

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**VÝZNAM AKTINOBAKTERIÍ
V PERMAFROSTU SIBIŘSKÉ ARKTIDY**

Bc. HANA BOŠKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE: Ing. JIŘÍ BÁRTA, Ph.D.

ČESKÉ BUDĚJOVICE

2013

Bošková H. (2013): Význam Aktinobakterií v permafrostu sibiřské Arktidy [The importance of Actinobacteria in Arctic soil. Mgr Thesis, in Czech] - 52 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

Tato práce je zaměřena na bakteriální kmen Aktinobakterie a popisuje jejich význam v arktických půdách. Zástupci Aktinobakterií dokáží rozkládat složité přírodní biopolymery a protože jsou schopni žít v drsných arktických podmínkách, mohli by zde při rozkladu organické hmoty hrát významnou roli. Práce porovnává zastoupení Aktinobakterií v půdních horizontech s důrazem na kryoturbace a zabývá se vlivem teploty na jejich množství. Dále uvádí výsledky testování čistých bakteriálních izolátů na produkci celulólytických enzymů.

Annotation:

This work is aimed for Actinobacteria and describes their importance in Arctic soil. The members of Actinobacteria are known for their ability to decompose complex natural biopolymers and because they are able to live in harsh arctic environment they could play there an important role in organic matter decomposition. The work compares their abundance in different soil horizons with the focus on cryoturbations and determines the influence of temperature on their amount. This work also represents the results of testing pure Actinobacterial isolates for the production of cellulolytic enzymes.

Prohlašuji, že svoji diplomovou 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 diplomové práce, a to v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou - 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.

.....
Hana Bošková

V Českých Budějovicích, 25.4. 2013

Poděkování:

Ráda bych na tomto místě poděkovala především svému školiteli Jirkovi Bártovi, který svým odborným, ale i kamarádským přístupem výrazně přispěl ke vzniku této práce, a vždy ochotně a trpělivě zodpovídal mé zvědavé a nechápavé otázky ☺. Dále bych chtěla poděkovat všem ostatním z Katedry biologie ekosystémů za vytváření příjemného pracovního prostředí a také své rodině a přátelům za podporu během studia.

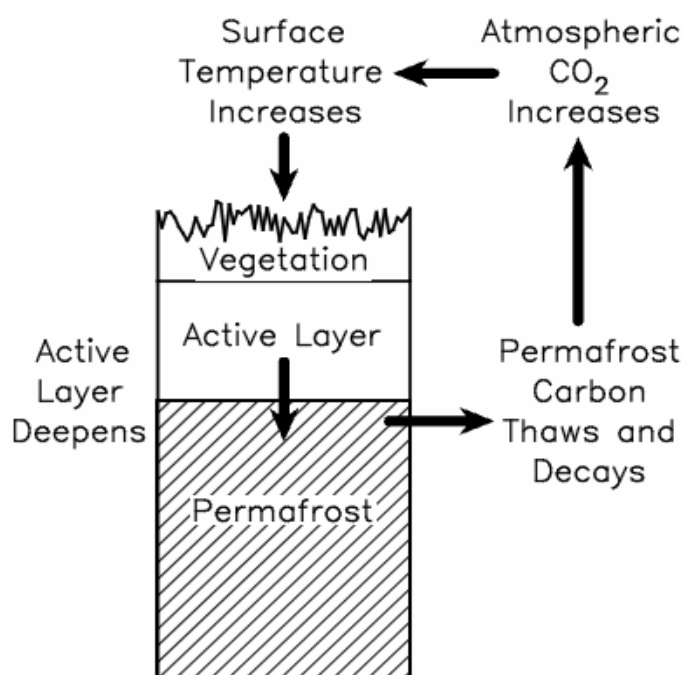
OBSAH:

1	Literární rešerše.....	1
1.1	Život v polárních ekosystémech.....	1
1.2	Arktida	2
1.2.1	Arktická tundra	2
1.2.2	Kryoturbace	3
1.3	Mikroorganismy v permafrostu	4
1.3.1	Adaptační mechanismy psychrofilních organismů.....	5
1.3.2	Mikrobiální diverzita v permafrostu	5
1.4	Aktinobakterie.....	7
1.4.1	Výskyt	7
1.4.2	Produkce sekundárních metabolitů.....	7
1.4.3	<i>Arthrobacter</i> sp.	8
1.4.3.1	Výskyt a metabolismus	8
1.4.3.2	Morfologická konverze	8
1.4.3.3	Kultivace	9
1.5	Extracelulární enzymy.....	9
1.5.1	Celulolytické enzymy.....	10
1.5.2	Lignolytické enzymy.....	11
1.5.2.1	Lignolytické bakterie	11
2	Seznam literatury.....	13
3	Rukopis článku.....	22

1 Literární rešerše

1.1 Život v polárních ekosystémech

Půdní ekosystémy jsou nejsložitější mikrobiální ekosystémy na Zemi, ale o jejich složení a struktuře je známo velmi málo. Toto tvrzení platí obzvláště pro permafrost - nejsvrchnější část litosféry, která má po dobu dvou let teplotu 0 °C a nižší. Genetický potenciál mikroorganismů přítomných v permafrostu je ovlivněn jejich schopností reagovat na kolísání teplot a jiné fyzikální a chemické změny. Ohřívání horních vrstev permafrostu vlivem globálního oteplování může mít za následek dramatické zvýšení mikrobiální aktivity a následného rozkladu organické hmoty. V arktických ekosystémech je odhadem uloženo až 1672 Gt uhlíku (Tarnocai et al. 2007) a tyto obrovské zásoby se tak činností mikroorganismů mohou stát bohatým zdrojem skleníkových plynů, což povede k dalšímu oteplování a dalšímu tání permafrostu, tzv. PCF - permafrost carbon feedback (Obr. 1, Schaefer et al. 2011; Zimov et al. 2006).



Obr.1: Dynamika uhlíku v permafrostu a atmosféře (Schaefer et al. 2011).

Rozsáhlé klimatické změny v polárních oblastech mohou v brzké době výrazně změnit množství a složení půdních mikrobiálních společenstev. Bakterie jsou stále dominantní formou života a platí to i v polárních ekosystémech. Jaké skupiny

mikroorganismů budou během těchto změn dominovat, se ale stále spekuluje. K přežití v extrémních polárních podmínkách si bakterie vyvinuly různé strategie, které jim pomáhají vyrovnat se s náročným životním prostředím. To zahrnuje nejen velmi nízké teploty a opakované zmrazování a rozmrazování půdy, ale i její vysychání, vysoká či nízká salinita nebo pH a dlouhé období tmy během zimy. Polární formy života musí být také schopny přežívat vyšší expozici solárního záření UVB (280-314 nm) kvůli úbytku ozonové vrstvy nad oblastmi Arktidy (McKenzie et al. 2003). Bakterie využívají pro přežití různé mechanismy jako sezónní období klidu (dormance), produkci pigmentů, exopolysacharidů, ochranných vrstev chránících před UV zářením a využívání speciálních enzymů a látek, které během opakovaného zmrazování a rozmrazování zabraňují lýzi buněk (Hoover & Pikuta 2009).

