA RS (2012) Phylogenetic Framework and Molecular Signatures for the Main Clades of the Phylum *Actinobacteria*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 76(1): 66–112.
- VAN DER GEIZE R, DIJKHUIZEN L (2004) Harnessing the catabolic diversity of rhodococci for environmental and biotechnological applications. *Current Opinion in Microbiology* 7(3): 255–261.
- GHAI R, MCMAHON KD, RODRIGUEZ-VALERA F (2012) Breaking a paradigm: cosmopolitan and abundant freshwater actinobacteria are low GC. *Environmental Microbiology Reports* 4(1): 29–35.
- GILBERT M, MOROSOLI R, SHARECK F, KLUEPFEL D (1995) Production and secretion of proteins by streptomycetes. *Critical Reviews in Biotechnology* 15(1):13-39.

- GITTEL A, BÁRTA J, KOHOUTOVÁ I, MIKUTTA R (2014) Distinct microbial communities associated with buried soils in the Siberian tundra. *The ISME Journal* 8: 841-853.
- GUNDELLY P, THORNTON A, GREENBERG RN, MCCORMICK M, MYINT T (2014) *Rhodococcus equi* Pericarditis in a Patient Living with HIV/AIDS. *Journal of the International Association of Providers of AIDS Care*. DOI:10.1177/2325957414520979.
- GÜRTLER V, SMITH R, MAYALL BC, PÖTTER-REINEMANN G, STACKEBRANDT E, KROPPESTEDT RM (2001) *Nocardia veterana* sp. nov., isolated from human bronchial lavage. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51(3):933-6.
- HAMID ME, MALDONADO L, SHARAF ELDIN GS, MOHAMED MF, SAEED NS, GOODFELLOW M (2001) *Nocardia africana* sp. nov., a New Pathogen Isolated from Patients with Pulmonary Infections. *Journal of Clinical Microbiology* 39: 625-630.
- HAYATSU M, HIRANO M, NAGATA T (1999) Involvement of Two Plasmids in the Degradation of Carbaryl by *Arthrobacter* sp. Strain RC100. *Applied and Environmental Microbiology* 65(3): 1015–1019.
- HETZLER S, BRÖKER D, STEINBÜCHEL A (2013) Saccharification of cellulose by recombinant *Rhodococcus opacus* PD630 strains. *Applied and Environmental microbiology* 79(17): 5159-66.
- HUBBLE JP, CAO T, KJELSTROM JA, KOLLER WC, BEAMAN BL (1995) *Nocardia* species as an etiologic agent in Parkinson's disease: serological testing in a case-control study. *Journal of Clinical Microbiology* 33: 2768-2769.
- CHEN M, ALEXANDER M (1973) Survival of soil bacteria during prolonged desiccation. *Soil Biology and Biochemistry* 5: 213-221.
- ISHIKAWA J, YAMASHITA A, MIKAMI Y, HOSHINO Y, KURITA H, HOTTA K, SHIBA T, HATTORI M (2004) The complete genomic sequence of *Nocardia farcinica* IFM 10152. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 14925–14930.
- JU X, CAO X, SUN Y, WANG Z, CAO C, LIU J, JIANG J (2012) Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme from *Streptomyces* sp. XZNUM 00004. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 28(7): 2479-86.

