

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta

**Charakterizace bakteriálního
společenstva v permafrostu Arktidy**

Bakalářská práce

Alžběta Hejlková

Školitel: Ing. Jiří Bárta, Ph.D.

České Budějovice 2022

Hejlková, A., 2022: Charakterizace bakteriálního společenstva v permafrostu Arktidy. [Characterization of the bacterial community in Arctic permafrost. Bc. Thesis, in Czech] – 36 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace

Tato práce se zaměřuje na složení a význam bakteriálních společenstev arktických půd. Jejím cílem je analýza DNA a RNA sekvencí získaných z různých hloubek a porovnání složení společenstev mezi různými scénáři tání arktického permafrostu. Zkoumání a porozumění struktur bakteriálních společenstev ve vrstvách arktických půd je důležitou prerekvizitou pro další výzkumy v oblasti polárních biotopů.

Annotation

This thesis focuses on the composition and importance of bacterial communities in Arctic soils. It aims to analyse DNA and RNA sequences obtained from different depths and to compare community composition between different Arctic permafrost thaw scenarios.

Exploring and understanding the structures of bacterial communities in Arctic soil layers is an important prerequisite for further research in polar habitats.

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

České Budějovice, 13.4.2022

.....

Alžběta Hejlková

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat svému školiteli Ing. Jiřímu Bártovi, Ph.D. za cenné připomínky a ochotu pomoci při vypracování bakalářské práce. Děkuji také za poskytnutí dat, která sloužila jako základ pro psaní mé bakalářské práce.

Mé osobní poděkování patří rodině za podporu při studiu, zvláště prarodičům za pravidelné telefonické kontroly.

Obsah

1	Úvod	1
2	Literární rešerše	2
2.1	Arktida	2
2.1.1	Arktická půda	2
2.1.2	Uhlík v permafrostu	4
2.1.3	Oteplování Arktidy	4
2.2	Bakteriální společenstvo v půdách Arktidy	5
2.2.1	Adaptační mechanismy bakterií na podmínky v permafrostu	6
2.2.2	Kmen <i>Actinobacteriota</i>	9
2.2.3	Kmen <i>Cyanobacteria</i>	10
2.2.4	Kmen <i>Myxobacteria</i>	10
2.2.5	Metanogenní <i>Archaea</i> a metanotrofi bakterie	10
2.2.6	Kmen <i>Acidobacteriota</i>	11
2.2.7	Kmen <i>Chloroflexi</i>	11
2.2.8	Kmen <i>Proteobacteria</i>	12
3	Cíle.....	12
4	Metody.....	12
4.1	Popis odběrových lokalit.....	12
5	Výsledky	13
5.1	Metagenomická analýza vrstev permafrostu Arktidy	13
6	Diskuse	18
7	Závěr	22
8	Seznam literatury.....	24

1 Úvod

Arktické oblasti jsou v posledních desetiletích středem pozornosti mnoha vědních oborů, včetně mikrobiální ekologie. V Arktidě probíhají četné studie například v oblasti mořských ledovců (Smith et al. 2022) nebo ekologie polárních ekosystémů. Svou stanicí zde provozuje i Jihočeská univerzita. Je umístěna na souostroví Svalbard a lze ji využívat pro vědecké účely. Aktuální pozornost vědců i široké veřejnosti se upírá směrem ke změnám klimatu a s nimi spojeným globálním oteplováním. Globální oteplování má za následek tání arktického permafrostu, čímž dochází k zpřístupnění do té doby nedostupného organického uhlíku mikrobiálnímu rozkladu a uvolňování skleníkových plynů do atmosféry.

Důležitou roli v půdním ekosystému Arktidy hrají bakterie osidlující permafrost. Díky rozkladu tajícího organického uhlíku (C), který Arktické půdy uchovávají ve velkém množství, se účastní jeho koloběhu. Recentní studie ukazují, že dominantními bakteriálními kmeny jsou *Acidobacteriota*, *Actinobacteriota*, *Chloroflexi* a *Proteobacteria* (Varsadiya et al. 2021).

Tato práce si klade za cíl v teoretické části představit klíčové bakteriální kmeny vyskytující se v arktických půdách, okolní prostředí a adaptační mechanismy, které tyto kmeny využívají, aby mohly v tak extrémním prostředí nejen přežít v pasivní formě, ale také aby byly schopné aktivního metabolismu a reprodukce. Cílem praktické části bakalářské práce bylo určení diverzity bakteriálních společenstev půd Arktidy na základě poskytnutých sekvenačních dat. K vyhodnocení diverzity bakteriálních kmenů v různých hloubkách a abiotických prostředích permafrostu byly použity sekvence získané z DNA, které umožňují studium celkového bakteriálního společenstva, a sekvence RNA, jejíž analýza umožňuje studium aktivně metabolizujících bakterií. DNA a RNA byly izolovány z permafrostu na dvou různých lokalitách představující různé scénáře odtávajícího permafrostu (tzv. „mokrý scénář“, kdy je půda nasycená vodou a více anaerobní a „suchý scénář“, kdy většina odtáté vody z permafrostu oteče a půda je sušší a více aerobní).

2 Literární řešerše

2.1 Arktida

Arktidou je nazývána oblast na severní polokouli nacházející se mezi polárním kruhem a severním pólem. Rozkládá se na území osmi států, kterými jsou USA, Norsko, Finsko, Rusko, Kanada, Island, Grónsko a Švédsko. Největší část Arktidy zaujímá Severní ledový oceán. Nejvyšší teploty se pohybují v rozmezí od 0 °C do +10 °C. Na celém území převládá vysoký tlak, který zapříčiňuje malé množství srážek (100–150 mm/rok). Oblast z velké části pokrývají ledovce a věčně zmrzlá půda (permafrost).

2.1.1 Arktická půda

Severní polokouli pokrývá permafrost, a to zhruba v rozsahu 23 milionů km², což představuje 25 % z celkového povrchu severní polokoule (Hrbáček a Nývlt 2019). Permafrost je součástí v Arktidě rozšířených půdních typů nazývaných jako kryosoly.

Permafrost je dle původní definice věčně zmrzlá půda. Avšak podle současných definic můžeme jako permafrost označit půdu, jejíž teplota nepřesáhne 0 °C, a to po dobu alespoň dvou za sebou jdoucích let (Hrbáček a Nývlt 2019, IPA © 2008–2015). Permafrost lze dělit v závislosti na množství obsažené vody v něm. V případě, že se jedná o permafrost bez obsahu vody, označujeme jej jako suchý. Dalšími možnostmi je přítomnost vody ve stavu zmrzlém, nezmrzlém nebo jen částečně zmrzlém. Částečně zmrzlým permafrostem se myslí permafrost obsahující vodu i led (Dobinski 2011).

Nížinné permafrostové oblasti lze členit dle pokryvu a členitosti permafrostu na souvislý, nesouvislý a sporadický permafrost, při kterém se často vyskytuje terén bez permafrostu a rozložení permafrostu je nejednotné (IPA © 2008–2015). Permafrost je unikátní, díky své stabilitě teplot pod bodem mrazu (Hansen et al. 2007) umožňuje přežívat mikroorganismům v zakonzervovaném stavu až miliony let (Vorobyova et al. 1997). Co se týče chemických vlastností permafrostu s rostoucí hloubkou klesá dostupnost organického uhlíku, zvyšuje se množství humínových látek (Wagner et al. 2005) a redoxní potenciál (Frank-Fahle et al. 2014).

Nad věčně zmrzlým permafrostem je lokalizovaná takzvaná aktivní vrstva permafrostu. Jedná se o tu část půdy, která na jaře do určité hloubky rozmrzá. Na této vrstvě závisí život v půdních substrátech, protože je bohatá na organický uhlík. Naopak

v blízkosti permafrostu se vyskytuje anoxické, chladné prostředí, kde probíhá konkurence o vodík a oxid uhličitý (Frank-Fahle et al. 2014).

Permafrost a aktivní vrstva jsou od sebe odděleny nepropustným ledem, který zabraňuje výměně plynů a živin mezi vrstvami. Dle měření fyzikálně-chemických vlastností byla na hranici věčně zmrzlé půdy naměřena oproti aktivní vrstvě a zmrzlé půdě lehce vyšší salinita, vyšší koncentrace rozpuštěného i celkového uhlíku, dusíku i fosforu (Gentsch et al. 2015). V této části půdy byla také oproti zmrzlému permafrostu naměřena nižší vlhkost, což může být následek promrzání nebo slabé infiltrace (Wilhelm et al. 2011).

Arktické půdy mají některé jedinečné fyzikální projevy odlišující je od ostatních typů půd. Jsou jimi zejména deformované a porušené horizonty, tvorba ledových čoček a vyšší množství vertikálně nerovnoměrně rozložené půdní organické hmoty (Ping et al. 1998). Tyto vlastnosti arktických půd vychází z procesů, jako je tvorba přízemního ledu nebo kryoturpace (Ping et al. 1998).

Kryoturpace je proces, při němž dochází působením teplot pod bodem mrazu k prostorovým změnám v půdě. Voda obsažená v půdě začne zamrzat, zvětšovat svůj objem a tím vytvářet tlak, kterým působí na horniny v okolí. Ty se pod vlivem vysokého tlaku pohybují. Jejich pohyby vedou k víření a vzniku typických struktur.

Kryoturpace má vliv nejen na morfologické vlastnosti půd, ale také na chemické a fyzikální vlastnosti. Zapříčiňuje například vysoký obsah organického uhlíku i v hlubších vrstvách permafrostu, který je způsoben promícháváním organických materiálů z povrchu (Bockheim a Tarnocai 1998). Jako kryoturpace se mimo jiné označují i oblasti bohaté na organický materiál, které byly dříve součástí svrchních půd, avšak nyní jsou pohřbené hlouběji pod povrchem (Bárta et al. 2020).

Další útvary, které lze v permafrostu najít jsou kryopegy. Kryopegy můžeme označit za jakési kapsy naplněné tekutinou, které jsou umístěné pod povrchem permafrostu (Iwahana et al. 2021, Gilichinsky et al. 2003, 2005). Kapalina v kryopezích kvůli vysokému obsahu solí a jiných rozpuštěných látek nezamrzá, a to ani při teplotách pod bodem mrazu (Iwahana et al. 2021, Gilichinsky et al. 2003, 2005). Kromě kapalin se v kryopezích vyskytuje také metan, který při nahromadění působí vysokým tlakem a zapříčiní vytrysknutí kapaliny na povrch. Kryopegy jsou charakteristické stabilní teplotou pod bodem mrazu po celý rok. Dle dostupných studií byla pozorována tato teplota v Sibiřských kryopezích

v rozsahu od -9 °C do -11 °C (Gilichinsky et al. 2005) a v krypoezích na Aljašce byl tento rozsah od -6 °C do -8 °C (Colangelo-Lillis et al. 2016).

Dalšími půdními formacemi, které permafrost vytváří jsou polygony. Vznikají jako půdní trhliny a shromažďuje se v nich voda zachycená vrstvou permafrostu (Klappenbachová ©2022). Tyto polygony jsou si ve druhovém složení bakterií podobné. A to i v případě že jsou od sebe vzdálené až desítky kilometrů. Na druhou stranu se v nich nachází i řada mikroorganismů jedinečných pro daný polygon, které jsou charakterizované specifickým prostředím. Společným pozorovaným trendem pro polygony je přibývání bakterií z kmene *Bacteroidetes* a ubývání *Alpha* – a *Betaproteobacteria* směrem od aktivní vrstvy k hranici permafrostové vrstvy (Frank-Fahle et al. 2014).

2.1.2 Uhlík v permafrostu

Permafrost se v Arktidě zachoval ze stepně-tundrového ekosystému doby ledové (Zimov et al. 2006), kde se rozrůstal tak, že se na humus chudé částice hlíny přenášené větrem nebo vodou hromadily na povrchu půd. Spodní část aktivní rozmrazující vrstvy se stala další součástí permafrostu. Navzdory malému obsahu humusu jsou tyto přinášené částice bohaté na organický uhlík (C), jehož obsah může být 10 až 30krát vyšší než u rozmrzlých minerálních půd (Zimov et al. 2006). V několika studiích bylo zjištěno, že v arktickém regionu je uchováno do metrové hloubky horní části permafrostu zhruba 50 % celosvětového obsahu půdního C (Tarnocai et al. 2009, Michaelson et al. 1996). Půdní mikroorganismy tuto na uhlík bohatou organickou hmotu aktivně rozkládají a využívají ji k růstu a energetickému metabolismu, jehož výslednými produkty jsou CO₂ nebo CH₄ v případě mineralizace (Bárta et al. 2020). V anaerobních podmínkách půdní mikroorganismy produkují převážně CH₄. Tato situace nastává například když je půda zaplavená a difuze kyslíku je omezená. V opačném případě, za aerobních podmínek, mikroorganismy produkují více CO₂ (Bárta et al. 2020). Zimov et al. (2006) ve své studii poukazují na schopnost uhlíku zůstat v hlubších částech půdy ve zmrzlém stavu stovky až miliony let, ale i na jeho relativně vysokou rozložitelnost a schopnost rychlého uvolnění do atmosféry po rozmrznutí permafrostu.

