

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

FAKULTA PEDAGOGICKÁ

CENTRUM BIOLOGIE, GEOVĚD A ENVIGOGIKY

METAGENOMICKÁ IDENTIFIKACE BAKTERIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

KAROLÍNA HLINKOVÁ

Přírodovědná studia, obor biologie se zaměřením na vzdělávání

Vedoucí práce: Mgr. Jaroslav Pavelka, Ph.D.

Plzeň 2022

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a zdrojů informací.

V Plzni, 26. dubna 2022

.....
vlastnoruční podpis

PODĚKOVÁNÍ: Ráda bych poděkovala svému vedoucímu práce, Mgr. Jaroslavu Pavelkovi, Ph.D. za jeho vstřícnost, pochopení a odborné rady při vedení této bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala za veškerou pomoc při zpracovávání dat a za poskytnutí dat.

OBSAH

KLÍČOVÁ SLOVA.....	2
ÚVOD.....	3
1 EKOLOGIE, VÝZNAM A DRUHY BAKTERIÍ.....	5
1.1 POHŘEBIŠTĚ A HŘBITOVY.....	5
1.2 VODA A SEDIMENTY.....	5
1.3 MYKOBAKTERIE A PŮDNÍ BAKTERIE.....	6
1.3.1 Rozklad látek v ekosystému.....	7
1.4 MOŘSKÉ BAKTERIE.....	8
1.5 SLADKOVODNÍ BAKTERIE.....	8
1.6 SINICE.....	8
1.7 TERMOFILNÍ BAKTERIE.....	9
2 LOKALITA.....	10
2.1 SEMONICE.....	10
2.2 HOSTIVICE.....	11
3 IZOLACE DNA.....	13
3.1 IZOLACE DNA POMOCÍ MAGNETICKÝCH KULÍČEK.....	13
4 PCR.....	16
5 SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE.....	17
6 ILLUMINA.....	18
6.1 PRINCIP.....	18
7 METAGENOMIKA A METATAXONOMIE.....	20
7.1 METAGENOMICKÁ ANALÝZA.....	20
7.2 TAXONOMICKÁ KLASIFIKACE.....	21
7.3 BIOINFORMATIKA.....	22
8 MATERIÁL A METODY.....	23
8.1 ODBĚR VZORKŮ.....	23
8.2 IZOLACE DNA.....	23
8.3 ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ.....	23
8.4 ILLUMINA.....	24
9 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	25
9.1 SLADKOVODNÍ BAKTERIE.....	26
9.2 BAKTERIE DŮLNÍCH VOD A PODZEMNÍCH VOD.....	29
9.3 BAKTERIE KONTAMINOVANÝCH VOD, ODPADNÍCH VOD, KALU.....	31
9.4 SINICE (CYANOBACTERIA) A FOTOTROFNÍ BAKTERIE.....	33
9.5 MOŘSKÉ BAKTERIE.....	35
9.6 BRACKICKÉ VODY.....	43
9.7 SLANÁ JEZERA A SLANÉ VODY.....	44
9.8 TERMOFILNÍ BAKTERIE A GEOTERMÁLNÍ BAKTERIE.....	45
9.9 JINÉ VÝSKYTY VODNÍCH BAKTERIÍ.....	47
ZÁVĚR.....	52
RESUMÉ.....	54
SUMMARY.....	55
SEZNAM LITERATURY.....	56
SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK, GRAFŮ A DIAGRAMŮ.....	77

KLÍČOVÁ SLOVA

Metagenomika, bakterie, diverzita bakterií, Illumina, vodní bakterie, půdní bakterie, identifikace bakterií, kosmopolitní bakterie, sekvenování nové generace, mořské bakterie, termofilní bakterie, sinice, sladkovodní bakterie, bakterie důlních vod, kalů, odpadních vod.

ÚVOD

Tato práce se zabývá zkoumáním výskytu bakterií ve vzorcích z historického pohřebiště. Vzorky obsahují hlínu, zuby a kosti z oblasti Semonic a Hostivic. Z jednotlivých vzorků byly získány různé rody bakterií, některé určené i do druhu. Smyslem studie je porovnat výskyt jednotlivých bakterií s odebranými vzorky z pohřebiště a literaturou, která udává výskyt bakterií ve světě. Celkem bylo odebráno šest vzorků. Tři vzorky z oblasti Hostivic a taktéž tři vzorky z oblasti Semonic.