- KAGEYAMA A, POONWAN N, YAZAWA K, MIKAMI Y, NISHIMURA K (2003) *Nocardia asiatica* sp. nov., isolated from patients with nocardiosis in Japan and clinical specimen from Thailand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54: 125–130.
- KAMIGIRI K, TOKUNAGA T, SHIBAZAKI M, SETIAWAN B, RANTIATMODJO RM, MORIOKA M, SUZUKI K (1996) YM-30059, a novel quinolone antibiotic produced by *Arthrobacter* sp. *The Journal of Antibiotics* (8):823-5.
- KATSENOVICH Y, CARVAJAL D, GUDURU R, LAGOS L, LI CZ (2013) Assessment of the Resistance to Uranium (VI) Exposure by *Arthrobacter* sp Isolated from Hanford Site Soil. *Geomicrobiology Journal* 30: 120-130.
- KIM D, KIM YS, KIM SK, KIM SW, ZYLSTRA GJ, KIM YM, KIM E (2002) Monocyclic Aromatic Hydrocarbon Degradation by *Rhodococcus* sp. Strain DK17. *Applied and Environmental Microbiology* 68(7): 3270-3278.
- KIM SB, LONSDALE J, SEONG CN, GOODFELLOW M (2003) *Streptacidiphilus* gen. nov., acidophilic actinomycetes with wall chemotype I and emendation of the family *Streptomycetaceae* (Waksman and Henrici (1943)^{AL}) emend. Rainey et al. 1997. *Antonie van Leeuwenhoek* 83: 107-116.
- KIRBY R, SANGAL V, TUCKER NP, ZAKRZEWSKA-CZERWINSKA J, WIERZBICKA K, HERRON PR, CHU CJ, CHANDRA G, FAHAL AH, GOODFELLOW M, HOSKISSON PA (2012) Draft genome sequence of the human pathogen *Streptomyces somaliensis*, a significant cause of actinomycetoma. *Journal of Bacteriology* 194(13): 3544-5.
- KITAGAWA W, TAMURA T (2008) Three Types of Antibiotics Produced from *Rhodococcus erythropolis* Strains. *Microbes and Environments* 23(2): 167-71.
- LAMBERT DH, LORIA R (1989) *Streptomyces scabies* sp. nov., norn. rev. *International Journal of Systematic Bacteriology* 39: 387-392.
- LARKIN MJ, KULAKOV LA, ALLEN CC (2005) Biodegradation and *Rhodococcus* – masters of catabolic versatility. *Current Opinion in Biotechnology* 16(3):282-90.
- LASHKARIAN H, RAHEB J, SHAHZAMANI K, SHAHBANI H, SHAMSARA M (2010) Extracellular Cholesterol Oxidase from *Rhodococcus* sp.: Isolation and Molecular Characterization. *Iranian Biomedical Journal* 14(1-2): 49–57.

- LEININGER S, URICH T, SCHLOTTER M, SCHWARK L, QI J, NICOL GW et al. (2006). Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature* 442: 806-809.
- LERAT S, SIMAO-BEAUNOIR AM, BEAULIEU C (2009) Genetic and physiological determinants of *Streptomyces scabies* pathogenicity. *Molecular Plant Pathology* 10:579-85.
- LEZHAVA A, MIZUKAMI T, KAJITANI T, KAMEOKA D, REDENBACH M, SHINKAWA H, NIMI O, KINASHI H (1995) Physical Map of the Linear Chromosome of *Streptomyces griseus*. *Journal of Bacteriology* 177: 6492-6498.
- LLOYD AB (1969) Behaviour of Streptomycetes in Soil. *Microbiology* 56(2): 165-170.
- LODDERS N, KÄMPFER P (2007) *Streptomycetaceae: Phylogeny, Ecology and Pathogenicity*. eLS. ISBN: 9780470015902.
- LYONS WB, HOWARD-WILLIAMS C, HAWES I (1996) Ecosystem processes in Antarctic ice-free landscapes : proceedings of an international workshop on polar desert ecosystems: Christchurch, New Zealand, A.A. Balkema.
- MCLEOD MP, WARREN RL, HSIAO WW et al. (2006) The complete genome of *Rhodococcus* sp. RHA1 provides insights into a catabolic powerhouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 103(42): 15582-7.
- MEGHARAJ M, AVUDAINAYAGAM S, NAIDU R (2003) Toxicity of hexavalent chromium and its reduction by bacteria isolated from soil contaminated with tannery waste. *Current Microbiology* 47(1): 51-4.
- MONGODIN EF, SHAPIR N et al. (2006) Secrets of soil survival revealed by the genome sequence of *Arthrobacter aurescens* TC1. *PLoS Genetics* 2(12):e214.
- MUÑOZ J, MIRELIS B, ARAGÓN LM, GUTIÉRREZ N, SÁNCHEZ F, ESPAÑOL M, ESPARCIA O, GURGUÍ M, DOMINGO P, COLL P (2007) Clinical and microbiological features of nocardiosis 1997-2003. *Journal of Medical Microbiology* 56(4): 545-50.
- NODA S, KAWAI Y, MIYAZAKI T, TANAKA T, KONDO A (2013) Creation of endoglucanase-secreting *Streptomyces lividans* for enzyme production using cellulose as the carbon source. *Applied Microbiology and Biotechnology* 97(13): 5711-20.
- O'LOUGHLIN EJ, SIMS GK, TRAINA SJ (1999) Biodegradation of 2-methyl, 2-ethyl, and 2-hydroxypyridine by an *Arthrobacter* sp. isolated from subsurface sediment. *Biodegradation* 10: 93-104.