2.1.3 Oteplování Arktidy

Box et al. (2019) provedli v letech 1971–2017 studii, ve které ukázali, že teplota vzduchu každých deset let vzrůstá v Arktidě v chladném období o 0,7 °C a v teplém období

o 0,4 °C. Dále bylo zjištěno pomocí vrtů rozmístěných po celé Arktidě, že v letech 2007-2016 došlo k oteplení tamějších půd o 0,4 °C v oblastech se souvislým permafrostem a o 0,2 °C v oblastech s nesouvislým permafrostem (Biskaborn et al. 2019). Vědci se shodují, že s globálním oteplováním a odtáváním permafrostu se zásobárny uhlíku stávají přístupnější mineralizaci a rozkladu půdními mikroorganismy, které jsou se zvyšující se teplotou aktivnější. Výraznější aktivita mikroorganismů vede k rozkladu organického materiálu a k zvýšenému uvolňování oxidu uhličitého do atmosféry (Bárta et al. 2020). Tento jev zapříčiněný klimatickými změnami může vyústit ve dva možné extrémní scénáře. Jedná se o tzv. „suchý“ a „vlhký“ scénář.

„Suchý“ scénář

V případě suchého oxického scénáře dojde k odvodnění svrchních částí půd a k vyšší aktivitě aerobních mikroorganismů a efektivnějšímu a rychlejšímu rozkladu půdního organického C, kterého se účastní aerobní bakterie a houby. Suché podmínky podporují růst kořenů do větší hloubky a tím se hlouběji do půdy dostává i C (Evgrafova et al. 2018). Za aerobních podmínek bakterie a houby účinněji rozkládají komplexní organické látky (např. polyfenoly jako je lignin).

„Vlhký“ scénář

Naopak v případě vlhké anoxické varianty zůstanou vrstvy půdy zaplaveny a vznikne anoxické prostředí, ve kterém dojde ke snížení aerobní aktivity mikroorganismů. Anaerobní živočichové nemají tak účinné enzymy jako ty aerobní, tudíž prostředí s nízkým obsahem kyslíku pravděpodobně vyústí v omezení schopnosti mikroorganismů rozkládat látky zejména lignin. Mineralizace v anoxickém prostředí je energeticky méně výtečná. Anoxické prostředí je vhodným prostředím pro psychrotolerantní a fakultativně nebo obligátně anaerobní rozkladače (Gittel et al. 2014).

2.2 Bakteriální společenstvo v půdách Arktidy

Bakterie představují velkou část půdních mikroorganismů. Jejich množství v půdách se odhaduje na více než je 10^9 buněk na gram půdy s diverzitou kolem 10^5 různých genomů (Goldfarb et al. 2011). V permafrostu bylo množství bakterií odhadnuto na 10^5 - 10^8 buněk na gram vzorku suché hmotnosti půdy (Gilichinsky et al. 2003).

Role bakterií v půdách Arktidy je velice významná. Účastní se procesů rozkladu biomasy a hrají důležitou roli ve správném koloběhu uhlíku. V Arktidě mikroorganismy

obsadily jak aktivní vrstvu, tak věčně zmrzlý permafrost. V aktivní vrstvě se vyskytuje 100 až 1000krát více životaschopných buněk než v zmrzlém permafrostu, avšak zmrzlá půda překvapivě vykazuje větší diverzitu izolovaných buněk (Wilhelm et al. 2011). Ewert a Deming (2014) měřením ukázali, že bakterie v hlubších vrstvách ledu zažívají stabilnější prostředí než bakterie žijící v blízkosti povrchu mořského ledu a pokryvu slané sněhu.

Mezi mikrobiálními společenstvy aktivní vrstvy a permafrostu existují kvůli různým podmínkám značné rozdíly, jako například mikrobiální společenstva trvale zmrzlého permafrostu mají vyšší respirační rychlost způsobenou právě adaptací na život v podmínkách, kde se teplota nachází v stupních pod bodem mrazu (Waldrop et al. 2010). Velmi důležitou podmínkou pro život a fungování metabolismu bakterií je teplota. S poklesem teplot se zpomalují fyziologické procesy bakterií. Jakkoliv se od sebe odlišují mikrobiální společenstva těchto dvou prostředí, u obou se v průběhu času mění počet buněk, avšak jejich struktura zůstává zachovaná (Ewert a Deming 2014).

Z permafrostu byla již posbírána data o celé řadě bakterií, mezi nimiž nechybí aerobní a anaerobní heterotrofní mikroorganismy, metanogenní *Archaea*, bakterie redukující železo a síru, nitrifikační a dusík vázající bakterie (Steven et al. 2006). Přes 30 známých druhů včetně *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Exiguobacterium*, *Myxococcus*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Rhodococcus*, *Cellulomonas*, *Streptomyces* bylo popsáno v rozličných studiích (Vorobyova et al. 1997, Gilichinsky 1995, Shi et al. 1997).

2.2.1 Adaptační mechanismy bakterií na podmínky v permafrostu

Pro bakterie vyskytující se v extrémních prostředích je klíčové zvládnutí adaptačních mechanismů, které jim umožní nejen takovéto podmínky přežít, ale také zprostředkují obývání tohoto nehostinného prostředí po delší dobu.

Permafrost je řazen mezi extrémní prostředí z řady důvodů. Stresové podmínky zahrnují vysoké nebo naopak nízké hladiny salinity, vysoké nebo nízké hodnoty pH, teploty pod bodem mrazu, opakující se cykly zamrzání a roztávání půdy, dlouhé období tmy během zimního období (Hoover a Pikuta 2010), pomalý transport živin a metabolitů (Steven et al. 2006) nebo vystavení vysoké úrovni ultrafialového UVB (280-314 nm) záření v období léta (Knudsen et al. 2005). Toto ultrafialové záření je pro živé organismy zhoubné, protože je

schopné degradovat nebo narušovat bílkoviny a jiné organické sloučeniny důležité pro správné fungování důležitých životních funkcí.

Adaptace na nízké teploty

Za jeden z klíčových stresových faktorů, na který si mikroorganismy vytvořily rozličné adaptační mechanismy, je chlad. Mezi nejdůležitější adaptace řadíme regulaci tekutosti (fluidity) buněčné membrány (Methé et al. 2005), která je umožněná změnou délky uhlovodíkových řetězců, vyšším zastoupením dvojných vazeb, přítomností různých mastných kyselin v lipidech a různým množstvím cholesterolu. Tekutost membrány klesá s klesající teplotou a ovlivňuje například buněčné signalizace, transport membránovými proteiny do/z buňky. Součástí adaptivních mechanismů je také akumulace molekul, která snižuje krystalizaci vody uvnitř buněk (Walker, Palmer a Voordouyergergw 2006).

Proti náhlému poklesu teplot se mikroorganismy chrání pomocí takzvaných proteinů teplotního šoku. Regulací těchto proteinů se mohou psychrofilní a psychrotrofní bakterie na rozdíl od mezofilních a termofilních bakterií velmi nízkým teplotám nejen přizpůsobit, ale dokonce při nich růst (Phadtare et al. 1999).

Další možnou odpovědí na náhlý pokles teploty je zastavení růstu, čímž dojde k zablokování metabolických drah produkující běžné proteiny (Jones et al. 1987). Odpověď chladového šoku byla intenzivněji studována na proteinu *Escherichie coli* CspA (cold shock protein A) (Phadtare et al. 1999), jehož regulace je na úrovni transkripce, stability mRNA a translace (Gerday a Glansdorff 2007). Homologie tohoto proteinu jsou široce rozšířeny mezi ostatními druhy bakterií (Phadtare et al. 1999). U sinic nebyly tyto homologní proteiny dosud popsány, při poklesu teplot jsou u nich aktivovány RNA vázající proteiny (Ato 1995).

Další strategie jsou důležité pro příjem uhlíku a s ním spojené překonání teplotně závislých bariér a změny ve složení proteomu pravděpodobně indikující navýšení enzymatické činnosti při nízkých teplotách (Methé et al. 2005).

Adaptace na salinitu prostředí

Mikroorganismy musí čelit také vysoké salinitě. Takové prostředí se vyskytuje ve výše zmíněných útvarech označovaných jako kryopegy nacházejících se pod zmrzlým permafrostem. Adaptace mikroorganismů na tyto podmínky, které umožňují jejich dominanci v neměnných extrémních podmínkách zůstávají však stále neobjasněné (Rapp et al. 2021). Studie navzdory tomu přinesla určité poznatky, kterými se mikroorganismy

v těchto útvarech odlišují. Rapp et al. (2021) zjistili, že mikroorganismy v kryopezích více investují do stavby buněčných obalů, a to konkrétně do transportu fosfolipidů a biosyntézy mastných kyselin, peptidoglykanu, lipopolysacharidů a lysinu.

Adaptace k vyrovnání osmotického tlaku

Mikroorganismy potřebují stále vyrovnávání osmotického tlaku, aby nedošlo k plazmolýze nebo plazmoptýze. Způsob, jak se vyrovnat s tímto stresovým faktorem, je pomocí osmolytů, malých molekul produkovaných v cytoplazmě. Díky různému osmotickému tlaku uvnitř a vně buněk může dojít ke dvěma extrémním scénářům. Plazmolýza nastává, pokud je osmotický tlak vyšší v okolním prostředí. Důsledkem je prostup vody ven z vnitřního prostředí a degradace buňky. Naopak při plazmoptýze voda proudí do buňky, kde je tlak vyšší než v prostředí. Buňka se postupně plní až nakonec praskne. Pokud dochází k zvyšování osmolarity okolí, začnou bakterie hromadit rozpuštěné látky, jako jsou glycin betain a prolin, které jsou souhrnně označovány jako kompatibilní sloučeniny (Ewert a Deming 2014). Kompatibilní sloučeniny představují rozpuštěné látky nenarušující metabolismus. Hromadí se v cytoplazmě přímou syntézou nebo díky transportu z okolí (Antón 2011). Naopak na snížení osmolarity bakterie reaguje otevřením mechanosenzitivních kanálů, pomocí nichž dojde k rychlému uvolnění rozpuštěných látek (Ewert a Deming 2014).

Extremofilní mikroorganismy

Extremofilní mikroorganismy se dokázaly pomocí různorodých mechanismů adaptovat na stresové podmínky, které život v polárních oblast přináší, a utvořily tak významnou a dominantní složku arktického společenstva mikroorganismů (Hoover a Pikuta 2010).

V již zmíněných kryopezích s vysokým množstvím solí a teplotách pod bodem mrazu zjistili Rapp et al. (2021) pomocí izolace a sekvenace DNA přítomnost pouze několika taxonů. Nejvíce zastoupeným rodem byl rod *Marinobacter*.

Extremofilní mikroorganismy můžeme rozdělit na psychrofilní a psychrotolerantní bakterie.

Psychrofilní bakterie

Za psychrofilní bakterie označujeme ty bakterie, pro které je 15 °C nebo méně optimální teplotu pro růst, 20 °C nejvyšší možnou teplotu pro růst a 0 °C a méně nejnižší možnou teplotou pro růst (Morita 1975).

Jedním ze zástupců psychrofilních bakterií, který byl izolován z permafrostu, je bakterie *Nestrenkonina* sp. (Singh et al. 2021). Byly na ní provedeny genomické analýzy a bylo zjištěno, že není virulentní ani patogenní (Singh et al. 2021). Singh a jeho kolegové (2021) dále zjistili, že k ochraně vůči chladovému stresu je vybavena proteiny, které se podílejí na změnách tekutosti membrány, osmotické a oxidační stresové odpovědi.

Psychrotolerantní bakterie

Optima pro růst psychrotolerantních bakterií se nachází ve stejném rozsahu jako u mezofilních organismů a to mezi 20 a 40 °C (Hoover a Pikuta. 2010). Četné rozšíření psychrotolerantních mikroorganismů v chladných prostředích vysvětlují ve své studii Hoover a Pikuta. (2010) tím, že je to možná způsobeno lepší nutriční přizpůsobivostí nebo získáním genů horizontálním přesunem od mezofilních organismů.

2.2.2 Kmen *Actinobacteriota*

Actinobacteriota jsou početnou a diverzifikovanou skupinou bakterií, kterou řadíme mezi grampozitivní bakterie s DNA bohatou na guanin a cytosin (Ventura 2007). Zástupci kmene *Actinobacteriota* jsou rozšíření v terestrickém i vodním prostředí a byli dříve řazeni k houbám, kvůli tvorbě vláknitých kolonií připomínající houbová mycelia (Anandan 2016). Sekvenace genomu zástupců kmene *Actinobacteriota* výrazně přispěla k porozumění genetiky, fyziologie a evolučního vývoje těchto bakterií (Ventura 2007). V půdě plní významnou roli při tvorbě humusu a při recyklaci biomateriálů. Fungují jako dekompozitoři různých druhů polymerů z odumřelých rostlin, živočišných a houbových materiálů. Někteří zástupci dokáží jako jedni z mála mikroorganismů rozkládat celulózu a chitin, druhý nejzastoupenější zdroj uhlíku v přírodě (Lewin et al. 2016). Jsou významní při produkci antibiotik, enzymů, vitaminů, pigmentů, fytohormonů a povrchově aktivních látek (Anandan 2016), díky čemuž jsou hojně užíváni pro farmakologické a komerční účely. Mezi rody kmene *Actinobacteriota* se nacházejí i ty pro člověka patogenní (*Corynebacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus*).

Jak vyplývá ze studie Wilhelma et al. (2011), právě kmen *Actinobacteriota* tvořil dominantní složku (26 %) zmrzlého permafrostu a zároveň vykazoval největší diverzitu společenstev v rámci různých vrstev. Celkově větší výskyt kmene *Actinobacteriota* v permafrostu podporuje teorii, že příslušníci tohoto kmene, kteří netvoří spóry, se přizpůsobily formě dlouhodobé nízkenergetické anabiózy, která jim umožňuje přežít po delší dobu v kryoprostředí, jako je permafrost (Johnson et al. 2007).

2.2.3 Kmen *Cyanobacteria*

Cyanobacteria (sinice) jsou nejrozšířenějšími fotoautotrofy žijícími v polárních prostředích a jsou vysoce odolné proti ultrafialovému záření a vysychání. Díky své schopnosti fixovat CO₂ a N₂ hrají významnou roli při koloběhu dusíku a uhlíku (Makhalanyane et al. 2015). O diverzitě a počtu sinic v půdě rozhodují fyzikální a chemické faktory, jako je množství vody v ní obsažené, struktura půdy i množství dusíku (Kaštovská et al. 2005).