Nejvýznamnějšími prokaryoty v polárním prostředí jsou psychrofilní a psychrotolerantní bakterie a archaea. Minimální teplota pro růst psychrofilních organismů je 0°C, optimální 15°C, maximální 20°C (Helmke & Weyland 2004). Psychrotolerantní organismy jsou schopné růst při nízkých teplotách (i blízko 0°C), ale jejich optimální teplota růstu je v rozsahu 20 - 40°C (Männistö & Puhakka 2002). Psychrotolerantní mikroorganismy jsou obvykle v prostředí s chladnými podmínkami zastoupeny častěji. To může být způsobeno jejich lepší nutriční adaptabilitou (Wynn-Williams 1990) nebo díky horizontálnímu přenosu genů od mezofilů (Aislabie et al. 2004).

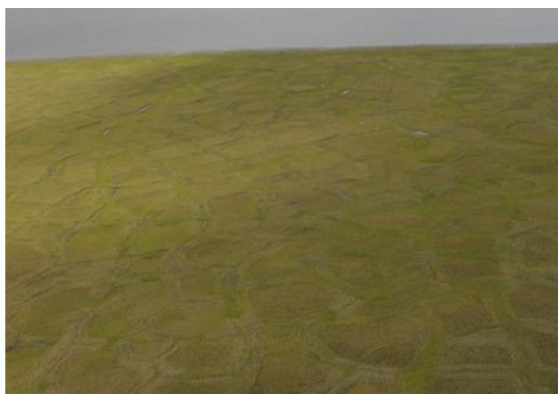
1.2 Arktida

Arktida je oblast ležící za severním polárním kruhem (66°32'), v níž průměrná teplota nepřesahuje ani v létě 10°C. Pro arktické klima jsou charakteristické dlouhé a velmi studené zimy (teplota kolem - 40°C) a krátká chladná léta (kolem 0°C) (Fitzpatrick 1997). Po většinu roku převládá vysoký tlak vzduchu - je tedy málo oblačnosti i srážek (méně než 50 mm/rok, obvykle ve formě sněhu). Oblast ovšem ovlivňují i rozsáhlé pravidelné tlakové níže, které jsou zdroji silného vzdušného proudění a to zejména v zimě.

1.2.1 Arktická tundra

Arktická tundra se rozkládá na Severní polokouli severně od pásu tajgy. Půdy jsou zde trvale zmrzlé (od hloubky 25-90 cm). Místní flóra a fauna je velmi chudá, protože život je zde díky podmínkám prostředí značně limitovaný. Vegetaci tu představují nízké a odolné

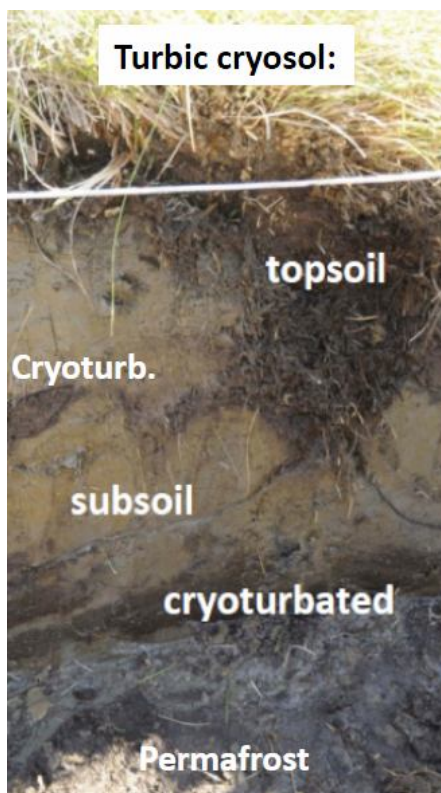
rostliny jako mechy, vřes nebo lišejníky. Během léta, kdy denní teplota stoupá, horní vrstva permafrostu taje. Spodní vrstvy zmrzlé půdy jsou ale pro vodu nepropustné, takže zůstává na povrchu, který se tak stává rozbředlý a zamokřený. Tundra tak může být během teplých měsíců překryta močály, jezery a bažinami. Pro některé oblasti je typické polygonální uspořádání krajiny (Obr. 2), vznikající opakovaným působením mrazu a tání, kdy vlivem půdního ledu dochází k zrnitostnímu vytrídění půdního materiálu tak, že hrubší horninové úlomky tvoří na povrchu půdy hranice polygonů a prostor mezi nimi je vyplněn jemnozrnnou zeminou. Příčinou tohoto procesu jsou nestejně fyzikální vlastnosti při vymrzání mezi vodním prostředím a substrátem.



Obr. 2: Polygonální uspořádání krajiny, tajmyrský poloostrov (© Nikolay Lashchinskiy).

1.2.2 Kryoturbace

Arktické půdy mají díky kryogenním vlivům unikátní vlastnosti. Jedny z nejběžnějších zde probíhajících půdních procesů jsou kryoturbace. Ty zvyšují heterogenitu arktických půd a způsobují nerovnoměrné rozložení organické hmoty v půdním profilu (Ping et al. 1998). Dochází k nim díky půdním prasklinám, které jsou vytvářeny expanzí mrznoucí vody, a zapříčiňují vertikální i horizontální pohyb půdního materiálu (Walker et al. 2002; Peterson & Krantz 2003). Opakované mrznutí a tání tak způsobuje promíchávání půdního materiálu (organických a minerálních vrstev) a vytváření rozlámaných a nepravidelných horizontů (Bockheim & Tarnocai 1998). Organický materiál se tak akumuluje nejen na povrchu, ale i v nižších vrstvách (Obr. 3). V hlubších a tedy studenějších vrstvách se rozklad organické hmoty výrazně zpomaluje, takže pohřbený organický materiál zde může být zakonzervován stovky let. Průměrný obsah uhlíku v kryoturbacích se pohybuje v rozmezí 49-61 kg m⁻² (v organických vrstvách je to 43-144 kg.m⁻²) (Tarnocai et al. 2007).



Obr. 3: Půdní profil aktivní vrstvy permafrostu, kryoturbace jsou tmavé oblasti organické hmoty v půdním profilu (© Tim Urich).

1.3 Mikroorganismy v permafrostu

Půdní ekosystém, s 5000-10000 druhů mikroorganismů na gram půdy, představuje prostředí s největší mikrobiální diverzitou na Zemi (Mongodin et al. 2006). Výskyt mikroorganismů v půdě je ovlivněn dostupností živin a vody. Dalším velmi důležitým faktorem je teplota. Řídí rychlost rozmnožování, aktivitu enzymů nebo metabolismus. S klesající teplotou se postupně snižuje rychlost dělení buněk a další mikrobiální procesy. Minimální teplota růstu je zřejmě určena enzymy, které jsou k nízkým teplotám nejcitlivější (Storz & Hengge-Aronis 2000). Permafrost tak omezuje mikrobiální aktivitu, protože funguje jako fyzikální a biochemická bariéra, negativně ovlivňuje vstup vody i mineralizaci živin (Gilichinsky et al. 2005).