- PAANANEN A, MIKKOLA R, SARENEVA T, MATIKAINEN S, ANDERSON M, JULKUNEN I, SALKINOJA-SALONEN MS, TIMONEN T (2000) Inhibition of Human NK Cell Function by Valinomycin, a Toxin from *Streptomyces griseus* in Indoor Air. *Infection and Immunity* 68: 165-169.
- PAISIO CE, TALANO MA, GONZÁLEZ PS, BUSTO VD, TALOU JR, AGOSTINI E (2012) Isolation and characterization of a *Rhodococcus* strain with phenol-degrading ability and its potential use for tannery effluent biotreatment. *Environmental Science and Pollution Research* 19:3430–3439.
- PALACÍN A, DE LA FUENTE R, VALLE I, RIVAS LA, MELLADO RP (2003) *Streptomyces lividans* contains a minimal functional signal recognition particle that is involved in protein secretion. *Microbiology* 149: 2435-2442.
- PALOMO S, GONZÁLEZ I, DE LA CRUZ M, MARTÍN J, RUBÉN TORMO J, ANDERSON M, HILL RT, VICENTE F, REYES F, GENILLOUD O (2013) Sponge-Derived *Kocuria* and *Micrococcus* spp. as Sources of the New Thiazolyl Peptide Antibiotic Kocurin. *Marine Drugs* 11: 1071-1086.
- PARAMYTHIOTOU E, PAPADOMICHELAKIS E, VRIONI G, PALLAS G, PANTELAKI M, KONTOS F, ZERVA L (2012) A life-threatening case of disseminated nocardiosis due to *Nocardia brasiliensis*. *Indian Journal of Critical Care Medicine* 16(4): 234-237.
- POTTUMARTHY S, LIMAYE AP, PRENTICE JL, HOUZE YB, SWANZY SR, COOKSON BT (2003) *Nocardia veterana*, a New Emerging Pathogen. *Journal of Clinical Microbiology* 41(4): 1705–1709.
- PRESCOTT JF (1991) *Rhodococcus equi*: an animal and human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews* 4(1):20-34.
- PROCÓPIO RE, SILVA IR, MARTINS MK, AZEVEDO JL, ARAÚJO JM (2012) Antibiotics produced by *Streptomyces*. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 16(5):466-471.
- QUINTANA ET, WIERZBICKA K, MACKIEWICZ P, OSMAN A, FAHAL AH, HAMID ME, ZAKRZEWSKA-CZERWINSKA J, MALDONADO LA, GOODFELLOW M (2008) *Streptomyces sudanensis* sp. nov., a new pathogen isolated from patients with actinomycetoma. *Antonie Van Leeuwenhoek* 93(3): 305-13.