Množství aktivních sinic je v permafrostu mnohonásobně menší než množství heterotrofních bakterií (Kaštovská et al. 2005), ale i ve vzorku permafrostu z hloubky 2 m byl detekován klíčový enzym fixující N₂ u sinic (nitrogenáza) (Yergeau et al. 2010). V Arktidě byly sinice objeveny v hypolitech, endolitech a krykonitech (Stibal et al. 2006). V hypolitech byly identifikovány druhy zahrnující *Gloeocapsa cf. atrata* Kützing, *Gloeocapsa cf. punctata* Nägeli, *Gloeocapsa cf. kuetzingiana* Nägeli (Cockell a Stokes 2004). Arktické endolity zahrnovaly druhy jako *Nostoc sp.*, *Loriellopsis sp.* a *Chroococcidiopsis sp.* (Ziolkowski et al. 2013).

2.2.4 Kmen *Myxobacteria*

Kmen *Myxobacteria* je jedinečný svým způsobem života, ve kterém se bakterie přemísťují po povrchu v rojích pomocí klouzavého pohybu (Mohr 2018). Ve švédské arktické tundře byly zjištěny čtyři druhy: *Myxococcus fulvus*, *Myxococcus virescens*, *Corallococcus corallodes* a *Archangium Gephyra* (Norén 1952). *Myxobacteria* představují významný zdroj biologicky aktivních sekundárních metabolitů. Mnohé z těchto přibližně 600 popsaných látek vykazují antibakteriální, antimykotickou nebo cytostatickou aktivitu.

2.2.5 Metanogenní *Archaea* a metanotrofi bakterie

Metanogenní *Archaea* byly pozorovány v aktivní vrstvě i v zmrzlém permafrostu, kde byla pomocí analýzy qPCR zjištěna přítomnost genu kódující methyl-koenzym M reduktázu (*mcrA* gen). Methyl-koenzym M reduktáza představuje ústřední gen při tvorbě

methanu a slouží k přesné identifikaci metanogenních archaeí. Z permafrostu byly identifikovány všechny dosud známe metanogenní *Archaea* jak hydrogenotrofní, tak acetoklastický, včetně rodů *Methanomicrobia*, *Methanobacteria*, *Methanococci* a *Methanopyri* (Yergeau 2010). Nejvyšší aktivita metanogenů byla naměřena v hloubkách s nejvyšším množstvím dostupného uhlíku (Wagner et al. 2005). Metanogenní *Archaea* dominují ve svrchních vrstvách permafrostu, kde se podílejí katalyzací na posledním kroku rozkladu organického uhlíku (Frank-Fahle et al. 2014). Společenstva metanogenních bakterií mohou být ovlivněna kořenovým systémem vegetace, který poskytuje nízkomolekulární látky (Frank-Fahle et al. 2014).

Oproti tomu metanotrofní bakterie se významně podílejí na oxidaci metanu a na snižování jeho obsahu v atmosféře. Důležitou součástí tohoto procesu je přítomnost enzymu methanmonooxygenáza, který umožňuje přeměnu methanu na methanol (Altshuler et al. 2022). Altshuler et al. (2022) ve své studii dokázali pomocí značení $^{13}\text{CH}_4$ -SIP in situ a sekvenování ampliconů identifikovat jeden z dosud málo popsáných metanotrofních rodů rod *Methylocapsa*, který se účastní oxidace metanu v oligotrofních krysolech Arktidy.

2.2.6 Kmen *Acidobacteriota*

Kmen *Acidobacteriota* bývá dominantní složkou (většinou kolem 30 %) mikrobiomu aktivní vrstvy permafrostu (Wilhelm et al. 2011). Z arktických půd bylo identifikováno mnoho zástupců kmene *Acidobacteriota* zahrnující mimo jiné druhy *Granulicella mallensis*, *Granulicella tundricola* a *Terriglobus saanensis*. Studie odhalila geny a biochemické mechanismy, které umožňují rozklad, využití a biosyntézu různých zásobních a strukturních polysacharidů a vyrovnání s častými změnami teplot a malou dostupností živin. *Acidobacteriota* významně přispívají k rozkladu biomasy a k správnému koloběhu uhlíku (Rawat et al. 2012).

2.2.7 Kmen *Chloroflexi*

Kmen vláknitých bakterií *Chloroflexi* získal svůj název díky fotosyntetizujícímu zelenému pigmentu, který je obsažen v speciálních těliscích – chlorozomech. Tento kmen je různorodou skupinou mikroorganismů zahrnující fototautotrofy, termofilní a anaerobní bakterie (Garrity et al. 2001). Byly u nich objeveny molekulární struktury CSI (conserved signature indels) v proteinech, které jsou specifické pro tento kmen. Díky použití těchto struktur jako markerů lze tento kmen odlišit od ostatních bakteriálních skupin (Gupta 2013). *Chloroflexi* hrají v půdě významnou roli při fermentaci cukrů, degradaci zbytků

bakteriálních buněk a rozkladu složitých polymerních organických sloučenin na nízkomolekulární substráty, čímž přispívají k růstu heterotrofních bakterií (Speirs et al. 2019).

2.2.8 Kmen *Proteobacteria*

Gramnegativní kmen *Proteobacteria* je velkou, vysoce diverzifikovanou skupinou bakterií. *Proteobacteria* jsou důležité pro správný koloběh uhlíku, dusíku a síry (Spain, Krumholz a Elshahed 2009). *Proteobacteria* jsou dále děleny do pěti tříd: *Alpha-*, *Beta-*, *Gamma-*, *Delta-* a *Epsilonproteobacteria*. Zástupci třídy *Alphaproteobacteria* jsou oligotrofní bakterie, schopné života v prostředí, které je chudé na živiny. Takovýmto prostředím jsou hlubší vrstvy půd. Eutrofní třída *Betaproteobacteria* se často vyskytuje na rozhraní aerobního a anaerobního prostředí. Do třídy *Gammaproteobacteria* patří fakultativně anaerobní skupina *Enterobacteriaceae* schopná fermentace cukrů. Zástupci bakterií, kteří redukuje sírany patří do třídy *Deltaproteobacteria*. Nejmenší třídou je třída *Epsilonproteobacteria*. Bakterie patřící do této třídy potřebují ke svému životu jen malé množství kyslíku. Kmen *Proteobacteria* obsahuje i pro člověka patogenní zástupce

3 Cíle

Cílem bylo porovnat celkové složení bakterií (DNA analýza) a složení aktivních (RNA analýza) bakterií v různých hloubkách aktivní vrstvy permafrostu a mezi jednotlivými scénáři tání permafrostu.

4 Metody

4.1 Popis odběrových lokalit

Vzorky půdy byly odebrány z různých hloubek a lokalit („suchý scénář, mokrá scénář, kontrolní plocha) v roce 2019 ve vytípaných lokalitách v okolí města Fairbanks, Aljaška. Byly rozděleny do několika kategorií dle hloubky 0-15 cm, 16-30 cm, 31-45 cm, 46-60 cm, 61-75 cm, 76-90 cm, 91-105 cm a 160-120 cm. Vzorky půdy byly fixovány pomocí roztoku LifeGuard (MoBio, USA), aby se zabránilo degradaci DNA a RNA. Po převezení do laboratoře byla izolována DNA a RNA pomocí kitu Power Soil RNA/DNA extraction kit (MoBio, USA). Byla změřena koncentrace DNA/RNA pomocí fluorimetru, kvalita byla ověřena pomocí elektroforézy. 40ul z každého vzorku o koncentraci 1ng/ul bylo zasláno na sekvenční analýzu 16SrRNA genu (hypervariabilní úsek V3-V4). Bylo získáno cca 1,5miliony sekvencí z celkem 75 vzorků permafrostu (průměr 20 000

sekvencí/vzorek). Následná bioinformatická analýza zahrnovala odfiltrování málo kvalitních sekvencí, určení operativních taxonomických jednotek (tzv. OTU) na základě 97% podobnosti v sekvenci 16SrDNA a vytvoření tzv. OTU tabulky (zastoupení jednotlivých OTU v různých vzorcích). OTU tabulka byla poskytnuta školitelem pro následné vyhodnocení v programu STAMP v 2.0.9 (Statistical Analysis of Metagenomic Profiles).

5 Výsledky

5.1 Metagenomická analýza vrstev permafrostu Arktidy

Je třeba upozornit na fakt, že počet kopií genů 16SrRNA se v genomu, tj. v DNA, pohybuje od 1 do 15. Ovšem počet 16SrRNA v celkové RNA je mnohem vyšší, jelikož rRNA je součástí aktivních ribozomů, kterých můžou být v buňce stovky až tisíce kopií. Nižší nebo vyšší zastoupení jednotlivých skupin bakterií a zastoupení rRNA/rDNA může ukazovat na oligotrofní/kopiotrofní charakter jednotlivých skupin bakterií.

Nejprve byly pozorovány domény *Bacteria* a *Archaea*. Data ukazují, že dle DNA sekvencí dominuje ve všech hloubkách doména *Bacteria*. Nejvíce vzorků domény *Archaea* bylo v hloubkách 31-45 cm, kde tvořily přibližně 0,75 % celého prokaryotického společenstva (Tab. 1). Doména *Archaea* byla zastoupena i ve všech ostatních hloubkách. Tabulka 2 ukazuje zastoupení bakteriálních domén ve všech hloubkách zkoumaných lokalit dle RNA sekvencí. Lze pozorovat 100% zastoupení domény *Bacteria* v hloubkách 0-15 cm a 106-120 cm. Doména *Archaea* měla největší zastoupení v hloubce 46-60 cm. V ostatních hloubkách se vyskytovala minimálně.

Tabulka 1.: Procentuální zastoupení celkových *Archaea* a *Bacteria* v hloubkách 0-120 cm.

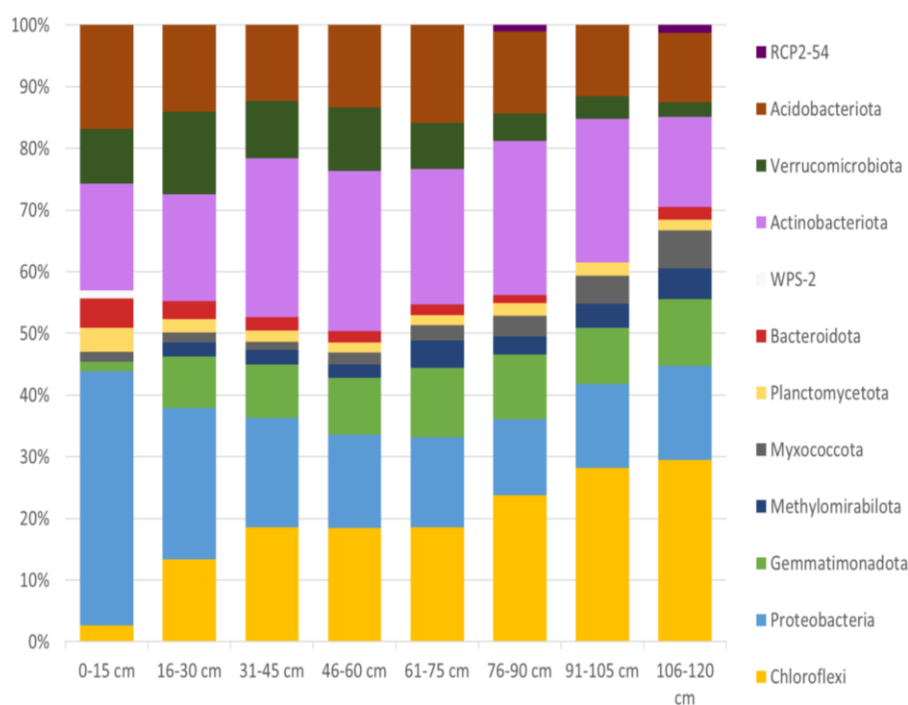
Hloubka (cm)	0-15	16-30	31-45	46-60	61-75	76-90	91-105	106-120
<i>Archaea</i> (%)	0,02	0,2	0,8	0,3	0,2	0,3	0,6	0,6
<i>Bacteria</i> (%)	99,98	99,8	99,2	99,7	99,8	99,7	99,4	99,4

Tabulka 2.: Procentuální zastoupení aktivních Archaea a Bacteria v hloubkách 0-120 cm.