Přesto se i v těchto na první pohled nehostinných zmrzlých půdách můžeme setkat s bohatými mikrobiálními společenstvy. Nacházíme zde bakterie, které se plně přizpůsobily životu ve zdejších extrémních podmínkách a dokázaly si vytvořit mechanismy, které jim pomáhají zachovat všechny životní funkce i za nízkých teplot.

1.3.1 Adaptační mechanismy psychrofilních organismů

Příkladem adaptačních mechanismů u psychrofilních organismů jsou změny ve složení membránových lipidů. Lipidová dvojvrstva mikrobiálních membrán musí být fluidní. Při teplotním poklesu ovšem dochází k jejímu tuhnutí a k dramatickým změnám vlastností membrány, konkrétní teplota je pak závislá na struktuře membránových lipidů (především na jejich mastných kyselinách) (Tehei & Zaccai 2005). Zachování fluidity membrán je ovšem pro přežití bakterií naprosto zásadní. Proto si tyto mikroorganismy v průběhu evoluce začaly syntetizovat nenasycené mastné kyseliny, často také s větvenými nebo zkrácenými uhlíkovými řetězci (Russell & Hamamoto 1998), což vedlo ke snížení teploty tuhnutí.

Další významnou adaptací je změna struktury proteinů s enzymatickou aktivitou. Enzymy produkované psychrofilními mikroorganismy jsou tak schopny katalyzovat reakce i při nízkých teplotách. Molekulární podstatou je zvýšená flexibilita jejich struktury v důsledku oslabení intramolekulárních interakcí a naopak zesílení interakcí se substrátem (Stibor & Králová 2000).

Silně zahuštěná buněčná stěna, nehomogenní cytoplasma nebo těsně sbalené ribozomy také napomáhají k přežívání mikroorganismů v chladných arktických oblastech (Soina et al. 2004; Dmitriev et al. 2000). Navíc zachovalost jejich DNA v permafrostu nahrává předpokladu, že tyto bakterie mají schopnost pomalé metabolické regenerace poškozené DNA (Willerslev et al. 2004).

1.3.2 Mikrobiální diverzita v permafrostu

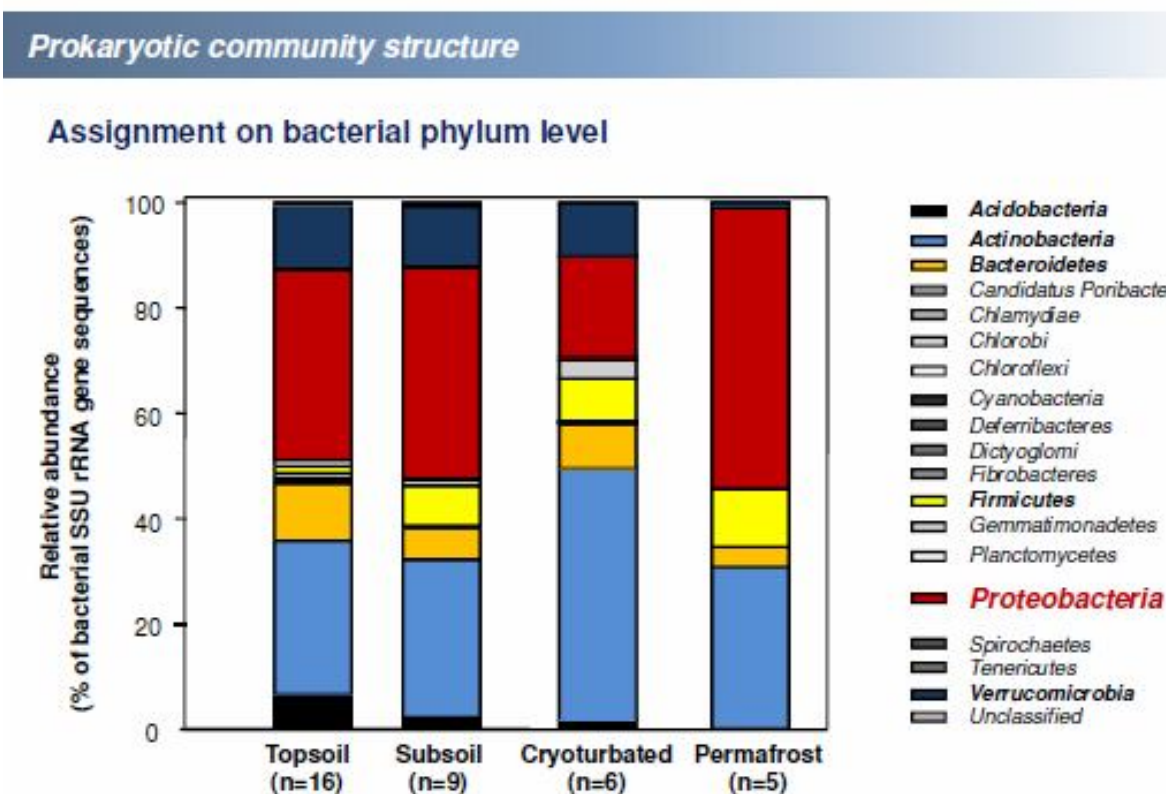
Permafrost představuje 26 % suchozemských půdních ekosystémů (Steven et al. 2006) a můžeme zde najít velký počet biologicky rozmanitých bakteriálních druhů, z nichž některé mohou představovat nejstarší životaschopné organismy na Zemi. Mikroorganismy schopné růstu a metabolické aktivity při nízkých teplotách mohou v budoucnosti v souvislosti s globálním oteplováním významně ovlivnit biogeochemické cykly (především uhlíku, dusíku nebo síry). Přesto je o jejich výskytu a složení v arktických půdách v porovnání s jinými ekosystémy pořád známo relativně málo.

Celkový počet mikroorganismů v 1g permafrostu je přibližně kolem 10^8 buněk (Rivkina et al. 1998). Počet života schopných mikroorganismů se pak pohybuje v rozmezí 10^2 - 10^6 buněk/g (Vishnivetskaya et al. 2000). Široká diverzita bakterií zahrnuje heterotrofy,

anaerobní heterotrofy, metanogeny, mikroorganismy redukující železo a sírany, nitrifikační a dusík fixující bakterie. Z arktického permafrostu bylo izolováno přes 30 bakteriálních rodů (např. *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Rhodococcus*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Myxococcus*, *Exiguobacterium*, *Nitrobacter*, *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, and *Streptomyces*) (Gilichinsky et al. 1995; Shi et al. 1997; Vorobyova et al. 1997).

Některé výzkumy poukazují na to, že v permafrostu dominují populace buněk, které jsou menší než 1 μm (Dmitriev et al. 2000; Soina et al. 2004). Studie Vorobyova et al. 2001 uvádí, že bakterie menší než 0,4 μm představují v permafrostu až 80 % mikrobiální biomasy. Malá velikost buňky tak může být fyziologickou odpovědí na environmentální stres (Sheridan et al. 2003; Miteva et al. 2004).

Nejnovější genetické analýzy ukazují (Antje Gittel, nepublikováno), že významnou složku ve všech horizontech (a v kryoturbačních dokonce více než 50 %), představují Aktinobakterie (Obr. 4).



Obr. 4: Zastoupení hlavních bakteriálních kmenů v půdních horizontech (Antje Gittel, nepublikováno).