- ROSAS-TARACO AG, PEREZ-LIÑAN AR, BOCANEGRA-IBARIAS P, PEREZ-RIVERA LI, SALINAS-CARMONA MC (2012) *Nocardia brasiliensis* induces an immunosuppressive microenvironment that favors chronic infection in BALB/c mice. *Infection and Immunity* 80(7): 2493-9.
- SAINTPIERRE-BONACCIO D, MALDONADO LA, AMIR H, PINEAU R, GOODFELLOW M (2004) *Nocardia neocaledoniensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from a New-Caledonian brown hypermagnesian ultramafic soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54: 599-603.
- SERVIN JA, HERBOLD CW, SKOPHAMMER RG, LAKE JA (2008) Evidence excluding the root of the tree of life from the actinobacteria. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1–4.
- SCHENK T, MÜLLER R, LINGENS F (1990) Mechanism of enzymatic dehalogenation of pentachlorophenol by *Arthrobacter* sp. strain ATCC 33790. *Journal of Bacteriology* 172(12): 7272–7274.
- SCHLABERG R, HUARD RC, DELLA-LATTA P (2007) *Nocardia cyriacigeorgica*, an Emerging Pathogen in the United States. *Journal of clinical microbiology* 46(1): 265–273.
- SCHLUSSELHUBER M, TORELLI R, MARTINI C, LEIPPE M et al. (2013) The Equine Antimicrobial Peptide eCATH1 Is Effective against the Facultative Intracellular Pathogen *Rhodococcus equi* in Mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 57: 4615-4621.
- SCHNECKER J, WILD B, HOFHANSL F (2014) Effects of Soil Organic Matter Properties and Microbial Community Composition on Enzyme Activities in Cryoturbated Arctic Soils. *PLoS ONE*. DOI: 10.1371/journal.pone.0094076.
- SCHREMPF H (2008) *Streptomycetaceae: Life Style, Genome, Metabolism and Habitats*. eLS. DOI: 10.1002/9780470015902.a0020393.
- DE SCHRIJVER A, DE MOT R (1999) Degradation of pesticides by actinomycetes. *Critical Reviews in Microbiology* 25: 85-119.
- SMACCHI E, FOX PF, GOBBETTI M (1999) Purification and characterization of two extracellular proteinases from *Arthrobacter nicotianae* 9458. *FEMS Microbiology Letters* 170: 327–333.
- SMACCHI E, GOBBETTI M, ROSSI J, FOX FP (2000) Purification and characterization of an extracellular esterase from *Arthrobacter nicotianae* 9458. *Lait* 80: 255-265.

- SMEGO RA JR., GALLIS HA (1984) The clinical spectrum of *Nocardia brasiliensis* infection in the United States. *Reviews of Infectious Diseases* 6(2): 164-80.
- SOHNG JK, YAMAGUCHI T, SEONG CN, BAIK KS, PARK SC, LEE HJ, JANG SY, SIMKHADA JR, YOO JC (2008) Production, isolation and biological activity of nargenicin from *Nocardia* sp. CS682. *Archives of Pharmacal Research* 31(10): 1339-45.
- SOROR SH, RAO R, CULLUM J (2009) Mining the genome sequence for novel enzyme activity: characterisation of an unusual member of the hormone-sensitive lipase family of esterases from the genome of *Streptomyces coelicolor* A3 (2). *Protein Engineering, Design & Selection* 22(6): 333-9.
- STES E, FRANCIS I, PERTRY I, DOLZBLASZ A, DEPUYDT S, VEREECKE D (2013) The leafy gall syndrome induced by *Rhodococcus fascians*. *FEMS Microbiology Letters* 342: 187-195.
- TANAKA Y, KOMAKI H, YAZAWA K, MIKAMI Y, NEMOTO A, TOJYO T, KADOWAKI K, SHIGEMORI H, KOBAYASHI J (1997) Brasilinolide A, a new macrolide antibiotic produced by *Nocardia brasiliensis*: producing strain, isolation and biological activity. *The Journal of Antibiotics* 50(12): 1036-41.
- TUNCER M, KURU A, ISIKLI M, SAHIN N, CELENK FG (2004) Optimization of extracellular endoxylanase, endoglucanase and peroxidase production by *Streptomyces* sp. F2621 isolated in Turkey. *Journal of Applied Microbiology* 97(4): 783-91.
- VENTURA M, CANCHAYA C, TAUCH A, CHANDRA G, FITZGERALD GF, CHATER KF, VAN SINDEREN D (2007) Genomics of Actinobacteria: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 71: 495–548.
- VENUGOPAL RJ, INGHAM SC, MCCURDY AR (1994) Identification of psychotrophic *Micrococcaceae* spp. isolated from fresh beef stored under carbon-dioxide or vakuum. *International Journal of Food Mikrobiology* 23: 167-178.
- WAKSMAN SA, HENRICI AT (1943) The nomenclature and classification of the *Actinomycetes*. *Journal of Bakteriology* 46:337–341.
- WALLACE JR. RJ, VANCE P, WEISSFELD A, MARTIN RR (1978) Beta-Lactamase Production and Resistance to Beta-Lactam Antibiotics in *Nocardia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 14(5): 704–709.