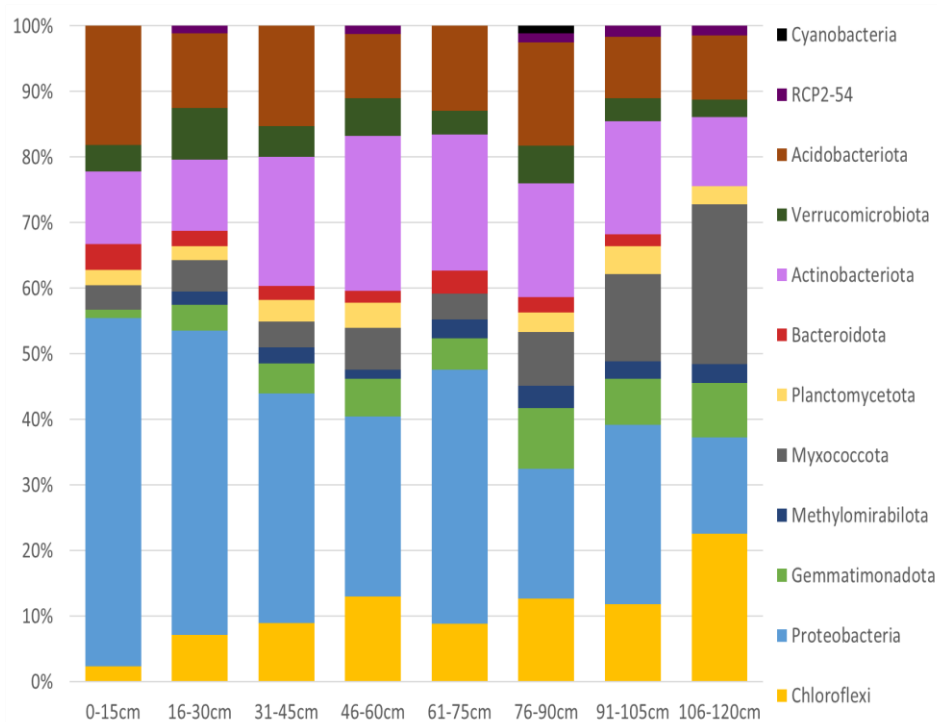
Hloubka (cm)	0-15	16-30	31-45	46-60	61-75	76-90	91-105	106-120
Archaea (%)	0	0,04	0,3	0,4	0,1	0,1	0,2	0
Bacteria (%)	100	99,96	99,7	99,6	99,9	99,9	99,8	100

Analýza celkového bakteriálního společenstva (DNA analýza) ukázala značnou variabilitu v zastoupení jednotlivých kmenů v různých hloubkách a na všech třech lokalitách (Obr. 1). Celkově dominovaly kmeny *Actinobacteriota* (21 %), *Proteobacteria* (19 %), *Chloroflexi* (19 %) a *Acidobacteriota* (13 %). Zastoupení bakterií kmene *Chloroflexi* rostlo se zvětšující se hloubkou, což může být dáno faktem, že tento kmen preferuje anaerobní prostředí. Naproti tomu kmen *Proteobacteria* byl nejvíce zastoupen (40 %) na povrchu v hloubce 0-15 cm a s přibývajícím hloubkou jeho výskyt klesal. Bakterie kmene *Acidobacteria* byly ve všech hloubkách poměrně stabilní. Nejméně byly zastoupeny bakterie skupiny WPS-2 (kandidátní kmen *Eremibacterota* 0,16 %) s maximem v hloubce 0-15 cm, kde toto procento zastoupení v celkovém společenstvu bylo 1,24 %.

Analýza RNA však ukázala odlišné zastoupení aktivních bakterií. Nejaktivnější kmeny byly v porovnání s celkovým společenstvem opět *Proteobacteria* (33 %), *Actinobacteriota* (17 %) a *Chloroflexi* (11 %). Jejich procentní zastoupení se však lišilo (Obr. 2). Největší rozdíl byl pozorován u predátorských bakterií z kmene *Myxococcota*. Oproti celkovému zastoupení byl kmen *Myxococcota* (9 %) mnohem více zastoupen mezi aktivními bakteriemi. Jeho největší výskyt byl zaznamenán v hloubce 106-120 cm (24 %). Dalšími aktivními bakteriemi byli zástupci kmene *Gemmatimonadota*. Oproti obr. 1 se v obr. 2 vyskytuje i kmen *Cyanobacteria* (0,14 %) a naopak bakteriální skupina WPS-2 zde nedosahuje v žádné hloubce vyššího zastoupení než 1 %. Také nekultivovaná skupina bakterií označená jako RCP2-54 (0,87 %) je hojněji zastoupena ve společenstvech RNA sekvencí. V obou obrázcích si můžeme všimnout, že se zastoupení kmene *Methylospirillum* objevuje až od hloubky 16 cm.



Obr. 1.: Celkové průměrné relativní zastoupení kmenů (DNA analýza) v bakteriálním společenstvu v různých hloubkách aktivní vrstvy permafrostu Arktidy



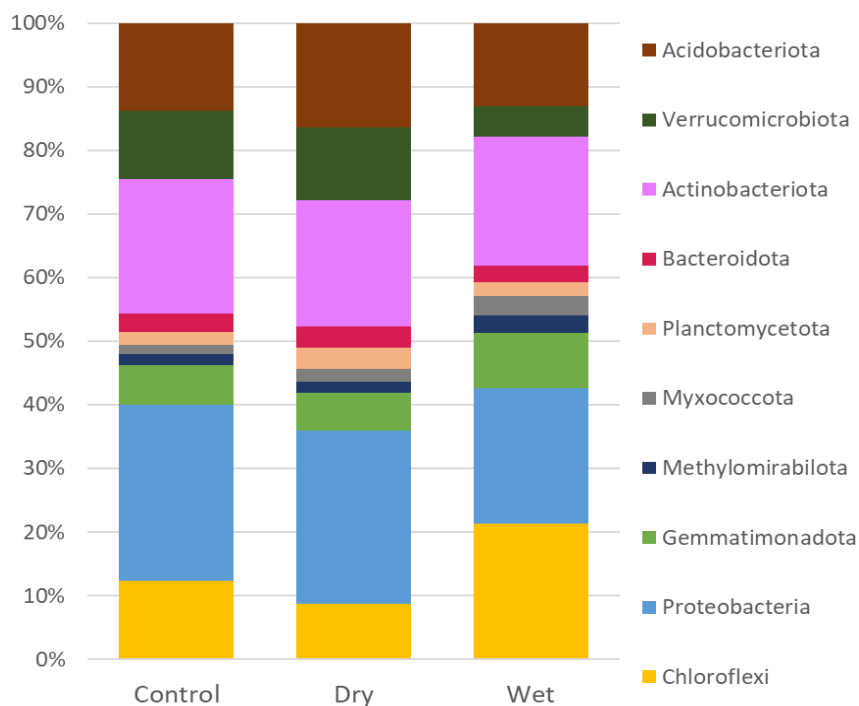
Obr. 2.: Celkové průměrné relativní zastoupení **aktivních kmenů** (RNA analýza) v bakteriálním společenstvu v různých hloubkách aktivní vrstvy permafrostu Arktidy

Obr. 3 znázorňuje porovnání „suchého“ a „vlhkého“ scénáře a zastoupení dominantních kmenů. Zastoupení bakterií z kmene *Actinobacteriota* se mezi jednotlivými scénáři téměř nelišilo a bylo v průměru cca 14 %. Podobně tomu bylo u kmenů *Proteobacteria* (25 %) a *Acidobacteriota* (14 %). Naopak největší rozdíly byly u kmenů *Chloroflexi* a *Verucomicrobiota*. Kmen *Chloroflexi* byl více zastoupen ve „vlhkém“ scénáři (21 %) než v „suchém“ (9 %). Naopak kmen *Verucomicrobiota* se vyskytoval více v suchém prostředí (11 %) než ve vlhkém (5 %).

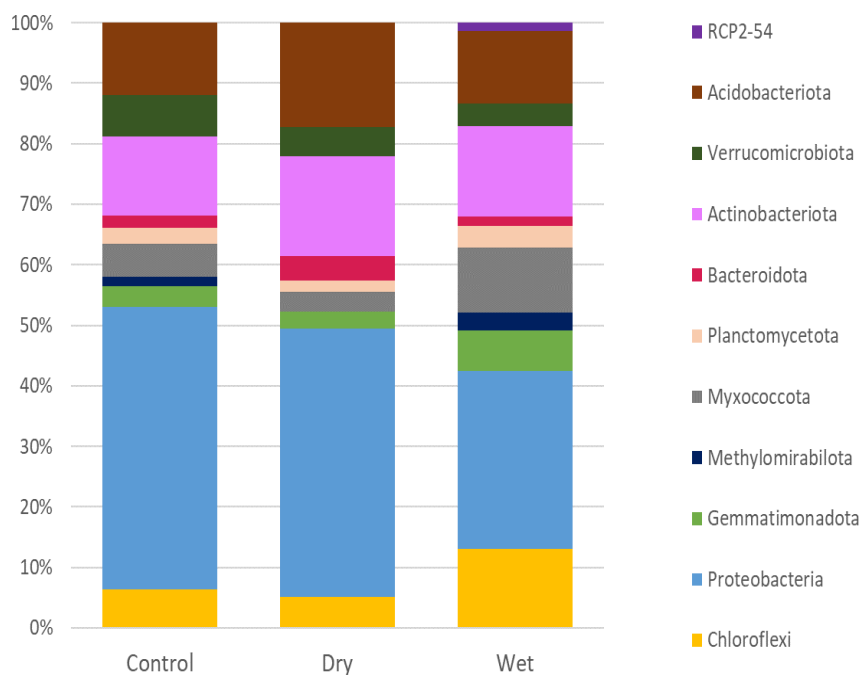
V obr. 4 pozorujeme, že kmeny *Proteobacteria* (40 %), *Actinobacteriota* (15 %) a *Acidobacteriota* (14 %) zůstaly ve „vlhkém“ i „suchém“ scénáři dominantními kmeny stejně jako v obr. 3. U kmene *Proteobacteria* bylo zaznamenáno zvýšené zastoupení (40 %) aktivních bakteriálních kmenů oproti průměrnému relativnímu zastoupení všech bakteriálních kmenů (DNA analýza) (25 %). Nekultivovaná skupina bakterií označena jako RCP2-54 (1 %) a kmen *Methylomirabiliota* (3 %), který lze ještě identifikovat na kontrolních stanovištích, měly alespoň 1% zastoupení pouze na vlhkých lokalitách.

V „suchém“ scénáři dominoval kmen *Proteobacteria*. Největší zastoupení tohoto kmene bylo v hloubce 0-15 cm, a to v celkovém (39 %) (Obr. 6) i aktivním (47 %) (Obr. 9) společenstvu. Dalšími výrazně zastoupenými kmeny byly kmeny *Acidobacteriota* a *Proteobacteria*. Největší zastoupení v celkovém společenstvu hloubky 91-105 cm bylo zaznamenáno u kmene *Actinobacteriota* (31 %) (Obr. 6), avšak největší podíl v aktivním společenstvu této hloubky připadl na kmen *Proteobacteria* (39 %) (Obr. 9).

V „mokrém“ scénáři byl jednoznačně nejdominantnějším kmenem hloubky 0 - 15 cm v celkovém (40 %) (Obr. 5) i aktivním (54 %) (Obr. 10) společenstvu kmen *Proteobacteria*, avšak jeho zastoupení s hloubkou sláblo. Největší přírůstek v zastoupení se stoupající hloubkou tohoto prostředí bylo zaznamenáno u kmene *Chloroflexi*, který dominoval hloubce 106-120 cm v celkovém (28 %) společenstvu (Obr. 5). Kmen *Chloroflexi* byl hojně zastoupen i v aktivním (24 %) společenstvu této hloubky, avšak absolutně největší zastoupení zde měl kmen *Myxococcota* (24 %) (Obr. 10).



Obr. 3.: Průměrná relativní zastoupení bakteriálních kmenů (DNA analýza) mezi „kontrolní“, „suchým“ a „vlhkým“ scénářem



Obr. 4.: Průměrná relativní zastoupení **aktivních** bakteriálních kmenů (RNA analýza) mezi „kontrolní“, „suchým“ a „vlhkým“ scénářem

6 Diskuse

Cílem práce byla analýza složení celkových (DNA analýza) a aktivních (RNA analýza) bakteriálních společenstev v různých hloubkách aktivní vrstvy permafrostu a mezi různými scénáři tání permafrostu.

Z porovnání RNA a DNA dat z různých hloubek vyplývá, že v půdách Arktidy jednoznačně dominuje doména *Bacteria*. Zastoupení domény *Archaea* se od sebe v jednotlivých hloubkách lišilo, ale jejich zastoupení nepřekročilo 1 % z celkového složení prokaryot (Tab. 1). V hloubkách 0–15 cm a 106–120 cm se překvapivě aktivní doména *Archaea* vůbec nevyskytovala (Tab. 2). To ukazuje na fakt, že se *Archaea* v dané hloubce sice vyskytují, ale nejsou aktivní nebo jen velmi málo a přežívají zřejmě v klidovém stavu. I když je doména *Archaea* hlavní skupinou označovanou za extremofilní organismy se schopností dobré adaptace vůči okolním podmínkám, v permafrostu se vyskytují jen v minimálním množství. Nízké zastoupení této domény by jak v celkovém, tak aktivním mikrobiomu mohlo být vysvětleno menší ekologickou nikou a v důsledku být důvodem nízkého množství methanu ve svrchních vrstvách permafrostu (Ferry 2010).

V celkovém bakteriálním společenstvu dominoval kmen *Actinobacteriota* (21 %) a do něj patřící skupina MB-A2-108 a třídy *Actinobacteriota*, *Thermoleophilia*, *Acidimicrobiia* (Obr. 1). Jejich největší zastoupení v celkovém (25 %) a aktivním (23 %) (Obr. 2) mikrobiomu bylo v hloubce 46–60 cm. Můžeme předpokládat, že tato hloubka měla ideální vlastnosti pro růst, kterými jsou lehce alkalické prostředí s nižší koncentrací solí (Basilio et al. 2003). Průměrné relativní zastoupení tohoto kmene v celkovém i aktivním společenstvu bylo ve „vlhkém“ i „suchém“ scénáři stabilní (Obr. 3,4). Tyto dva scénáře přinášejí rozdílné prostředí pro výskyt bakterií. V prvním scénáři, ve kterém voda neodtéká, vznikají mokřady a její vysoký obsah v půdě brání vstupu kyslíku, se vyskytuje anaerobní prostředí. Permafrost zde figuruje jako nepropustná bariéra. Naopak odtékání vody z rozmrzajícího povrchového sněhu navozuje aerobní suché prostředí. Vysoký výskyt kmene *Actinobacteriota* v tak odlišných podmínkách a hloubkách lze vysvětlit tím, že mezi zástupci tohoto kmene se vyskytují jak aerobní, tak anaerobní bakterie, které využívají množství adaptačních mechanismů. Vyskytují se jak ve vyšších vrstvách, kde hrají důležitou roli v koloběhu C a rozkladu organických látek, tak v hlubších vrstvách, kde využívají svých adaptací na nízké hladiny C a jsou i na takovýchto místech schopné aktivního metabolismu a reprodukce. Kmen *Actinobacteriota* patří mezi skupiny s aktivním mechanismem oprav DNA, který jim umožňuje přizpůsobení se energeticky méně náročné

anabióze, díky které se vyhnou dormanci (Johnson et al. 2007). Johnson et al. (2007) ve své studii popsali, že takové skupiny jsou v mikrobiomu permafrostu častější než ty, které prochází dormancí.