Společnost Illumina od roku 2007 využívá metod sekvenování nové generace. Přispěla zároveň k objevu a vývoji molekulárních testů, léčiv apod. Nyní je sekvenování díky metodám Illumina sekvenování nové generace dostupnější a levnější (Preston et al. 2021). Metoda od společnosti Illumina pro sekvenování nové generace přináší také vysokou spolehlivost a přesnost čtení sekvencí [1]. Tato práce využívá metagenomického sekvenování metodami Illumina. Využilo se sekvenování pomocí přístroje od společnosti Illumina MiSeq. Díky přečteným sekvencím jsme získali širokou škálu metagenomických dat, které se dále zpracovávali do výsledků.

Pro zpracovávání dat do výsledků bylo využito softwaru CosmosID a SEED2. Software CosmosID nabízí úplné sekvenování genomu a jeho analýzu. Využívá metagenomického sekvenování nové generace pro analýzu vzorků. Na vývoji CosmosID se podílela mikrobioložka Rita Colwell. Díky ní v roce 2008 byl vyvinut program v oblasti bioinformatiky CosmosID [2]. Druhým programem je SEED2. Tento software je vhodný pro jakákoliv data ze sekvenování pomocí přístroje Illumina. Je rychlý a přehledný pro zpracovávání metagenomických dat. Slouží pro rychlou identifikaci taxonů (Větrovský et al. 2018).

Sekvenování pomocí přístrojů Illumina nám otevírá možnost zkoumání mikrobiálních společenstev nejen v lékařství, ale i v jiných oborech. Bakterie jsou doposud nedostatečně poznány mikroorganismy na světě. Tato práce nám dává možnost prozkoumat mikrobiální diverzitu v půdě na pohřebišti. Je zaměřena především na vodní a termofilní bakterie, které rozšiřují diverzitu půdy.

Právě ve vodě a sedimentech patří bakterie k jedněm z nejrozšířenějších mikroorganismů. Podílejí se na udržování životního prostředí a mohou být zdravotním rizikem pro ostatní živočichy například při narušení ekosystému. Proto je důležité zkoumat jednotlivá prostředí po celém světě (Abia et al. 2018). Na rozšiřující mikrobiální diverzité

se podílejí mimo jiné i antropogenní činnosti člověka. Nejčastěji se jedná o zavlečení cizích bakterií z živočišného odpadu, zavlečením cizorodých druhů, čištěním odpadních vod a jiné (Abia et al. 2019).

V teoretické části bakalářské práce se zabýváme ekologií a výskytem bakterií. Cílem je získat teoretický přehled z literatury, kde se bakterie vyskytují. Vzorky jsou odebrány z pohřebiště, takže dané bakterie jsou spjaty s prostředím půdy, vody a mikrobiomu živočichů. Důležitý je i význam bakterií vyskytujících se v daném prostředí a jejich funkce v ekosystému. Dále je cílem popsat metody molekulární biologie, které byly pro zpracování vzorků použity. Velký důraz je kladen především v teoretické části na izolaci DNA, sekvenování a metagenomiku.

Praktická část zahrnuje jednotlivé výsledky získaných bakterií, dle přečtených sekvencí ve vzorcích. Zároveň praktická část bakalářské práce zahrnuje diskuzi, která je pro lepší přehled propojená s výsledky práce. Celá praktická část je rozšířena o přehledné tabulky s počty sekvencí ve vzorcích a grafy s četností jednotlivých bakterií. Výsledkem práce je získat nové poznatky o výskytu bakterií v ekosystému.