1.4 Aktinobakterie

Aktinobakterie patří k nejběžnějším zástupcům mikrobiálního života. Jsou široce rozšířeny, najdeme je v suchozemských i vodních ekosystémech. Důležitou roli mají v zemědělství, ekologii, průmyslu i v lékařství (McNeill & Brown 1994; Strohl 2003). Významně se podílejí také na rozkladu komplexních organických látek jako je celulóza, lignin a chitin. Jsou tedy nedílnou součástí koloběhu biogeochemických cyklů. Aktinobakterie rodu *Frankia* jsou známy jako symbionti rostlin vázající dusík. Další zástupci dokáží degradovat pesticidy (*Streptomyces xiamenesis*, *Micromonospora saelicesensis*) (Fuentes et al. 2010) a dokonce odbourávat xenobiotika (De Schrijver & De Mot 1999). Některé Aktinobakterie jsou podmíněně patogenní nebo patogenní (*Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus*), jiné (zejména rod *Streptomyces*) naopak produkují antibiotika (např. aktinomycin).

Společným taxonomickým znakem je grampozitivita a vysoký obsah guaninu a cytosinu v DNA (57 - 75%) (Lo et al. 2002). Většina druhů je aerobních. Mnoho Aktinobakterií dokáže v případě nepříznivých podmínek vytvářet spóry.

1.4.1 Výskyt

Výskyt Aktinobakterií v půdě je ovlivňován environmentálními podmínkami (vlhkost, teplota, pH, vegetace). Optimální růst půdních Aktinobakterií je v neutrálním nebo slabě alkalickém prostředí (Basilio et al. 2003). Existují ale i acidofilní Aktinobakterie (optimální růst pH 4-5), které se od neutrofilních druhů morfologicky i fyziologicky liší (Khan & Williams 1975; Williams & Flowers 1978). Známy jsou také alkalofilní druhy (Mikami et al. 1985). S výjimkou halotolerantních zástupců, které můžeme najít v mořské vodě (Kushner 1985), vysoká koncentrace solí v daném habitatu růst Aktinobakterií výrazně potlačuje (Basilio et al. 2003).

1.4.2 Produkce sekundárních metabolitů

Aktinobakterie produkují mnoho biologicky aktivních látek, jako jsou extracelulární enzymy, vitamíny a antibiotika (McCarthy & Williams 1992; Sanglier et al. 1996; Lazzarini et al. 2000). Významným zdrojem přírodních bioaktivních látek (především antibiotik) jsou zástupci rodu *Streptomyces* a *Micromonospora* (Watve et al. 2001). V současné době je intenzivní hledání nových sekundárních metabolitů zaměřeno spíše na minoritní skupiny

Aktinobakterií. Kultivace za extrémních podmínek může zvýhodnit růst běžně neizolovatelných druhů, které mohou být případnými producenty nových bioaktivních látek. Konkrétním případem je studie prokazující produkci aktivních sekundárních metabolitů u bakterií izolovaných ze silně zasoleného prostředí (Basilio et al. 2003).

1.4.3 *Arthrobacter* sp.

K nejběžnějším zástupcům Aktinobakterií v půdě patří bakterie rodu *Arthrobacter*. Nacházíme je v běžných i hlubokých podpovrchových půdách, v arktickém ledu nebo v prostředích kontaminovaných chemickými a radioaktivními látkami. Mají primitivní životní cyklus a taxonomicky jsou řazeny mezi mikrokoky.

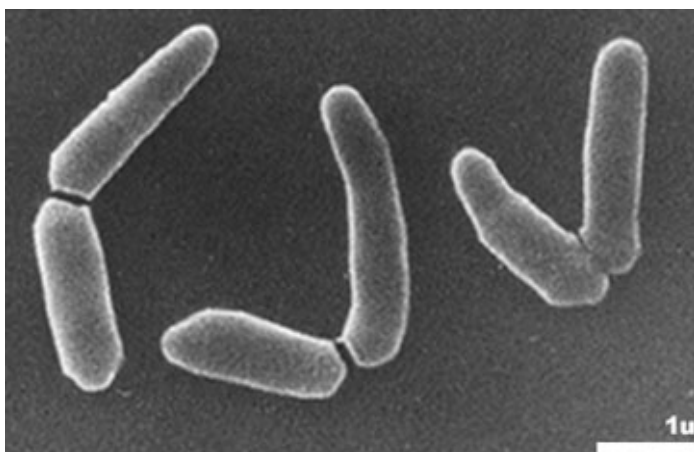
1.4.3.1 Výskyt a metabolismus

Ačkoliv netvoří spóry ani jiné klidové formy buněk, jsou zástupci z rodu *Arthrobacter* pozoruhodně rezistentní k vysušení (Chen & Alexander 1973) a hladovění (Boylen & Mulks 1978). Tyto faktory, které jsou pro přežití mikroorganismů v půdě velmi důležité, tak nahrávají převažujícímu výskytu *Arthrobacter* sp. v různých typech půd, v odlišných zeměpisných šířkách a klimatu, i jejich schopnosti prosperovat nebo dlouhodobě přežívat v extrémních podmínkách. Svou roli hraje nepochybně také jejich velká nutriční rozmanitost. *Arthrobacter* sp. dokáží využít jako zdroj uhlíku a energie širokou a pestrou škálu organických substrátů (Hagedorn & Holt 1975). Byly izolovány kmeny, které rozkládají herbicidy, kofein, nikotin, fenoly a další neobvyklé organické sloučeniny. Svůj význam mají také v bioremediaci půd, protože dokáží degradovat například toxické látky obsahující šestimocný chrom (Megharaj et al. 2003). Většina druhů je obligátně aerobních. U *Arthrobacter globiformis* a *Arthrobacter nicotianae* byl nicméně prokázán i anaerobní metabolismus (Eschbach et al. 2003).

1.4.3.2 Morfologická konverze

Rod *Arthrobacter* se vyznačuje charakteristickou morfologií buněk, která se během jeho vývojového cyklu mění. Pro mladé kultury (exponenciální fáze růstu, 1-2 dny) jsou typické gramnegativní tyčinky. Ty se v průběhu růstu zkracují a přetvářejí na grampozitivní koky (stacionární fáze růstu). Pokud je následně přeneseme na čerstvé médium, nově

vytvářené bakterie budou mít opět tvar tyčinek (kokoidní forma buněk produkuje jeden nebo dva „výhonky“, které dají vzniknout nepravidelným tyčinkám charakteristickým pro exponenciální fázi růstu). Tyčinky jsou nepohyblivé nebo vykazují jen slabou motilitu. Bývají uspořádány do tvaru „V“ (Obr. 5). Morfogeneze bakterií *Arthrobacter* sp. z tyčinek na koky zřejmě souvisí s jeho schopností přežít v extrémních podmínkách. Stav ve formě malého koku je totiž popisován jako nejvíce stabilní (Mongodin et al. 2006).



Obr. 5: „V“ Tyčinky *Arthrobacter globiformis* (www0.nih.go.jp).