- WALSH CT, ACKER MG, BOWERS AA (2010) Thiazolyl peptide antibiotic biosynthesis: a cascade of post-translational modifications on ribosomal nascent proteins. *The Journal of Biological Chemistry* 285(36): 27525-31.
- WARHURST AM, FEWSON CA (1994) Biotransformations catalyzed by the genus *Rhodococcus*. *Critical Reviews in Biotechnology* 14: 29–73.
- WATVE MG, TICKOO R, JOG MM, BHOLE BD (2001) How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*? *Archives of Microbiology* 176(5): 386-90.
- WEINSTOCK DM, BROWN AE (2002) *Rhodococcus equi*: an emerging pathogen. *Clinical Infectious Diseases* 34(10):1379-85.
- WESTERBERG K, ELVÄNG AM, STACKEBRANDT E, JANSSON JK (2000) *Arthrobacter chlorophenolicus* sp. nov., a new species capable of degrading high concentrations of 4-chlorophenol. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology* 6: 2083-92.
- WIETZ M, MÅNSSON M, BOWMAN JS, BLOM N, NG Y, GRAM L (2012) Wide distribution of closely related, antibiotic-producing *Arthrobacter* strains throughout the Arctic Ocean. *Applied and Environmental Microbiology* 78(6):2039-42.
- WILD B, SCHNECKER J, BÁRTA J, ČAPEK P et al. (2013) Nitrogen dynamics in Turbic Cryosols from Siberia and Greenland. *Soil biology & biochemistry* 67: 85-93.
- WILSON JW (2012) Nocardiosis: Updates and Clinical Overview. *Mayo Clinic Proceedings* 87(4): 403-407.
- WINN W, ALLEN S, JANDA W, KONEMAN E, PROCIP G, SCHREKENBERGER P et al. (2006) Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkin; Aerobic actinomycetes Chapter.
- WOLPERT M, GUST B, KAMMERER B, HEIDE L (2007) Effects of deletions of mbtH-like genes on chlorobiocin biosynthesis in *Streptomyces coelicolor*. *Microbiology* 153: 1413-1423.
- YASSIN AF, STRÄUBLER B, SCHUMANN P, SCHAAL KP (2003) *Nocardia puris* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53: 1595-1599.
- ZEINALI M, VOSSOUGH M, ARDESTANI SK, BABANEZHAD E, MASOUMIAN M (2007) Hydrocarbon degradation by thermophilic *Nocardia otitidiscaviarum* strain TSH1: physiological aspects. *Journal of Basic Microbiology* 47(6): 534-9.

ZHANG Z, WANG Y, RUAN J (1997) A proposal to revive the genus *Kitasatospora* (Omura, Takahashi, Iwai, and Tanaka 1982). *International Journal of Systematic Bacteriology* 47(4):1048-54.

ZHANG J, LIU Z, GOODFELLOW M (2004) *Nocardia xishanensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54: 2301-5.

ZHANG Y, JUANY Z, CAO B, HU M, WANG Z, DONG X (2011) Metabolic ability and gene characteristics of *Arthrobacter* sp. strain DNS10, the sole atrazine-degrading strain in a consortium isolated from black soil. *International Biodeterioration & Biodegradation* 65: 1140–1144.

ZLOTNIK H, SCHRAMM VL, BUCKLEY HR (1984) Purification and partial characterization of a *Nocardia brasiliensis* extracellular protease. *Journal of Bacteriology* 157(2): 627–631.