1 EKOLOGIE, VÝZNAM A DRUHY BAKTERIÍ

Mikroorganismy se vyskytují přirozeně v půdě, vodě, vzduchu, zvířatech, lidech, ale i v permafrostu, termálních pramenech, prostředích s vysokým obsahem kovů či prostředích s vysokým obsahem soli. To dokazuje, že jsou všudypřítomné. Výskyt v těchto prostředích je pro mikroorganismy zcela běžný a tvoří vyvážený ekosystém. Nicméně různé mikroorganismy mohou být do těchto ekosystémů zavlečeny a mohou narušit rovnováhu prostředí. Veškeré znečištění těchto ekosystémů může způsobit například intoxikaci podzemních vod a lidé se pak mohou konzumací vody nakazit patogenem nově žijícím v podzemní vodě. Znečištění ekosystému může být zdravotním rizikem. Nicméně osidlování nových oblastí lidmi vede rozrůstání rozmanitosti mikrobiomu v životním prostředí (Abia et al. 2019).

1.1 POHŘEBIŠTĚ A HŘBITOVY

Hřbitovy a pohřebiště mohou být zdravotním rizikem, přestože se stále předpokládá, že nemají vliv na životní prostředí. Nicméně pohřbená těla mohou obsahovat patogeny, které se mohou dostat do podzemních vod a intoxikovat vodu. Pro obyvatele měst žijících poblíž hřbitovů to může značit jisté riziko. Přesto jsou to stále jen hypotézy a provádí se výzkumy, které tyto hypotézy mohou buď potvrdit, anebo vyvrátit (Abia et al. 2019).

Nynější studie se zabývá rozmanitostí mikrobiomu na pohřebištích a hřbitovech, která by mohla ovlivnit kvalitu půdy, podzemní vody a ovlivňovat zdraví lidí žijících v blízkosti hřbitovů a pohřebišť. Ve výzkumu se využívá nových molekulárních přístupů (např. sekvenování nové generace – NGS), které pomáhá identifikovat mikroorganismy z jednotlivých vzorků z pohřebišť a hřbitovů (Abia et al. 2019).

1.2 VODA A SEDIMENTY

Ve vodě a sedimentech se hojně vyskytují různé druhy bakterií a mikroorganismů. Z toho bakterie se v těchto prostředích vyskytují nejhojněji. Hrají významnou roli při zneškodňování odpadních látek dostávající se do vodního ekosystému a půdního ekosystému. Znečištění vod a půdy může vést ke znečištění životního prostředí a rozvoji patogenních mikroorganismů, které mohou ohrožovat zdraví zvířat i lidí. Pokud se z nečistot vnikajících do těchto prostředí stanou sedimenty, mohou být rizikem pro budoucí generace. Jestliže by došlo k rozrušení sedimentu, uvolní se látky do vodního prostředí a v případě konzumace vody by mohlo dojít k infekci (Abia et al. 2018).

Z řeky Apies v Africe byla provedena studie zkoumající rozmanitost bakterií ve vodě a sedimentu. Mnoho místní komunity tuto řeku užívá pro hygienu apod. Pro místní obyvatele může být vysokým rizikem infekce. V řece Apies bylo nalezeno mnoho patogenních mikroorganismů narušující kvalitu vody (Abia et al. 2018).

1.3 MYKOBAKTERIE A PŮDNÍ BAKTERIE

Rozmanitost mikroorganismů v půdě je velmi bohatá, dokonce až 109 buněk na 1 gram půdy. Tyto mikroorganismy mohou žít v různých typech půd, jako jsou jílovité půdy, písčité půdy, bahnité a mnoho dalších (Garbeva et al. 2004).

Bakterie žijící v půdě můžeme rozdělit na 3 hlavní skupiny, bakterie autochtonní, zymogenní a patogenní. Autochtonní bakterie jsou bakterie žijící v půdě, přičemž jejich množství v půdě se výrazně nemění. Jsou přirozenou součástí půdy. Skupina autochtonních bakterií zahrnuje rody *Streptomyces*, některé *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Nocardia* a mnoho dalších. Zymogenní bakterie se taktéž vyskytují přirozeně v půdě, jinde nemají příznivé podmínky pro život. Jsou součástí biochemických procesů v půdě a usnadňují některým rostlinám příjem živin z půdy. Jsou významnou skupinou související s koloběhem uhlíku a dusíku v ekosystému. Zymogenní bakterie zahrnují rody *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, některé rody *Pseudomonas*, *Aeromonas* a jiné. Poslední významnou skupinou bakterií jsou půdní patogenní bakterie. Mezi tuto skupinu můžeme zahrnout především bakterie rodu *Clostridium* a *Bacillus*. Mohou způsobovat onemocnění jako je například tetanus, plynatá sněť nebo botulismus (Rosypal et al. 1981).