1.4.3.3 Kultivace

Arthrobacter sp. byly poprvé popsány v 19. století (Koch et al. 1995) a patří mezi nejčastěji z půdy izolované bakterie (Soumare & Blondeau 1972; Hagedorn & Holt 1975). Vytváří malé (přibližně 2 mm v průměru) bílé nebo lehce nažloutlé pravidelné kulaté kolonie. Optimální podmínky pro růst jsou pH 7 a teplota 25-30°C. Většina druhů ale roste v rozmezí 10-35°C (Holt et al. 1994) Jsou známé i psychofilní druhy, rostoucí při teplotě -5°C, například *Arthrobacter glacialis* (Fan et al. 2004). Další zástupce *A. aurescens* TC1 může využívat jako zdroj dusíku pro svůj růst velké množství dusíkatých sloučenin. Dokáže degradovat proteiny, peptidy i glykopeptidy. Významnou metabolickou vlastností je i rozklad uhlovodíkových polymerů. Vytváří enzymy pro degradaci oligomerních uhlovodíků, stejně tak jako pro hydrolýzu pektinů, glykosidů a xylanu (Mongodin 2006).

1.5 Extracelulární enzymy

Zdrojem enzymů v půdě jsou nejen rostliny a půdní živočichové, ale ve značném měřítku také mikroorganismy. Ty jsou schopné sekretovat tzv. extracelulární enzymy. Tyto

půdní katalyzátory mají klíčovou biochemickou roli v procesech rozkladu organické hmoty a koloběhu živin. Dokáží degradovat polymerní organické sloučeniny na rozpustné monomery, které pak mohou být asimilovány (Nannipieri et al. 2002) a umožňují reakce nezbytné pro životní procesy bakterií (Dick 1994). Při dekompozici organického materiálu se nejprve rozkládají rozpustné sacharidy, pak celulóza a nakonec fenolické látky (lignin), produkce příslušných extracelulárních enzymů tak probíhá postupně. V počátečních fázích mají největší aktivitu β -glukozidázy. Aktivita celuláz obecně vrcholí při 20-60 % zbývajícím organického materiálu. Po rozložení celulózy dochází ke zvýšení aktivity fenoloxidáz (Fioretto et al. 2007; Sinsabaugh 2010; Osono 2006).

Aktivita enzymů je dána vztahem mezi enzymem, jeho substrátem a produktem reakce (Wallenstein et al. 2009). Je značně proměnlivá a mimo jiné závisí na ekologických podmínkách, ve kterých se daný enzym nachází (Nannipieri 1994). Rychlost rozkladu organické hmoty obecně klesá se snižující se teplotou (Koch et al. 2007). V hlubších a zmrzlých vrstvách arktických půd se tak procesy spojené s rozkladem organické hmoty výrazně zpomalují až zastavují. To souvisí se sníženou činností mikroorganismů, dostupností biomasy a teplotou (Enowashu et al. 2009). Pomalá dekompozice obrovských zásob organické hmoty v arktické tundře ovšem vychází nejen z extrémního klimatu, ale velkou roli zde hraje také omezená dostupnost dusíku, který je důležitým stavebním prvkem enzymových molekul (Hobbie et al. 2000). Aktivita extracelulárních enzymů je dále ovlivňována půdní vlhkostí, hodnotou pH, nebo přítomností inhibitorů a aktivátorů (Tabatabai 1994).

Psychrofilní bakterie v Arktidě se chladnému klimatu přizpůsobily produkcí enzymů s nízkými teplotními optimy, což zajišťuje jejich funkci i v nehostinných arktických podmínkách (Huston et al. 2000).

1.5.1 Celulolytické enzymy

Rozklad celulózy (štěpení β -D glukosových podjednotek) může probíhat jak za aerobních tak i anaerobních podmínek. Anaerobní bakterie (*Clostridium sp.*) a houby mají celulolytické enzymy uspořádané do velkých komplexů - tzv. celulosomů (Fontes & Gilbert 2010). Aktinobakterie naopak využívají systém tvořený z nezávisle fungujících enzymů (Anderson et al. 2012). Degradace celulózy u Aktinobakterií zahrnuje rozklad celulózy na celobiózu vně buňky, její transport do buňky pomocí ABC transportéru (Schlösser et al. 1999) a intracelulární hydrolýzu vedoucí k tvorbě glukózy (Spiridonov et al. 2001).

Nejlépe prostudovanými celulólytickými Aktinobakteriemi je *Thermobifida fusca* a *Cellulomonas fimi* (Wilson 2004; Lykidis et al. 2007). Ve studii Anderson et al. 2012 byly na základě pokusů s čistými bakteriálními kulturami popsány další zástupci, z nichž největší celulólytickou aktivitu měli *Actinosynnema mirum*, *Cellulomonas flavigena* a *Xylanimonas cellulolytica*. Bakterie *Acidothermus cellulolyticus*, izolovaná z kyselých horkých pramenů (Yellowstone), dokáže díky produkci termostabilních enzymů degradovat celulózu i za vysokých teplot (Barabote et al. 2009). Mikroorganismy v arktických půdách naopak adaptují své enzymy tak, aby byly schopné katalyzovat rozklad organické hmoty i za velmi nízkých teplot (Gerday et al. 1997; Wallenstein et al. 2011).

1.5.2 Lignolytické enzymy

Nejrozšířenějším zástupcem vysokomolekulárních fenolických látek v přírodě je lignin. Je to druhý nejčastější organický biopolymer na Zemi, tvořící 25 % biomasy (Boerjan et al. 2003). Tato amorfní sloučenina patří díky své složité chemické struktuře k nejhůře rozložitelným složkám organické hmoty. Dominantními dekompozitory ligninu jsou houby (Paul & Clark 1996) a nově i Aktinobakterie. Využívají syntézu extracelulárních lignolytických enzymů nejen k získávání uhlíku a jiných živin, ale také ke zmírnění toxicity fenolických molekul a jako antimikrobiální ochranu (Patel et al. 2007). Nejdůležitější lignolytickými enzymy jsou fenoloxidázy a peroxidázy (Leonowicz et al. 1999). Lignolytické peroxidázy umí přímo oxidovat α C- β C vazby mezi jeho fenylypropanovými jednotkami. Obsahují prostetickou skupinu s ionty železa. Jejich funkce je závislá na přítomnosti peroxidu vodíku, který slouží jako elektronový akceptor (Griffin 1994).

1.5.2.1 Lignolytické bakterie

Za hlavní producenty lignolytických enzymů jsou stále považovány houby, ale poslední výzkumy ukazují, že lignolytickou aktivitu vykazují také některé skupiny bakterií (Bandounas et al. 2011). Ze skupiny α -proteobakterií byla popsána u *Sphingomonas* sp. (Masai et al. 1999), z γ -proteobakterií u *Pseudomonas* sp. (Delalibera et al. 2007). Mezi lignolytické Aktinobakterie patří zástupci z rodů *Rhodococcus*, *Nocardia* nebo *Streptomyces* (Bugg et al. 2011). Jako bakterie schopná využívat lignin jako zdroj uhlíku byl ve studiích Kerr & Holdom 1983 a Cartwright et al. 1973 uveden také *Arthrobacter* sp.