Dalším dominantním kmenem byl kmen *Proteobacteria*. Tato dominance je umožněna vysokou diverzifikací tohoto kmene. Patří do něj aerobní i anaerobní třídy, zástupci oligotrofní, eutrofní, metanogenní, metanotrofní, třídy vázající dusík, redukující sírany nebo třídy schopné kvasit cukry. Hojně se tento kmen vyskytuje hlavně v půdách obohacených o uhlík a dusík (Niederberger et al. 2008). Tyto prvky se dostávají do půdy rozkladem těl rostlin a zvířat. S výše zmíněnými fakty koresponduje největší podíl RNA sekvencí kmene *Proteobacteria* zaznamenaný v hloubce 0-15 cm (51 %), kde bývá dostupnost uhlíku a dusíku nejvyšší (Obr. 2). Jejich vyšší zastoupení také souvisí s nižším pH. S přibývajícím hloubkou procento výskytu klesalo. V zastoupení v celkovém bakteriálním společenstvu (DNA analýza) oproti zastoupení v aktivním společenstvu byl větší rozdíl mezi nejsvrchnější vrstvou (0 – 15 cm), kde bylo procento výskytu cca 40 % a ostatními hloubkami, kde toto procento kolísalo v průměru kolem 15 % (Obr. 1). Tento fakt by mohl znamenat, že kmen *Proteobacteria* byl v minulosti více omezen na svrchnější části půdy, které byly více odlišné od ostatních hloubek. Dnes dochází vlivem klimatických změn k rozostřování jednotlivých hranic mezi hloubkami, tudíž i tento kmen je více aktivní i v dalších hloubkách, protože mu to podmínky dovolují. Podíváme-li se na zastoupení tohoto kmene v „suchém“ a „vlhkém“ scénáři bylo jeho celkové (26 %) (Obr. 3) i aktivní (43 %) (Obr. 4) zastoupení vyšší v případě „suchého scénáře“. Tento trend potvrzuje výše zmíněná fakta. Ačkoliv jsou zástupci kmene *Proteobacteria* schopni existence v široké škále prostředí, preferují suché na živiny bohaté lokality.

Kmen *Acidobacteriota* společně s kmeny *Actinobacteriota* a *Proteobacteria* dominoval svrchním vrstvám permafrostu. Zástupci kmene *Acidobacteriota* se nejvíce vyskytovali v celkovém (16 %) (Obr. 1) i aktivním (17 %) (Obr. 2) společenstvu bakterií v hloubce 0-15 cm. Toto dominantní zastoupení je logické, jelikož bakterie patřící do kmene *Acidobacteriota* jsou významnými rozkladači biomasy a v těchto vrstvách je biomasa dobře přístupná. Jejich výskyt s přibývajícím hloubkou slábl, což je způsobeno nejen menším obsahem organického materiálu, ale i změnou pH, které se zvyšuje se zvětšující se hloubkou (Kim et al. 2014). Procentuální zastoupení v celkovém a aktivním společenstvu v různých hloubkách bylo téměř shodné. Lze tedy předpokládat, že tento kmen má vysoké adaptační schopnosti, které mu umožňují přizpůsobit se téměř cele různým podmínkám. Ať už to bylo

klima, které se v Arktidě vyskytovalo před zamrznutí permafrostu, nebo podmínky, které jsou nyní charakteristické pro různé vrstvy permafrostu. Přibližně stejné bylo i zastoupení v celkovém a aktivním společenstvu „suchého“ a „vlhkého“ scénáře (Obr. 3,4). Lehce vyšší podíl zástupců kmene *Acidobacteriota* se vyskytoval v obou případech v „suchém“ scénáři, kde toto procento činilo 16 % v případě DNA analýzy a 17 % v případě RNA analýzy. Avšak rozdíl mezi „suchým“ a „vlhkým“ scénářem nebyly nijak výrazné, což znovu poukazuje na schopnost zástupců kmene *Acidobacteriota* osídlit prostředí s různými chemickými vlastnostmi.

Zastoupení jedinců kmene *Verrucomicrobiota* s přibývajícím hloubkou v celkových i aktivních bakteriálních společenstvech klesalo. Zástupci tohoto kmene se nejvíce vyskytovali v hloubce 16-30 cm, kde v aktivním společenstvu tvořili 8 % a v celkovém 13 % (Obr. 1,2). Stejně jako u kmenů zmíněných výše společně s větším výskytem ve svrchních vrstvách se více vyskytují v „suchém“ scénáři než ve „vlhkém“ (Obr. 3,4). Tyto dvě skutečnosti spolu neodmyslitelně souvisí, protože jak ve svrchních vrstvách, tak v suchém prostředí je dostupnost kyslíku a organické hmoty vyšší než v hlubších vrstvách a vlhkém prostředí. Jedinci kmene *Verrucomicrobiota* patří mezi metanotrofní bakterie. Ty spotřebovávají metan a krátké řetězce uhlíku, proto se více vyskytují právě ve svrchních vrstvách permafrostu. Carere et al. (2017) ve své studii však popsali, že zástupci kmene *Verrucomicrobiota* jsou adaptováni i na omezení metanu a kyslíku, a to pomocí oxidace vodíku. Tímto faktem může být vysvětlen jejich výskyt i v hlubších vrstvách a vlhkém prostředí.

Zastoupení kmene *Chloroflexi* mělo s přibývajícím hloubkou zvyšující se tendenci. Největší zastoupení kmene *Chloroflexi* bylo jak v aktivním společenstvu (24 %), tak v celkovém společenstvu (28 %) v hloubce 106-120cm (Obr. 1,2). U analýzy celkového společenstva docházelo k postupnému navyšování procenta zastoupení s přibývajícím hloubkou. U analýzy aktivního společenstva bylo zjištěno v hlubších vrstvách různé kolísání zastoupení ne však postupné narůstání. To může být způsobeno, jak už bylo výše řečeno, tím, že jednotlivé vrstvy byly dříve ostřeji vymezeny, ale nyní dochází vlivem tání k promíchávání jednotlivých vrstev. Z obr. 3 a 4 vyplývá, že zástupci kmene *Chloroflexi* upřednostňují prostředí „vlhkého“ scénáře, a to v případě složení celkového (21 %) i aktivního (13 %) společenstva. To že jejich výskyt byl dominantnější ve větších a vlhčích hloubkách, které jsou charakteristické nižší difuzí kyslíku a menší dostupností organického materiálu, poukazuje na fakt, že zástupci kmene *Chloroflexi* nepotřebují ke svému

fungování sluneční záření a upřednostňují rozklad organického materiálu v anoxickém prostředí, i když v takovém případě je degradace dostupných živin méně účinná a energeticky méně výtěžná.

Zastoupení kmene *Myxococcota* se v případě celkového i aktivního společenstva zvyšovalo s přibývajícím hloubkou (Obr. 1,2). V případě aktivního společenstva tvořili zástupci tohoto kmene ve všech hloubkách výrazně vyšší procentuální zastoupení než v případě celkového společenstva. To lze odůvodnit tím, že se dokázali v určité míře přizpůsobit podmínkám permafrostu, na rozdíl od jiných kmenů, které zůstaly v permafrostu zachované v neaktivní formě z období s jiným klimatem. V hloubce 106 - 120 cm byl jejich podíl v celkovém společenstvu 6 % a v aktivním společenstvu 24 % z celkového bakteriálního složení. V analýze vzorků z možného „suchého“ a „vlhkého“ scénáře byl zaznamenán větší výskyt ve „vlhkém“ prostředí (Obr. 3,4). Rozdíl mezi těmito dvěma scénáři nebyl v případě analýzy celkového složení společenstva (DNA analýzy) tak markantní jako v případě analýzy aktivního společenstva, kde bylo procentuální zastoupení v „suchém“ scénáři 3 % a v „mokrém“ scénáři 10 %. To, že DNA analýza z těchto dvou prostředí byla podobná, a naopak v RNA analýze byly mezi prostředími vyšší rozdíl může znamenat, že kmen *Myxococcota* přežívá v obou možných scénářích v dormantním stavu, avšak jeho aktivita je výraznější v anoxických podmínkách, čemuž nasvědčuje i fakt, že jeho nejvyšší výskyt byl zaznamenán nejhlouběji v sebraných vzorcích. Dravý kmen *Myxococcota* je původně aerobní kmen, který je schopný v nepříznivých podmínkách vytvářet plodnice, avšak v rámci tohoto kmene se vyskytuje řada nekultivovaných skupin, které se vyskytují na anaerobních stanovištích, které se nesou geny pro fermentaci a redukci dusitanů a síranů (Murphy et al. 2021). Kmen *Myxococcota* se tedy chová podobně jako kmen *Chloroflexi*.

Kmen *Methyloirabilota* byl dle DNA sekvencí zastoupen jak v „suchém“ (2 %), tak „vlhkém“ scénáři (3 %). Avšak RNA sekvence ukázaly, že jejich aktivita byla výraznější v prostředí „vlhkém“ (10 %) (obr. 4) a to pravděpodobně díky jejich schopnosti spojit dvě životní strategie: anaerobní oxidaci metanu a redukci dusitanů v anoxickém prostředí (Versantvoort et al. 2018), které kvůli horší prostupnosti kyslíku vlhké půdy nabízejí. Tento jev potvrzuje fakt, že zastoupení tohoto kmene bylo nejvyšší v hloubce 106-120 cm v celkovém i aktivním společenstvu a že v hloubce 0-15 cm jejich zastoupení v celkovém i aktivním společenstvu nedosahovalo ani 1 %.

Kmen *Cyanobacteria* je kmenem fotoautotrofních bakterií závislých na dostupnosti světla. Energie ze světla zachycují pigmenty přeměňují v chemickou energii, která umožňuje fixaci uhlíku a další metabolické procesy. Větší podíl byl zaznamenán v aktivním (0,13 %) (obr. 2) než v celkovém společenstvu (obr. 1). Oproti bakteriím se sinice vyskytují v permafrostu mnohonásobně méně. V této studii byly zjištěny v hloubce 76-90 cm aktivního společenstva, kde představovaly 1 %.

7 Závěr

Bakterie v půdě hrají důležitou roli v koloběhu živin. S rostoucí teplotou roste jejich aktivita a zásadně ovlivňuje rozklad organického materiálu. Jedním z klíčových problémů dnešní doby je, že se doposud zmrzlý uhlík v permafrostu stává oteplováním přístupnější pro mikrobiální rozklad a dochází tak k uvolňování skleníkových plynů do atmosféry.

Tato studie zahrnuje výsledky sekvencí DNA a RNA a porovnává složení jednotlivých společenstev z různých hloubek a možných scénářů při odtávání permafrostu. Z výsledků vyplývá, že arktickým půdám dominuje doména *Bacteria*. DNA sekvence domény *Archaea* se také nacházejí ve všech hloubkách, ale nepřesahují 1 %. Dominantními kmeny všech hloubek a „suchého“ i „vlhkého“ scénáře byly kmen *Actinobacteriota*, *Proteobacteria* a *Acidobacteriota* a to díky široké škále adaptivních mechanismů a zástupců s různými životními strategiemi, které jim umožňují obsadit různá prostředí. Tyto kmeny dominovaly všem částem půdy, ale nejhojněji byly zastoupeny ve svrchních vrstvách, kde figurují jako významní rozkladači organického materiálu. Kmen *Chloroflexi* a *Verrucomicrobiota* vykazovaly protichůdné trendy. Kmen *Chloroflexi* se spíše vyskytoval ve vlhkém prostředí a větších hloubkách, což naznačuje preferenci anaerobního způsobu života, naopak zastoupení kmene *Verrucomicrobiota* s přibývajícím hloubkou klesalo.

Celkově lze v této studii pozorovat některé opakující se trendy. Ty kmeny, které se více vyskytovaly ve svrchních vrstvách permafrostu preferovaly sušší prostředí s vysokým obsahem kyslíku, naopak dominantní kmeny hlubších vrstev se více vyskytovaly na anoxických vlhkých stanovištích. Dále z porovnání DNA a RNA sekvencí lze odhadovat, že dříve před zamrznutím permafrostu byly hranice jednotlivých vrstev ostřeji odlišené a bylo v nich přítomno větší množství aktivních bakteriálních kmenů. Odtáváním permafrostu dochází k promíchávání jednotlivých vrstev, ke změně chemických vlastností a vymezení vrstev není tak striktní. Z RNA sekvencí lze říci, že ve vzorcích nebylo tolik aktivních kmenů, jako tomu bylo před vznikem permafrostu, avšak zastoupení v jednotlivých vrstvách je pestřejší. Díky těmto RNA sekvencím víme, že bakterie

v arktickém permafrostu aktivně metabolizují a nejsou jen přežívající v dormantním stavu. Podobné výsledky jsou uvedeny i v jiných studiích z této oblasti (Venkatachalam et al. 2021, Kim et al. 2014).