Mykobakterie jsou přirozenou součástí ekosystému. Podílí se na biochemických cyklech v ekosystému a výrazně ovlivňují zdraví a nemoci rostlin a živočichů v prostředí. Bakterie a houby bývají už velmi dlouhou dobu využívány v potravinářství, lékařství, zemědělství apod. Velmi mnoho bakterií a hub žije pospolu a interagují spolu. Dobrým příkladem toho může být lidský patogen *Candida albicans* a *Pseudomonas aeruginosa*. Tyto kvasinky a bakterie mohou kolonizovat jak lidské tělo, tak kořeny rostlin, půdy apod (Deveau et al. 2018).

Jelikož bakterie hormonálně ovlivňují růst rostlin pomocí auxinu, gibberelinů, cytokininů a glykolipidů, vyskytují se v půdě v hojném množství. Vysoce se vyskytují rody *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Phyllobacterium*, *Agrobacterium* a mnoho dalších. Půdní bakterie a houby jsou i významnými dekompozitory organické hmoty (Garbeva et al. 2004).

1.3.1 ROZKLAD LÁTEK V EKOSYSTÉMU

Na rozkladu látek v ekosystému se výrazně podílí bakterie. Jsou součástí přirozeného koloběhu života a smrti. Ovlivňují pH půdy a ovlivňují životní prostředí při rozkladu látek. Mohou produkovat odpadní látky do prostředí a ovlivňovat kvalitu půdy, vody apod. Bakterie ihned po autolýze buněk obratlovců začínají rozkládat jednotlivé tkáně. Bakterie využívají odumřelé tělo pro svoji výživu a život. Rozklad organismů v ekosystému má několik fází. Na počátku zemře živočich a bakterie se začnou vysoce množit a migrovat za odumřelou tkání. Během množení bakterií vytvářejí navíc proteiny, které jsou důležité pro trávení tkání. Při rozkladu dominuje bakterie *Clostridium* (Burcham et al. 2019). Po smrti se rozmanitost mikrobiomu člověka snižuje. Bakterie *Lactobacillus* a *Bacteroidetes* jsou hojné v živém lidském těle, po smrti se jejich počty snižují. Podle publikace Zhou a Bian (2018) bylo prokázáno, že v půdě okolo usmrčeného těla se vyskytuje více bakterií *Firmicutes*. Bakterie, které se vyskytovali v lidském těle, se po smrti hostitele přemísťují z těla do půdy (Zhou a Bian 2018).

Dle Shirley et al. (2011) lidské tělo prochází 5 stádii posmrtného rozkladu. Prvním posmrtným stádiem je čerstvé stádium, následuje odbarvovací stádium, nadýmání, počáteční stádium rozkladu, na které finálně navazuje pokročilé stádium rozkladu. Při čerstvém stádiu začíná postupně proces autolýzy buněk a tkání, k odumřelému tělu migrují drobné organismy například mouchy. V návaznosti k dalšímu stádiu začíná odumřelé tělo měnit barvu, až se postupně odbarví. Odbarvení těla je doprovázeno hnilobou, kdy se v odumřelém těle množí plísňe a houby. Postupný rozklad krve zanechává na těle pruhy či skvrny a taktéž doprovází stádium odbarvení. Následuje fáze nadýmání, při které se uvolňují plyny mikrobiálního rozkladu do okolí. Do těla se dostávají larvy, které napomáhají rozkladu a umožňují počáteční i pokročilé stádium rozkladu těla tzv. skeletonizaci. V těchto dvou finálních fázích se začíná objevovat kostra a dochází k rozpadu jednotlivých kostí (Shirley et al. 2011).

1.4 MOŘSKÉ BAKTERIE

Mořské bakterie můžeme najít v jakémkoliv mořském a oceánském prostředí. Nejvíce je nalezneme v znečištěných vodách. Jsou schopny přežít i ve velkých hloubkách moře a oceánů. Nalezneme zde rody především *Aeromonas*, *Clostridium*, *Vibrio* či *Pseudomonas*. Lze zde nalézt i patogenní bakterie živočichů například rody *Aerococcus*, *Flexibacter*, *Salmonella* a mnoho dalších (Rosypal et al. 1981).