Produkce bakteriálních lignolytických enzymů zůstává dosud relativně neprozkoumána (Li et al. 2009). Protože houby jsou obecně náročnější na prostředí (Daniel & Nilsson 1998), mohli by převzít jejich úlohu v dekompozici organické hmoty v extrémních podmínkách (jako je arktické klima) celulólytické a lignolytické bakterie. Výhodou těchto bakterií může být výše zmíněná lepší environmentální adaptabilita a biochemická rozmanitost (Chandra et al. 2007). V porovnání s houbami také bakterie vykazují lepší enzymovou specifitu a termostabilitu (Masai et al. 2007; Kumar et al. 2008).

Cílem předložené práce bylo objasnit význam Aktinobakterií v arktických půdách, s důrazem na jejich roli při rozkladu organické hmoty v kryoturbačních horizontech.

2 Seznam literatury

Aislabie JM, Balks MR, Foght JM, Waterhouse EJ (2004) Hydrocarbon spills on Antarctic Soils: Effects and Management. *Environmental Science & Technology* 38: 1265-1274.

Anderson I, Abt B, Lykidis A, Klenk HP, Kyrpides N, Ivanova N (2012) Genomics of Aerobic Cellulose Utilization Systems in Actinobacteria. *PLoS ONE* 7: e39331.

Bandounas L, Wierckx NJP, Winde JH, Ruijssenaars HJ (2011) Isolation and characterization of novel bacterial strains exhibiting ligninolytic potential. *Biotechnology* 11: 94.

Barabote RD, Xie G, Leu DH, Normand P, Necsulea A, Daubin V, Médigue C, Adney WS, Xu XC, Lapidus A, Detter C, Pujic P, Bruce D, Lavire C, Challacombe JF, Brettin TS, Berry AM (2009) Complete genome of the cellulolytic thermophile *Acidothermus cellulolyticus* 11B provides insights into its ecophysiological and evolutionary adaptations. *Genome Research* 19: 1033-1043.

Basilio A, González I, Vicente MF, Gorrochategui J, Cabello A, González A, Genilloud O (2003) Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. *Journal of Applied Microbiology* 95: 814-823.

Bockheim JG, Tarnocai C (1998) Recognition of cryoturbation for classifying permafrost-affected soils. *Geoderma* 81: 281-293.

Boerjan W, Ralph J, Baucher M (2003) Lignin biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology* 54: 519-546.

Boylen CW, Mulks MH (1978) The survival of coryneform bacteria during periods of prolonged nutrient starvation. *Journal of General Microbiology* 105: 323-334.

Bugg TD, Ahmad M, Hardiman EM, Singh R (2011) The emerging role for bacteria in lignin degradation and bio-product formation. *Current opinion in biotechnology* 22: 394-400.

Cartwright NJ, Holdom KS (1973) Enzymic lignin, its release and utilization by bacteria. *Microbios* 8: 7-14.

- Daniel G, Nilsson T (1998) Developments in the study of soft rot and bacterial decay. Forest Products Biotechnology (eds. Bruce A, Palfreyman JW), Tayler & Francis Ltd, London: 37-62.
- Delalibera I, Vasanthakumar A, Burwitz BJ, Schloss PD, Klepzig KD, Handelsman J, Raffa KF (2007) Composition of the bacterial community in the gut of the pine engraver, *Ips pini* (Say) (Coleoptera) colonizing red pine. Symbiosis 43: 97-104.
- De Schrijver A, De Mot R (1999) Degradation of pesticides by actinomycetes. Critical Reviews in Microbiology 25: 85-119.
- Dmitriev VV, Suzina NE, Rusakova TG, Gilichinsky DA, Duda VI (2000) Ultrastructural characteristics of natural forms of microorganisms isolated from permafrost grounds of eastern Siberia by the method of low-temperature fractionation. Biological Science 378: 304-306.
- Enowashu E, Poll CH, Lamersdorf N, Kandeler E (2009) Microbial biomass and enzyme activities under reduced nitrogen deposition in a spruce forest soil. Applied Soil Ecology 43: 11-21.
- 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: 227-230.
- Fan F, Ghanem M, Gadda G (2004) Cloning, sequence analysis, and purification of choline oxidase from *Arthrobacter globiformis*: a bacterial enzyme involved in osmotic stress tolerance. Archives of Biochemistry and Biophysics 421: 149-158.
- Fioretto A, Papa S, Pellegrino A, Fuggi A (2007) Decomposition dynamics of *Myrtus communis* and *Quercus ilex* leaf litter: Mass loss, microbial activity and quality change. Applied Soil Ecology 36: 32-40.
- Fitzpatrick EA (1997) Arctic soils and permafrost. Ecology of Arctic Environments (eds. Woodin SJ, Marquiss M), Oxford: 1-40.
- Fontes CM, Gilbert HJ (2010) Cellulosomes: highly efficient nanomachines designed to deconstruct plant cell wall complex carbohydrates. Annual Review of Biochemistry 79: 655-681.

- 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.
- Gerday C, Aittaleb M, Arpigny JL, Baise E, Chessa JP, Garsoux G, Petrescu I, Feller G (1997) Psychrophilic enzymes: a thermodynamic challenge. *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology* 1342: 119-131.
- Gilichinsky D, Rivkina E, Bakermans C, Shcherbakova V, Petrovskaya L, Ozerskaya S, Ivanushkina N, Kochkina G, Laurinavichuis K, Pecheritsina S, Fattakhova R, Tiedje JM (2005) Biodiversity of cryopegs in permafrost. *FEMS Microbiology Ecology* 53: 117-128.
- Gilichinsky DA, Wagener S, Vishnivetskaya TA (1995) Permafrost microbiology. *Permafrost Periglac Process* 6: 281-291.
- Griffin DH (1994) *Fungal physiology*. 2nd edn. New York: Wiley-Liss, 458 p.
- Hagedorn C, Holt JG (1975). A nutritional and taxonomic survey of *Arthrobacter* soil isolates. *Canadian Journal of Microbiology* 21: 353-361.
- Helmke E, Weyland H (2004) Psychrophilic *versus* Psychrotolerant bacteria - occurrence and significance in polar and temperate marine habitats. *Cellular and Molecular Biology* 50: 553-561.
- Hobbie SE, Schimel JP, Trumbore SE, Randerson JR (2000) Controls over carbon storage and turnover in high-latitude soils. *Global Change Biology* 6: 196-210.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST (1994) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition.
- Hoover RB, Pikuta EV (2009) Psychrophilic and Psychrotolerant Microbial Extremophiles in Polar Environments (Chapter 5.) *Polar Microbiology - The Ecology, Biodiversity and Bioremediation Potential of Microorganisms in Extremely Cold Environments* (eds. Bej AK, Aislabie J, Atlas RM). CRC Press, 424p.
- Huston AL, Krieger-Brockett BB, Deming JW (2000) Remarkably low temperature optima for extracellular enzyme activity from Arctic bacteria and sea ice. *Environmental Microbiology* 2: 383-388.