Do budoucna lze predikovat změny složení aktivních společenstev v důsledku zvyšujících se teplot a tím zvýšení zpracování tak přístupnějšího uhlíku. Zároveň aktivní nebudou jen psychrofilní organismy, které jsou schopné aktivního metabolismu v teplotách pod bodem mrazu, ale i mikroorganismy, které jsou pouze chlad tolerující, tudíž bude vzrůstat i konkurence mezi těmito skupinami (Ricketts et al. 2020). Důkazem tohoto tvrzení může být i přítomnost aktivních, ale dosud nekultivovaných skupin bakterií i v analýze dat této studie. Takovýchto skupin bude s největší pravděpodobností přibývat, proto je nutné dále pokračovat ve výzkumu jednotlivých skupin bakterií a pozorování odpovědí bakteriálních společenstev na měnící se podmínky.

8 Seznam literatury

- Altshuler I., Raymond-Bouchard I., Magnuson E., Tremblay J., Greer C. W., Whyte L. G. (2022). Unique high Arktis methane metabolizing community revealed through in situ $^{13}\text{CH}_4$ -DNA-SIP enrichment in concert with genome binning. *Scientific Reports*, 12(1), 1-14.
- Anandan R., Dharumadurai D., & Manogaran G. P. (2016). An introduction to actinobacteria. In *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*. Intechopen.
- Antón J. (2011). Compatible Solute. In Gargaud M., Amils R., Quintanilla J. C., Cleaves H. J., Irvine W. M., Pinti D. L. & Viso M. (Eds.), *Encyclopedia of Astrobiology* (pp. 351-352).
- Ato N. (1995). A family of cold-regulated RNA-binding protein genes in the cyanobacterium *Anabaena variabilis* M3. *Nucleic Acids Research*, 23(12), 2161-2167.
- Bárta J., Čapek P., Šantrůčková H. (2020): Malí, ale šikovní. Neviditelní hráči v globálních změnách klimatu. *Vesmír* 99, 412.
- Basilio, A., Gonzalez, I., Vicente, M. F., Gorrochategui, J., Cabello, A., Gonzalez, A., Genilloud, O. (2003). Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. *Journal of applied microbiology*, 95(4), 814-823.
- Biskaborn B. K., Smith S. L., Noetzli J., Matthes H., Vieira G., Streletskiy D. A., ... & Lantuit H. (2019). Permafrost is warming at a global scale. *Nature communications*, 10(1), 1-11.
- Bockheim J. G. & Tarnocai C. (1998). Recognition of cryoturbation for classifying permafrost-affected soils. *Geoderma*, 81(3-4), 281-293.
- Box J. E., Colgan W. T., Christensen T. R., Schmidt N. M., Lund M., Parmentier F. J. W., ... & Olsen M. S. (2019). Key indicators of Arctic climate change: 1971–2017. *Environmental Research Letters*, 14(4), 045010.

- Carere, C. R., Hards, K., Houghton, K. M., Power, J. F., McDonald, B., Collet, C., ... & Stott, M. B. (2017). Mixotrophy drives niche expansion of verrucomicrobial methanotrophs. *The ISME journal*, 11(11), 2599-2610.
- Cockell C.& Stokes M. (2004). Widespread colonization by polar hypoliths. *Nature*, 431(7007), 414-414.
- Colangelo-Lillis J., Eicken H., Carpenter S. D., & Deming J. W. (2016). Evidence for marine origin and microbial-viral habitability of sub-zero hypersaline aqueous inclusions within permafrost near Barrow, Alaska. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(5).
- Dobinski W. (2011): Permafrost. *Earth-Science Reviews*, 108(3-4): 158-169.
- Evgrafova, A., de la Haye, T. R., Haase, I., Shibistova, O., Guggenberger, G., Tananaev, N., ... & Spielvogel, S. (2018). Small-scale spatial patterns of soil organic carbon and nitrogen stocks in permafrost-affected soils of northern Siberia. *Geoderma*, 329, 91-107.
- Ewert M. & Deming J. W. (2014). Bacterial responses to fluctuations and extremes in temperature and brine salinity at the surface of Arctic winter sea ice. *FEMS Microbiology Ecology*, 89(2), 476-489.
- Ferry J. G. (2010). The chemical biology of methanogenesis. *Planetary and Space Science*, 58(14-15), 1775-1783.
- Frank-Fahle B. A., Yergeau É., Greer C. W., Lantuit H., Wagner D. (2014). Microbial functional potential and community composition in permafrost-affected soils of the NW Canadian Arctic. *PLoS One*, 9(1), e84761.
- Garrity, G. M., Holt, J. G., Castenholz, R. W., Pierson, B. K., Keppen, O. I., Gorlenko, V. M. (2001). Phylum BVI. Chloroflexi phy. nov. In *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology* (pp. 427-446).
- Gentsch, N., Mikutta, R., Alves, R. J. E., Barta, J., Čapek, P., Gittel, A., ... & Guggenberger, G. (2015). Storage and transformation of organic matter fractions in cryoturbated permafrost soils across the Siberian Arctic. *Biogeosciences*, 12(14), 4525-4542.
- Gerday C. & Glansdorff N. (2007). *Physiology and biochemistry of extremophiles*. ASM press
- Gilichinsky D. A., Wagener S., Vishnevetskaya T. A. (1995). Permafrost microbiology. *Permafrost and periglacial processes*, 6(4), 281-291.

- Gilichinsky D., Rivkina E., Bakermans C., Shcherbakova V., Petrovskaya L., Ozerskaya S., ... & Tiedje J. M. (2005). Biodiversity of cryopegs in permafrost. *FEMS Microbiology Ecology*, 53(1), 117-128.
- Gilichinsky D., Rivkina E., Shcherbakova V., Laurinavichuis K., Tiedje J. (2003). Supercooled water brines within permafrost—an unknown ecological niche for microorganisms: a model for astrobiology. *Astrobiology*, 3(2), 331-341.
- Gittel A., Bárta, J., Kohoutová, I., Mikutta, R., Owens, S., Gilbert, J., ... & Urich, T. (2014). Distinct microbial communities associated with buried soils in the Siberian tundra. *The ISME journal*, 8(4), 841-853.
- Goldfarb K. C., Karaoz, U., Hanson, C. A., Santee, C. A., Bradford, M. A., Treseder, K. K., ... & Brodie, E. L. (2011). Differential growth responses of soil bacterial taxa to carbon substrates of varying chemical recalcitrance. *Frontiers in microbiology*, 2, 94.
- Gupta R. S. (2013). Molecular markers for photosynthetic bacteria and insights into the origin and spread of photosynthesis. In *Advances in Botanical Research* (Vol. 66, pp. 37-66). Academic Press
- Hansen A. A., Herbert R. A., Mikkelsen K., Jensen, L. L., Kristoffersen T., Tiedje J. M., ... & Finster K. W. (2007). Viability, diversity and composition of the bacterial community in a high Arctic permafrost soil from Spitsbergen, Northern Norway. *Environmental microbiology*, 9(11), 2870-2884.
- Hoover R. B. & Pikuta E. V. (2010). Psychrophilic and psychrotolerant microbial extremophiles in polar environments. *Polar Microbiology: The Ecology, Biodiversity and Bioremediation Potential of Microorganisms in Extremely Cold Environments*/Ed. by AK Bej, J. Aislabie, RM Atlas. –Boca Raton (Florida): CRC Press, 115-156.
- Hrbáček F. & Nývlt D. (2019): Permafrost v Antarktidě. *Vesmír*. 98 (149) 24 s.
- International Permafrost Association (© 2008-2015): What is permafrost? [cit.-2021-11-19]
Dostupné z: <https://ipa.arcticportal.org/publications/occasional-publications/what-is-permafrost>
- Iwahana G., Cooper Z. S., Carpenter S. D., Deming J. W., Eicken H. (2021). Intra-ice and intra-sediment cryopeg brine occurrence in permafrost near Utqiagvik (Barrow). *Permafrost and Periglacial Processes*, 32(3), 427-446.

- Johnson S. S., Hebsgaard M. B., Christensen T. R., Mastepanov M., Nielsen R., Munch K., ... & Willerslev E. (2007). Ancient bacteria show evidence of DNA repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(36), 14401-14405.
- Jones P. G., VanBogelen R. A., Neidhardt F. C. (1987). Induction of proteins in response to low temperature in *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology*, 169(5), 2092-2095.
- Kaštovská K., Elster J., Stibal M., Šantrůčková H. (2005). Microbial assemblages in soil microbial succession after glacial retreat in Svalbard (High Arctic). *Microbial ecology*, 50(3), 396-407.
- Kim H. M., Jung, J. Y., Yergeau, E., Hwang, C. Y., Hinzman, L., Nam, S., ... & Lee, Y. K. (2014). Bacterial community structure and soil properties of a subarctic tundra soil in Council, Alaska. *FEMS microbiology ecology*, 89(2), 465-475.
- Klappenbachová L. (©2022) Co je permafrost? *EFerit* [online]. [cit. 2022-03-07]. Dostupné z: <https://cs.eferit.com/co-je-permafrost/>.
- Knudsen B. M., Jøneh-Sørensen H., Eriksen P., Johnsen B. J., Bodeker G. E. (2005). UV radiation below an Arctic vortex with severe ozone depletion. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 5(11), 2981-2987.
- Lewin G. R., Carlos, C., Chevrette, M. G., Horn, H. A., McDonald, B. R., Stankey, R. J., ... & Currie, C. R. (2016). Evolution and ecology of Actinobacteria and their bioenergy applications. *Annual Review of Microbiology*, 70, 235-254.
- Makhalanyane T. P., Valverde A., Velázquez D., Gunnigle E., Van Goethem M. W., Quesada A., Cowan D. A. (2015). Ecology and biogeochemistry of cyanobacteria in soils, permafrost, aquatic and cryptic polar habitats. *Biodiversity and Conservation*, 24(4), 819-840.
- Méthé B. A., Nelson K. E., Deming J. W., Momen B., Melamud E., Zhang X., ... & Fraser C. M. (2005). The psychrophilic lifestyle as revealed by the genome sequence of *Colwellia psychrerythraea* 34 H through genomic and proteomic analyses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(31), 10913-10918.
- Michaelson G. J., Ping C. L., Kimble J. M. (1996): Carbon Storage and Distribution in Tundra Soils of Arctic Alaska, USA. *Arctic and Alpine Research*. 28(4): 414–424.
- Mohr K. I. (2018). Diversity of myxobacteria—we only see the tip of the iceberg. *Microorganisms*, 6(3), 84.
- Morita R. Y. (1975). Psychrophilic bacteria. *Bacteriological reviews*, 39(2), 144-167.

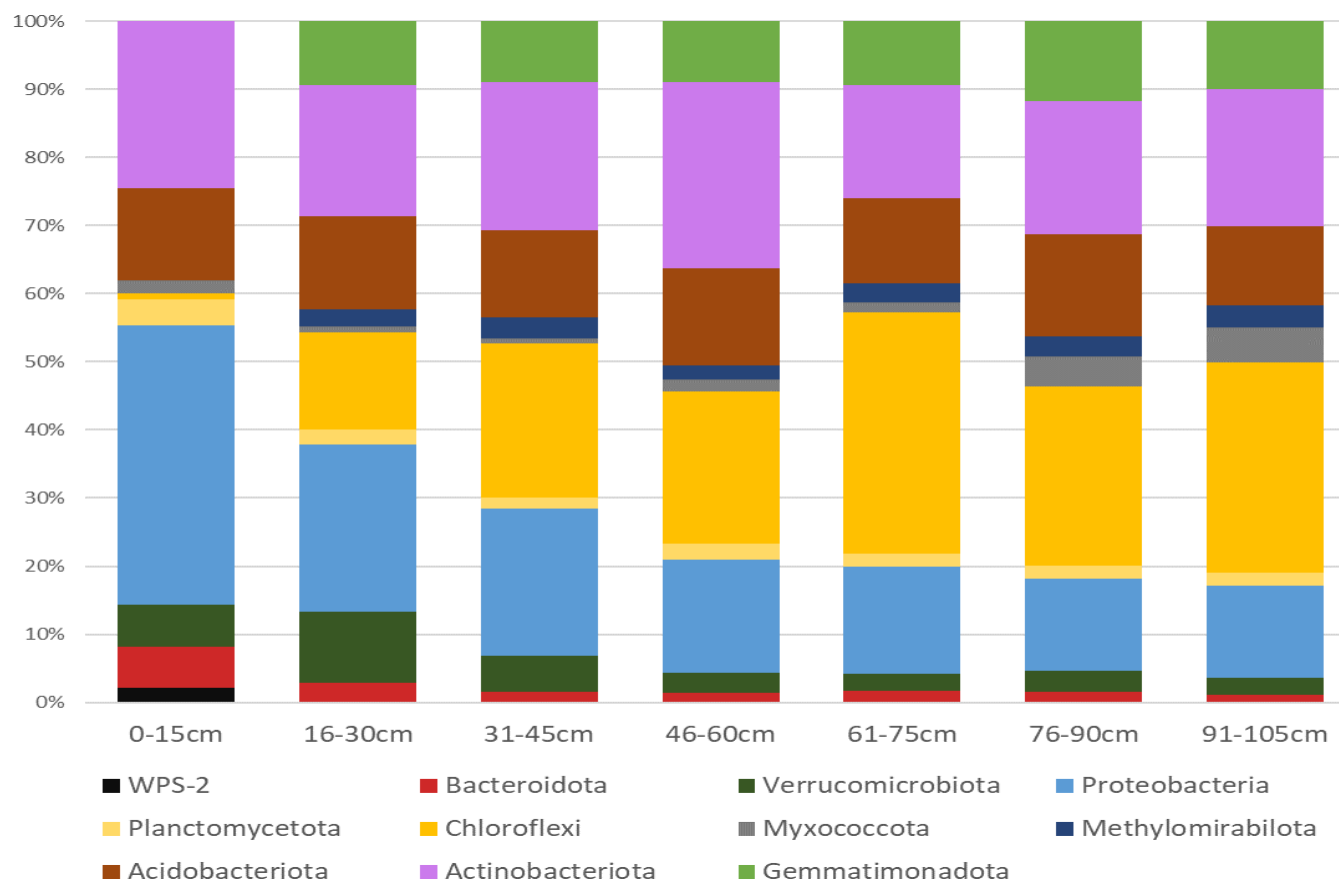
- Murphy C. L., Yang R., Decker T., Cavalliere C., Andreev V., Bircher N., ... & Youssef N. H. (2021). Genomes of novel Myxococcota reveal severely curtailed machineries for predation and cellular differentiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(23), e01706-21.
- Niederberger T. D., McDonald I. R., Hacker A. L., Soo R. M., Barrett J. E., Wall D. H., Cary S. C. (2008). Microbial community composition in soils of Northern Victoria Land, Antarctica. *Environmental microbiology*, 10(7), 1713-1724.
- Norén B. (1952). Further notes on the distribution of myxobacteria in Swedish soils. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 46(3-4), 446-453.
- Phadtare S., Alsina J., Inouye M. (1999). Cold-shock response and cold-shock proteins. *Current opinion in microbiology*, 2(2), 175-180.
- Ping C. L., Bockheim J. G., Kimble J. M., Michaelson G. J., Walker D. A. (1998): Characteristics of cryogenic soils along a latitudinal transect in arctic Alaska. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*. 103(D22): 28917-28928.
- Rapp J. Z., Sullivan M. B., Deming J. W. (2021). Divergent genomic adaptations in the microbiomes of Arctic subzero sea-ice and cryopeg brines. *Frontiers in Microbiology*, 12, 2050.
- Rawat S. R., Männistö M. K., Bromberg Y., Häggblom M. M. (2012). Comparative genomic and physiological analysis provides insights into the role of Acidobacteria in organic carbon utilization in Arctic tundra soils. *FEMS microbiology ecology*, 82(2), 341-355.
- Ricketts, M. P., Matamala, R., Jastrow, J. D., Antonopoulos, D. A., Koval, J., Ping, C. L., ... & Gonzalez-Meler, M. A. (2020). The effects of warming and soil chemistry on bacterial community structure in Arctic tundra soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 148, 107882.
- Shi T., Reeves R. H., Gilichinsky D. A., Friedmann E. I. (1997). Characterization of viable bacteria from Siberian permafrost by 16 S rDNA sequencing. *Microbial Ecology*, 33(3), 169-179.
- Singh P., Kapse N., Gowdaman V., Tsuji M., Singh S. M., Dhakephalkar P. K. (2021). Comparative Genomic Analysis of Arctic Permafrost Bacterium Nesterenkonia sp. PF2B19 to Gain Insights into Its Cold Adaptation Tactic and Diverse Biotechnological Potential. *Sustainability*, 13(8), 4590.