Dle Azam a Worden 2004 mezi nejčtenější mořské sinice patří rody *Prochlorococcus* a *Synechococcus* (Azam a Worden 2004). V Atlantském oceánu se nacházejí *Gammaproteobacteria*, *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae*, *Alteromonadaceae* či *Oceanospirillaceae* (Schauer et al. 2010). Četný výskyt v Arabském moři zahrnují *Proteobacteria*, *Firmicutes* či *Actinobacteria* (Kumar et al. 2019). Dle Ye et al. 2016 v Jihočínském moři se hojně vyskytují bakterie *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* a *Acidobacteria* (Ye et al. 2016).

1.5 SLADKOVODNÍ BAKTERIE

Přirozenými bakteriemi vyskytující se v sladkovodním prostředí jsou rody *Leptothrix*, *Micrococcus*, *Spirillum*, *Chromobacterium* a mnoho dalších. Ve velmi čistých vodách najdeme hojně bakterie rodu *Sphaerotilus*, *Hyphomicrobium* nebo *Caulobacter*. Ve vodních prostředích se vyskytuje opravdu mnoho rodů bakterií. Ve stojatých vodách můžeme najít například i rod *Clostridium*, který se vyskytuje i v půdě. Často se do vodního prostředí dostávají i živočišné fekálie, a proto se zde mohou vyskytovat střevní bakterie. Na základě znečištění vod nalezneme zde i patogenní bakterie například rod *Salmonella* (Rosypal et al. 1981).

1.6 SINICE

Cyanobacteria neboli sinice jsou fotosyntetické bakterie, které se vyskytují ve vodních i suchozemských prostředích. Mohou se vyskytovat i na extrémních stanovištích, jako jsou například pouště, polární oblasti či termální prameny. Za vhodných podmínek ve vodě mohou sinice kvést a produkovat toxiny, které výrazně ovlivňují kvalitu vody. Mohou jimi být například dermatotoxiny, neurotoxiny a jiné. Často mohou být v symbióze s lišejníky či rostlinami, které produkují hepatotoxiny. Díky klimatickým změnám mají sinice vhodné klimatické podmínky k množení a tvorbám sinicových květů. Nejčastěji se vyskytují rody *Cylindrospermopsis* a *Aphanizomenon* (Moreira et al. 2014).

1.7 TERMOFILNÍ BAKTERIE

Termofilní bakterie osidlují suchozemská i vodní prostředí. Mohou se vyskytovat v hydrotermálních průduších, horkých pramenech, biokompostu, ale i geotermálně vyhřívané ropě. Exotermická reakce při rozkladu celulózy vytváří příznivé podmínky pro výskyt termofilních bakterií. Podle teploty v níž se termofilní bakterie vyskytují, je můžeme rozdělit na mírné termofily, extrémní termofily a hypertermofily. Mírní termofilové se vyskytují při teplotách okolo 50-70°C, extrémní termofilové při teplotách nad 70°C do cca 80°C. Nakonec hypertermofilové se vyskytují při teplotách 80°C a víc. Mezi typické termofilní bakterie patří zejména rod *Clostridium*, *Caldicellulosiruptor*, *Thermoanaerobacterium*. Mezi některé zástupce termofilních bakterií můžeme zařadit například *Clostridium thermocellum*, *Clostridium stercorarium*, *Caldicellulosiruptor bescii*, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* a *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* (Singh et al. 2021).