- Chandra R, Raj A, Purohit H J, Kapley A (2007) Characterization and optimization of three potential aerobic bacterial strains for kraft lignin degradation from pulp paper waste. *Chemosphere* 67: 839-846.
- Chen M, Alexander M (1973) Survival of soil bacteria during prolonged desiccation. *Soil Biology and Biochemistry* 5: 213-221.
- Kerr TJ, Kerr RD, Benner R (1983) Isolation of a Bacterium Capable of Degrading Peanut Hull Lignin. *Applied and Environmental Microbiology* 46: 1201-1206.
- Khan MR, Williams ST (1975) Studies on the ecology of actinomycetes in soil – VIII. Distribution and characteristics of acidophilic actinomycetes. *Soil Biology and Biochemistry* 7: 345-348.
- Koch C, Schumann P, Stackebrandt E (1995) Reclassification of *Micrococcus agilis* (Ali-Cohen 1889) to the genus *Arthrobacter* as *Arthrobacter agilis* comb. nov. and emendation of the genus *Arthrobacter*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 45: 837-839.
- Koch O, Tscherko D, Kandeler E (2007) Temperature sensitivity of microbial respiration, nitrogen mineralization, and potential soil enzyme activities in organic alpine soils. *Global Biogeochemical Cycles* 21: GB4017.
- Kumar R, Singh S, Singh OV (2008) Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives. *Journal of industrial microbiology & biotechnology* 35: 377-391.
- Kushner DJ (1985) The Halobacteriaceae. *The Bacteria* 8: 171-214.
- Lazzarini A, Caveletti L, Toppo G, Marinelli F (2000) Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics. *Antonie van Leeuwenhoek* 78: 399-405.
- Leonowicz A, Matuszewska A, Luterek J, Ziegenhagen D, Wojtaś -Wasilewska M, Cho NS, Hofrichter M, Rogalski J (1999) Biodegradation of lignin by white rot fungi. *Fungal Genetics and Biology* 27: 175-185.
- Li J, Yuan H, Yang J (2009) Bacteria and lignin degradation. *Frontiers of Biology in China* 4: 29-38.

- Lo CW, Lai NS, Cheah HY, Wong NKI, Ho CC (2002) Actinomycetes isolated from soil samples from the Crocker Range Sabah. *ASEAN Review Biodiversity and Environmental Conservation* 9: 1-7.
- Lykidis A, Mavromatis K, Ivanova N, Anderson I, Land M, DiBartolo G, Martinez M, Lapidus A, Lucas S, Copeland A, Richardson P, Wilson DB, Kyrpides N (2007) Genome sequence and analysis of the soil cellulolytic actinomycete *Thermobifida fusca* YX. *Journal of Bacteriology* 189: 2477-2486.
- Männistö MK, Puhakka JA (2002) Psychrotolerant and microaerophilic bacteria in boreal groundwater. *FEMS Microbiology Ecology* 41: 9-16.
- Masai E, Katayama Y, Nishikawa S, Fukuda M (1999) Characterization of *Sphingomonas paucimobilis* SYK-6 genes involved in degradation of lignin-related compounds. *Journal of industrial microbiology & biotechnology* 23: 364-373.
- Masai E, Katayama Y, Fukuda M (2007) Genetic and biochemical investigations on bacterial catabolic pathways for lignin-derived aromatic compounds. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 71:1-15.
- McCarthy AJ, Williams ST (1992) Actinomycetes as agents of biodegradation in the environment - a review. *Gene* 115: 189-192.
- McKenzie RL, Bjorn LO, Bais A, Iayis M (2003) Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's Surface. *Photochemical & Photobiological Sciences* 2: 5-15.
- McNeill MM, Brown JM (1994) The medically important aerobic actinomycetes - epidemiology and microbiology. *Clinical Microbiology Review* 7: 357-417.
- 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: 51-54.
- Mikami Y, Miyashita K, Arai T (1985) Alkalophilic actinomycetes. *The Actinomycetes* 19: 176-191.
- Miteva VI, Sheridan PP, Brenchley JE (2004) Phylogenetic and physiological diversity of microorganisms isolated from a deep Greenland ice core. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 202-213.

- Mongodin EF, Shapir N, Daugherty SC, DeBoy RT, Emerson JB, Shvartzbeyn A, Radune D, Vamathevan J, Riggs F, Grinberg V, Khouri H, Wackett LP, Nelson KE, Sadowsky MJ (2006) Secrets of Soil Survival Revealed by the Genome Sequence of *Arthrobacter aurescens* TC1. PLOS Genetics 2: 2094-2106.
- Nannipieri P (1994) The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. Soil Biota: Management in Sustainable Farming Systems (eds. Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR, Grace PR): 238-244.
- Nannipieri P, Kandeler E, Ruggiero P (2002) Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. Enzymes in the Environment (eds. Burns RG, Dick RP): 1-33.
- Osono T (2006) Role of phyllosphere fungi of forest trees in the development of decomposer fungal communities and decomposition processes of leaf litter. Canadian Journal of Microbiology 52: 701-716.
- Patel VK, Yadav RSS, Yadav KDS (2007) Enzymatic characteristics of lignin peroxidases of indigenous lignolytic fungal strains - Part I. Indian Journal of Biotechnology 6: 553-556.
- Paul EA, Clark FE (1996) Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, San Diego, 340 p.
- Peterson RA, Krantz WB (2003) A mechanism for differential frost heave and its implications for patterned-ground formation. Journal of Glaciology 49: 69-80.
- Ping CL, Bockheim JG, Kimble JM, Michaelson GJ, Walker DA (1998) Characteristics of cryogenic soils along a latitudinal transect in Arctic Alaska. Journal of Geophysical Research 103: 28917-28928.
- Rivkina E, Gilichinsky D, Wagener S, Tiedje J, McGrath J (1998) Biogeochemical activity of anaerobic microorganisms from buried permafrost sediments. Geomicrobiology Journal 15: 187-193.
- Russell NJ, Hamamoto T (1998) Psychrophiles. Extremophiles: microbial life in extreme environments (eds. Horikoshi K, Grant WD), Wiley-Liss, New York: 25-45.
- Sanglier JJ, Haag H, Huck JA, Fehr T (1996) Review of actinomycetes compounds 1990 - 1995. Expert Opinion and Investigational Drugs 5: 207-223.

- Sheridan PP, Miteva VI, Brenchley JE (2003) Phylogenetic analysis of anaerobic psychrophilic enrichment cultures obtained from a Greenland glacier ice core. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 2153-2160.
- Shi T, Reeves RH, Gilichinsky DA, Friedmann EI (1997) Characterization of viable bacteria from Siberian permafrost by 16S rDNA sequencing. *Microbial Ecology* 33: 169-179.
- Schaefer K, Zhang T, Bruhwiler L, Barrett AP (2011) Amount and timing of permafrost carbon release in response to climate warming. *Tellus B* 63: 165-180.
- Schlösser A, Jantos J, Hackmann K, Schrempf H (1999) Characterization of the binding protein-dependent cellobiose and celotriose transport system of the cellulose degrader *Streptomyces reticuli*. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 2636-2643.
- Sinsabaugh RL (2010) Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology & Biochemistry* 42: 391-404.
- Soina V, Mulyukin AL, Demkina EV, Vorobyova EA, El-Registan GI (2004) The structure of resting bacterial populations in soil and subsoil permafrost. *Astrobiology* 4: 345-358.
- Soumare S, Blondeau R (1972) Microbiological properties of soils in Northern France: *Arthrobacter* extent. *Annales de l'Institut Pasteur. Microbiology* 123: 239-249.
- Spiridonov NA, Wilson DB (2001) Cloning and biochemical characterization of BglC, a β -glucosidase from the cellulolytic actinomycete *Thermobifida fusca*. *Current Microbiology* 42: 295-301.
- Steven B, Léveillé R, Pollard WH, Whyte LG (2006) Microbial ecology and biodiversity in permafrost. *Extremophiles* 10: 259-267.
- Stibor M, Králová B (2000) Psychrofilní a psychrotolerantní mikroorganismy, jejich adaptace a využití v moderních biotechnologiích. *Chemické Listy* 95: 91-97.
- Storz GT, Hengge-Aronis R (2000) Editors, *Bacterial Stress Responses* ASM Press, Washington, DC.
- Strohl WB (2003) Antimicrobials. *Microbial Diversity and Bioprospecting* (eds. Bull AT). American Society for Microbiology Press (Chapter 31), Washington, DC.
- Tabatabai MA (1994) Soil enzymes. *Methods of soil analysis* (eds. Page AL, Miller RH, Keeney DR): 775-833.