- Smith D. M., Eade R., Andrews M. B., Ayres H., Clark A., Chripko S., ... & Walsh A. (2022). Robust but weak winter atmospheric circulation response to future Arctic sea ice loss. *Nature communications*, 13(1), 1-15.
- Spain A. M., Krumholz L. R. & Elshahed M. S. (2009). Abundance, composition, diversity and novelty of soil Proteobacteria. *The ISME journal*, 3(8), 992-1000.
- Speirs L., Rice D. T., Petrovski S. & Seviour R. J. (2019). The phylogeny, biodiversity, and ecology of the Chloroflexi in activated sludge. *Frontiers in microbiology*, 2015.
- Steven B., Leveille R., Pollard W. H., Whyte L. G. (2006). Microbial ecology and biodiversity in permafrost. *Extremophiles*, 10(4), 259-267.
- Stibal M., Šabacká M., Kaštovská K. (2006). Microbial communities on glacier surfaces in Svalbard: impact of physical and chemical properties on abundance and structure of cyanobacteria and algae. *Microbial Ecology*, 52(4), 644-654.
- Tarnocai C., Canadell J. G., Schuur E. A. G., Kuhry P., Mazhitova G., Zimov S. (2009): Soil organic carbon pools in the northern circumpolar permafrost region. *Global Biogeochemical Cycles*. 23(2).
- Varsadiya M., Urich, T., Hugelius, G., Bárta, J. (2021). Microbiome structure and functional potential in permafrost soils of the Western Canadian Arctic. *FEMS microbiology ecology*, 97(3).
- Venkatachalam S., Kannan V. M., Saritha V. N., Loganathachetti D. S., Mohan M. & Krishnan K. P. (2021). Bacterial diversity and community structure along the glacier foreland of Midtre Lovénbreen, Svalbard, Arctic. *Ecological Indicators*, 126, 107704.
- Ventura M., Canchaya C., Tauch A., Chandra G., Fitzgerald G. F., Chater K. F., van Sinderen D. (2007). Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiology and molecular biology reviews*, 71(3), 495-548.
- Versantvoort W., Guerrero-Cruz S., Speth D. R., Frank J., Gambelli L., Cremers G., ... & Reimann J. (2018). Comparative genomics of Candidatus Methyloirabilis species and description of Ca. Methyloirabilis lanthanidiphila. *Frontiers in microbiology*, 9, 1672.
- Vorobyova E., Soina V., Gorlenko M., Minkovskaya N., Zalinova N., Mamukelashvili A., ... & Vishnivetskaya T. (1997). The deep cold biosphere: facts and hypothesis. *FEMS Microbiology Reviews*, 20(3-4), 277-290.

- Wagner D., Lipski A., Embacher A., Gatteringer A. (2005). Methane fluxes in permafrost habitats of the Lena Delta: effects of microbial community structure and organic matter quality. *Environmental microbiology*, 7(10), 1582-1592.
- Waldrop M.P., Wickland K.P., White III R., Berhe A.A., Harden J.W., Romanovsky V.E. (2010), Molecular investigations into a globally important carbon pool: Permafrost-protected carbon in Alaskan soils. *Global Change Biology*, 16(9), 2543-2554.
- Walker V. K., Palmer G. R., Voordouw G. (2006). Freeze-thaw tolerance and clues to the winter survival of a soil community. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(3), 1784-1792.
- Wilhelm R. C., Niederberger T. D., Greer C., Whyte L. G. (2011). Microbial diversity of active layer and permafrost in an acidic wetland from the Canadian High Arctic. *Canadian Journal of Microbiology*, 57(4), 303-315.
- Yergeau E., Hogues H., Whyte L. G., Greer C. W. (2010). The functional potential of high Arctic permafrost revealed by metagenomic sequencing, qPCR and microarray analyses. *The ISME journal*, 4(9), 1206-1214.
- Zimov S. A., Schuur E. A. G., Chapin III F. S. (2006): Permafrost and the Global Carbon Budget. *Science*. 312 (5780), 1612-1613.
- Zimov S. A., Davydov S. P., Zimova G. M., Davydova A. I., Schuur E. A. G., Dutta K., Chapin F. S. (2006): Permafrost carbon: Stock and decomposability of a globally significant carbon pool. *Geophysical Research Letters*, 33(20).
- Ziolkowski L. A., Mykytczuk N. C. S., Omelon C. R., Johnson H., Whyte L. G., Slater G. F. (2013). Arctic gypsum endoliths: a biogeochemical characterization of a viable and active microbial community. *Biogeosciences*, 10(11), 7661-7675.

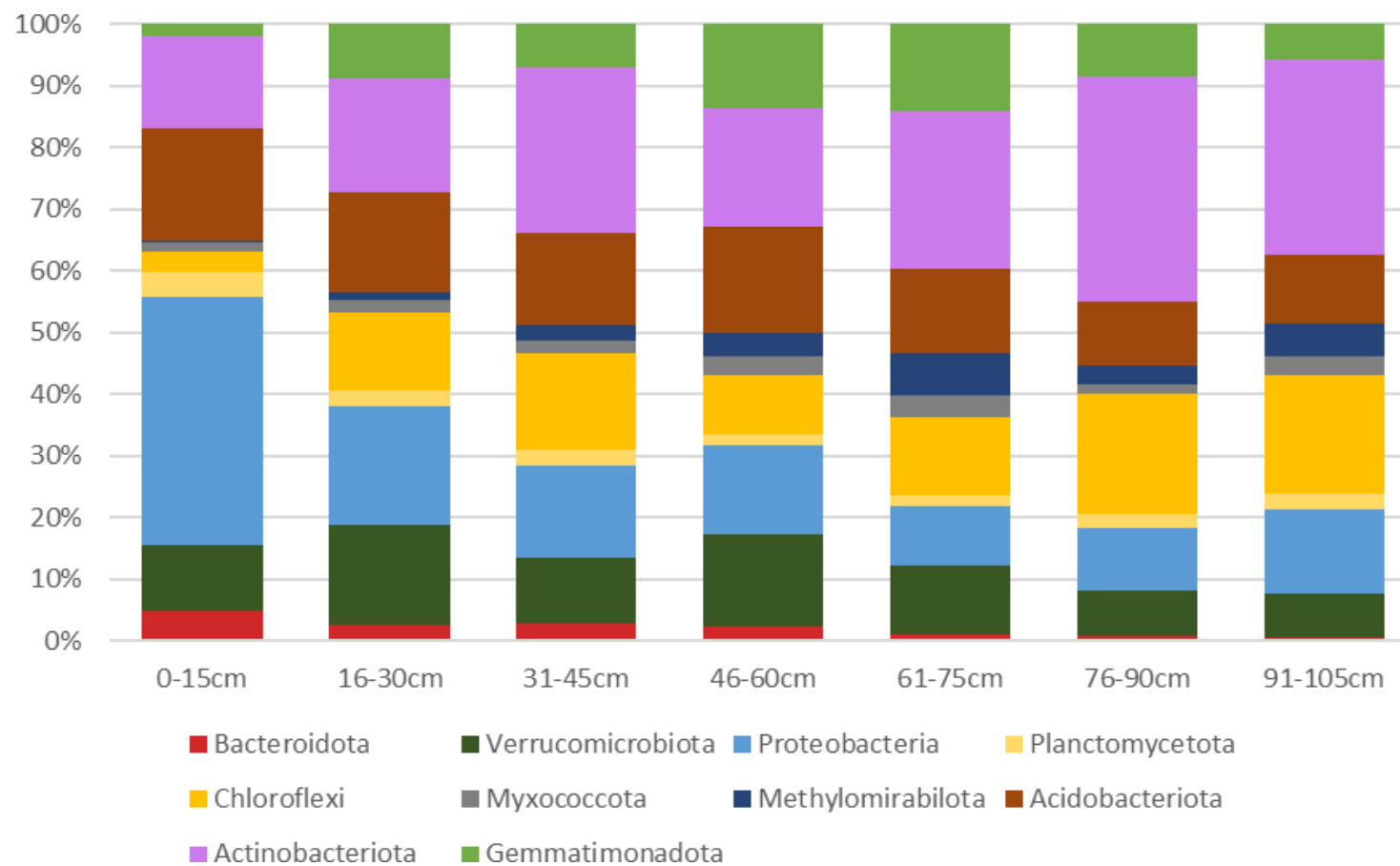
Přílohy

Příloha 1



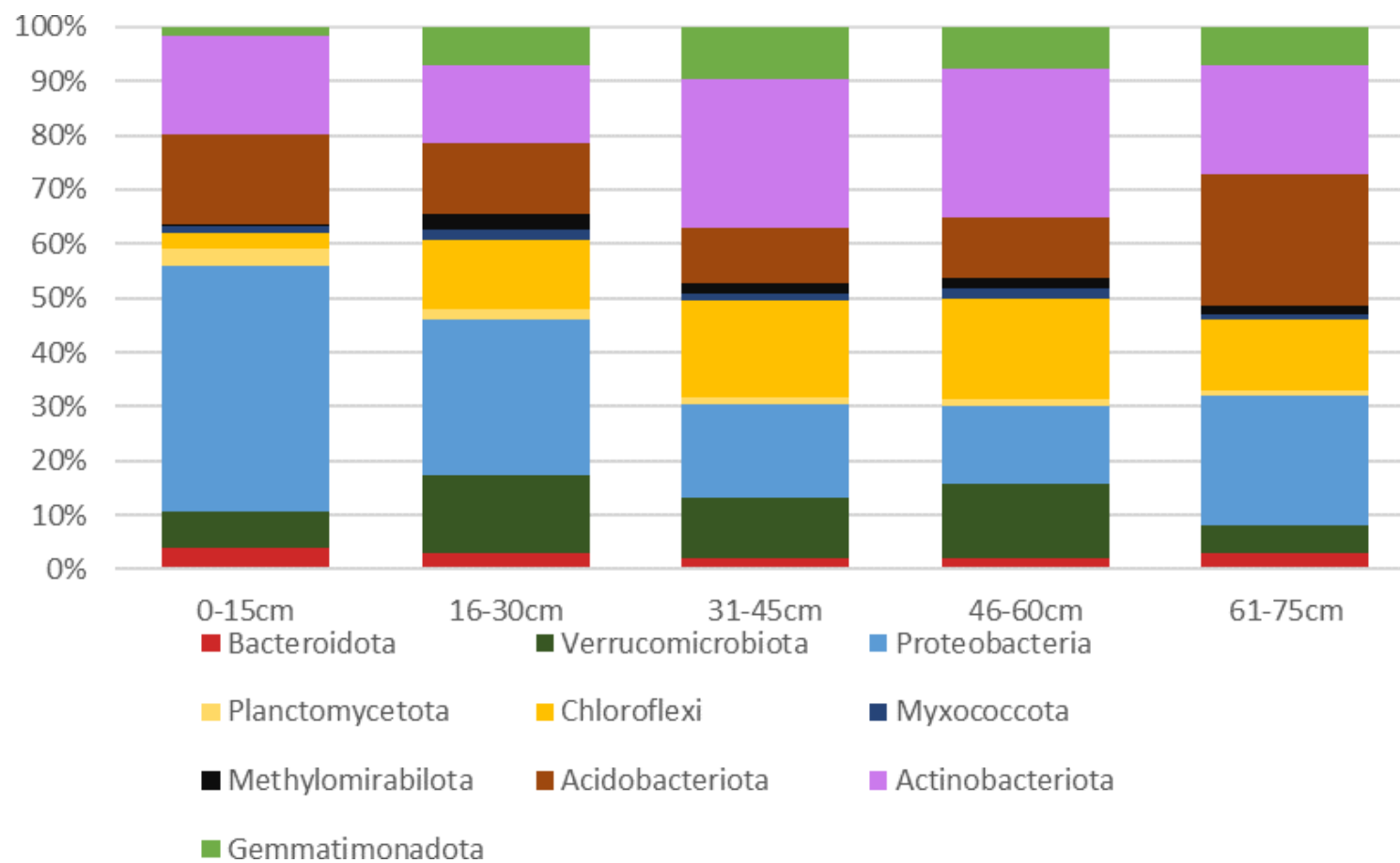
Obr. 7.: Procentuální zastoupení bakteriálních kmenů v DNA sekvencích v různých hloubkách vlhkého scénáře