- Tarnocai C, Ping CL, Kimble J (2007) Carbon cycles in the permafrost region of North America. The first state of the carbon cycle report (SOCCR): The North American carbon budget and implications for the global carbon cycle (eds. King AW, Dilling L, Zimmerman GP, Fairman DM, Houghton RA, Marland G, Rose AZ, Wilbanks TJ). National Oceanic and Atmospheric Administration, National Climate Data Center (Chapter 12), Asheville.
- Tehei M, Zaccai G (2005) Adaptation to extreme environments: Macromolecular dynamics in complex systems. *Biochimica et Biophysica Acta* 1724: 404-410.
- Vishnivetskaya T, Kathariou S, McGrath J, Gilichinsky D, Tiedje J (2000) Low-temperature recovery strategies for the isolation of bacteria from ancient permafrost sediments. *Extremophiles* 3: 165-173.
- Vorobyova E, Soina V, Gorlenko M, Minkovskaya N, Zalinova N, Mamukelashvili A, Gilichinsky DA, Rivkina E, Vishnivetskaya T (1997) The deep cold biosphere: facts and hypothesis. *FEMS Microbiology Reviews* 20: 277-290.
- Vorobyova EA, Minkovsky N, Mamukelashvili A, Zvyagintsev DG, Soina VS, Polanskaya L, Gilichinsky DA (2001) Microorganisms and biomarkers in permafrost (eds. Papepe R, Melnikov V). *Permafrost Response on Economic Development, Environmental Security and Natural Resources*: 527-541.
- Walker DA, Romanovsky VE, Krantz WB, Ping CL, Peterson RA, Reynolds MK, Epstein HE, Jia JG, Wirth DC (2002) Biocomplexity of frost boil ecosystem on the Arctic Slope, Alaska. ARCUS 14th Annual Meeting and Arctic Forum 2002, Arlington, Virginia, USA.
- Wallenstein MD, McMahon SK, Schimel JP (2009) Seasonal variation in enzyme activities and temperature sensitivities in Arctic tundra soils. *Global Change Biology* 15: 1631-1639.
- Wallenstein M, Allison SD, Ernakovich J, Steinweg JM, Sinsabaugh R (2011) Controls on the Temperature Sensitivity of Soil Enzymes: A Key Driver of *In Situ* Enzyme Activity Rates (eds. Shukla G, Varma A). *Soil Enzymology, Soil Biology* 22 (Chapter 13).
- Watve MG, Tickoo R, Jog MM, Bhole BD (2001) How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*? *Archives of Microbiology* 176: 386-390.
- Willerslev E, Hansen AJ, Rønn R, Brand TB, Barnes I, Wiuf C, Gilichinsky D, Mitchell D, Cooper A (2004) Long-term persistence of bacterial DNA. *Current Biology* 14: R9-R10.
- Williams ST, Flowers TH (1978) The influence of pH on starch hydrolysis by neutrophilic and acidophilic streptomycetes. *Microbios* 20: 99-106.

Wilson DB (2004) Studies of *Thermobifida fusca* plant cell wall degrading enzymes. Chemical Record 4: 72-82.

Wynn-Williams DW (1990) Ecological Aspects of Antarctic Microbiology. Advances in Microbial Ecology 11: 71-146.

Zimov SA, Schuur EAG, Chapin FS (2006) Permafrost and the global carbon budget. Science 312: 1612-1613.

internetové zdroje:

<http://www0.nih.go.jp/saj/DigitalAtlas/subwin.cgi?section=1&fig=2C>

3 Rukopis článku

THE IMPORTANCE OF ACTINOBACTERIA IN ARCTIC SOIL

Hana Bošková¹, Jiří Bárta¹, Iva Kohoutová¹, Petr Čapek¹, Kateřina Diaková¹, Antje Gittel²,
Tim Urich³, Hana Šantrůčková¹, Andreas Richter⁴

¹Department of Ecosystem Biology, Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic

²Centre of Geobiology, Department of Biology, University of Bergen, Bergen, Norway

³Department of Genetics in Ecology, Vienna Ecology Center, University of Vienna, Vienna, Austria

⁴Department of Chemical Ecology and Ecosystem Research, Vienna Ecology Centre, Faculty of Life Sciences, University of Vienna, Vienna, Austria

ABSTRACT

Actinobacteria are widespread in soils. They are important organic matter degraders because of their ability to decompose complex biopolymers (e.g. cellulose and lignin). Approximately 50 % of the estimated global carbon pool is stored in Arctic soils. A significant portion of organic carbon is stored in cryoturbations. The aim of this work was to address the question how Actinobacteria in different soil horizons of Arctic would respond to increased temperature, specifically in cryoturbated horizons. In the present study we quantified Actinobacteria in different permafrost horizons, isolated and identified pure strains and screened them for the production of extracellular cellulolytic enzymes. The results showed the highest amount of Actinobacteria in top soil and the second highest amount was found in cryoturbation. Actinobacterial community in cryoturbations showed higher temperature sensitivity than Actinobacteria in top soil. Twenty-five different bacteria were isolated during enrichment cultivation at 12°C. Not only members of the phylum Actinobacteria, but also Bacteroidetes, Proteobacteria, Firmicutes and Fusobacteria were identified. All Actinobacterial strains belonged to the genus *Arthrobacter*. Two strains were potentially novel. Cellulolytic enzymes produced by *Arthrobacter* showed the highest enzyme efficiency.

NÁLEŽITOSTI PRO PREZENTACI PUBLIKACE VE STAGU

Bibliografické údaje:

Bošková H. (2013) Importance of Actinobacteria in Arctic soil. Mgr Thesis, in English - 52 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Stav publikace v procesu vedoucím k publikaci:

Publikace bude odeslána do vědeckého časopisu během jednoho měsíce.

Prohlášení studenta o podílu na publikaci:

Na publikaci jsem se podílela přibližně ze 75 %. Měla jsem hlavní podíl na provedení experimentů v laboratoři (qPCR, izolace DNA, příprava vzorků na sekvenace, izolace čistých kultur, enzymová kinetika) a práci jsem s pomocí školitele napsala.