Příloha 2



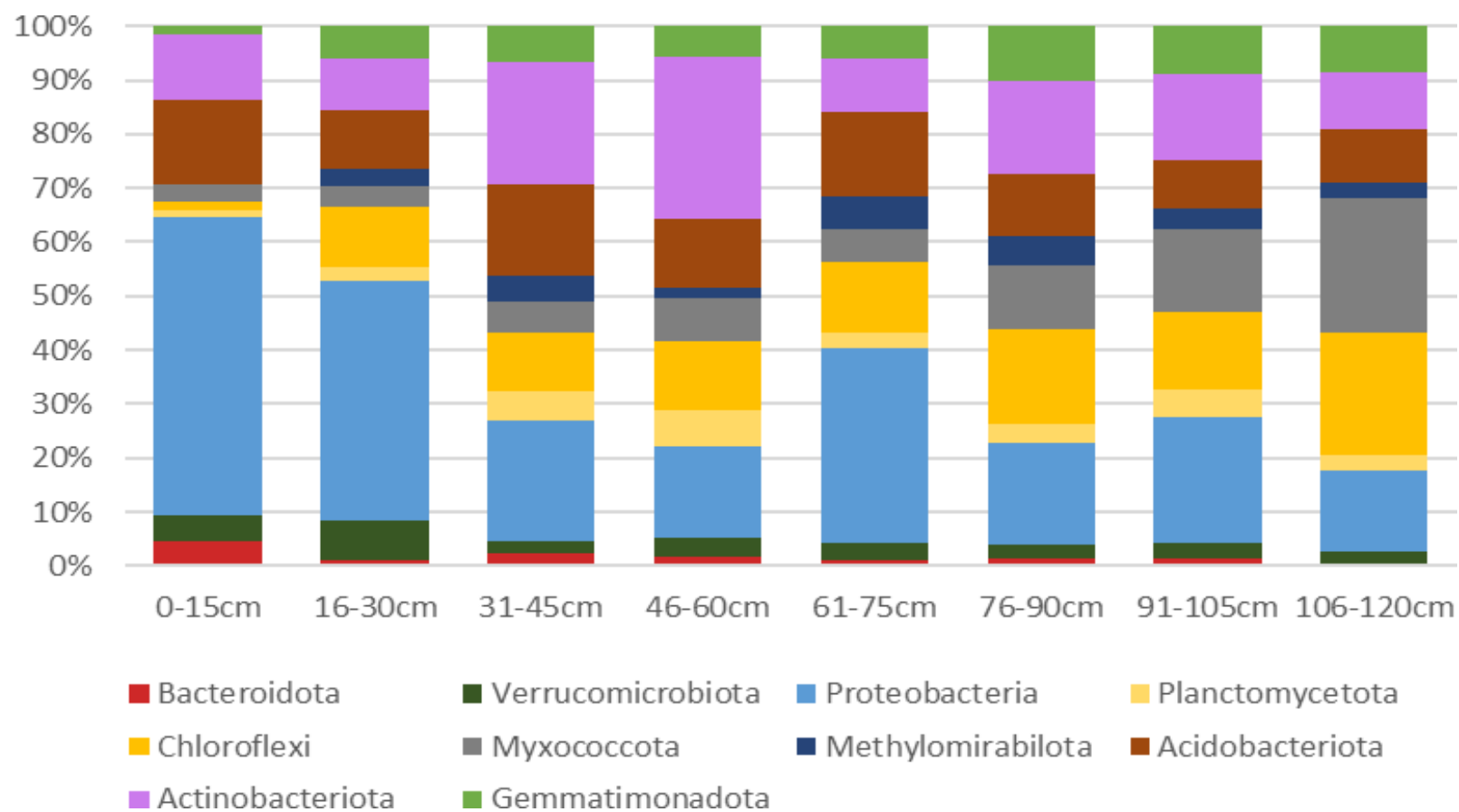
Obr. 6.: Procentuální zastoupení bakteriálních kmenů v DNA sekvencích v různých hloubkách suchého scénáře.

Příloha 3



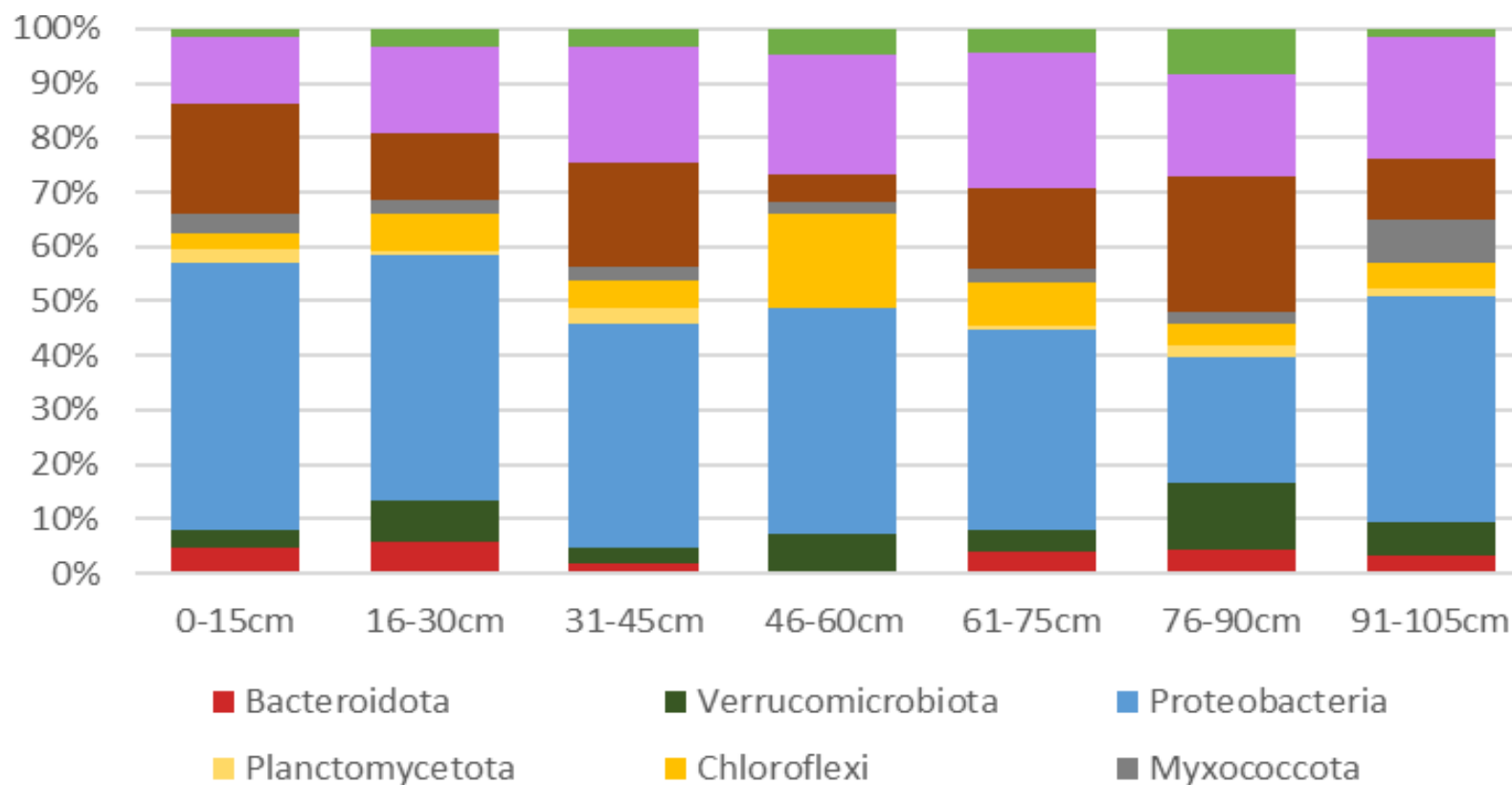
Obr. 7.: Procentuální zastoupení bakteriálních kmenů v DNA sekvencích v různých hloubkách **kontrolního scénáře**

Příloha 4



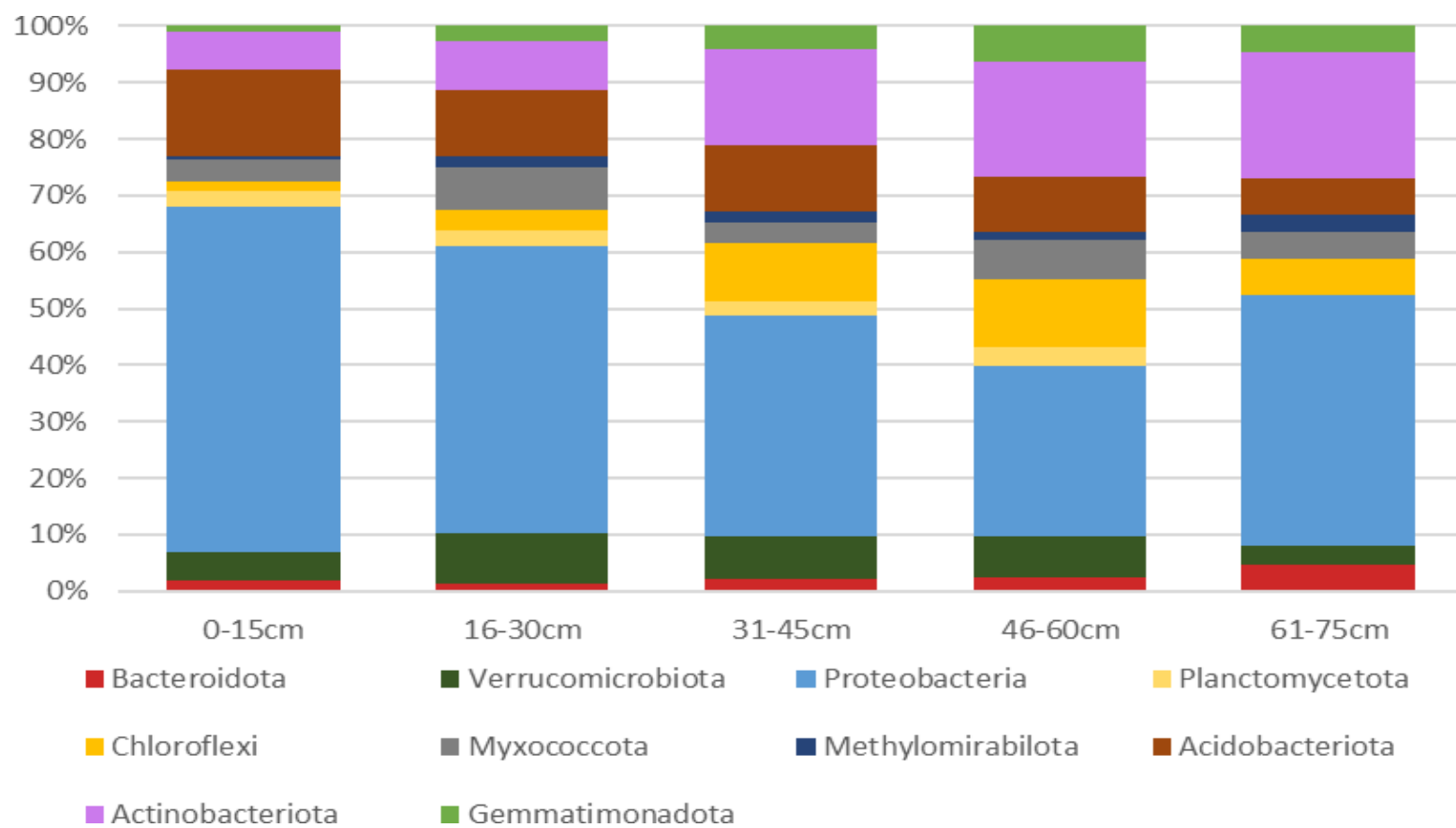
Obr. 8.: Procentuální zastoupení bakteriálních kmenů v RNA sekvencích v různých hloubkách **vlhkého scénáře**

Příloha 5



Obr. 9.: Procentuální zastoupení bakteriálních kmenů v RNA sekvencích v různých hloubkách **suchého scénáře**

Příloha 6



Obr. 10.: Procentuální zastoupení bakteriálních kmenů v RNA sekvencích v různých hloubkách **kontrolního scénáře**