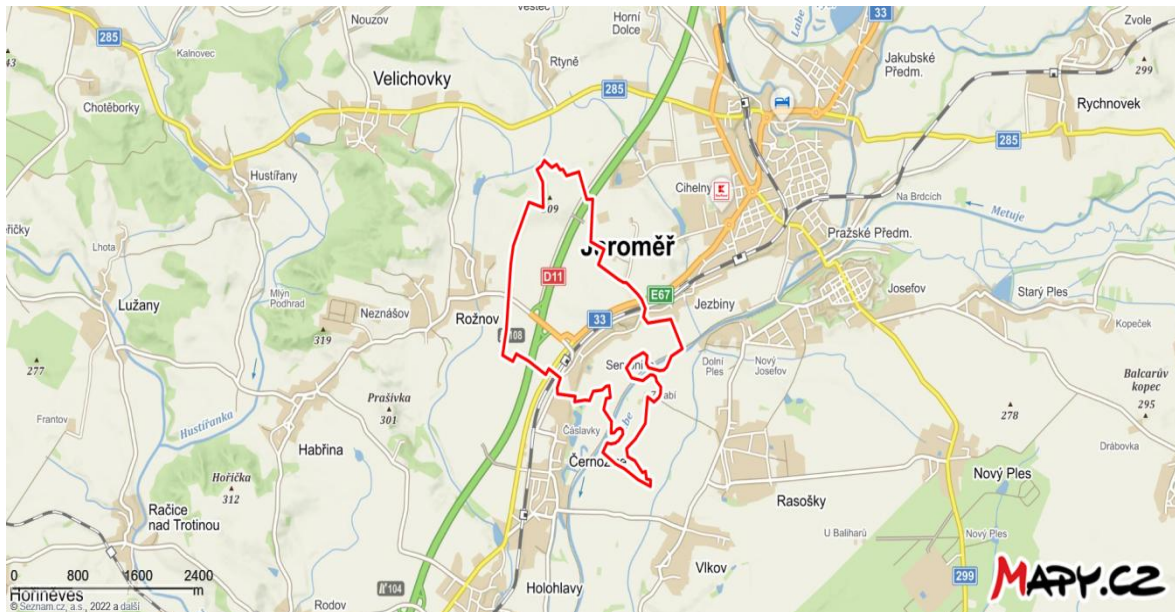
2 LOKALITA

Zubní, kostní a vzorky hlíny pocházely ze dvou historických lokalit. Jednou lokalitou jsou Semonice a druhou Hostivice. Obě lokality se nacházejí v České republice v podobné nadmořské výšce (viz. Obr. 1. a Obr. 2.). Hostivice jsou součástí Středočeského kraje a spadají pod hlavní město Praha. Semonice jsou drobná vesnice, která spadá pod město Jaroměř nacházející se v Královehradeckém kraji.

2.1 SEMONICE

V Královehradeckém kraji v okrese Náchod se nachází vesnice Semonice, která spadá pod město Jaroměř. Vesnice Semonice se vypíná v nadmořské výšce přibližně 281 metrů nad mořem. Vesnicí Semonice protéká řeka Labe a Mlýnský náhon. V Semonicích se zároveň vyskytuje rybník Přílov. V Semonicích se nachází mnoho zemědělských polí a z historického hlediska zde můžeme najít kostel sv. Markéty, hřbitov Semonice a Evangelický kostel [3]. Semonické pohřebiště můžeme zahrnout do doby 2. poloviny 16. století až do 1. poloviny 17. století (Zichová 2021). Lokalitu Semonice je možné vidět na obrázku 1 (viz. Obr. 1.).

Semonice spadají do hercynské podprovincie, konkrétně do Cidlinského bioregionu. V této provincii jsou zastoupeny z hlediska reliéfu především rozřezané pložiny na spraších. Většinou se jedná o reliéf vzhledu nakloněné plošiny, který je typický pro Cidlinský bioregion. Půdy jsou zde jílovité až písčité a místy se zde vyskytují i kyselé pískovce, bazické neovulkanity, hadce či ruly. Charakteristická je zde hnědozem i černoze. Semonice se nacházejí v dubobukovém vegetačním stupni a mírně teplém klimatu. Ojedinele se zde mohou vyskytnout i teplotní inverze. Z hlediska vegetace je tento region vhodný pro ovocné stromy, keře i jiné rostliny. Například zde nalezneme rody *Prunus*, *Fraxinetum*, *Genisto*, *Calthion* a jiné. Lesnatost je v tomto bioregionu nízká a pohybuje se okolo 10 %. Vyskytují se zde četná pole, která jsou jedna z nejúrodnějších. Travní porosty jsou zde nejsou příliš rozmanité. Vyskytují se zde mokřady a vlhké louky (Culek et al. 2003).



Obr. 1 Lokalita Semonice [3]

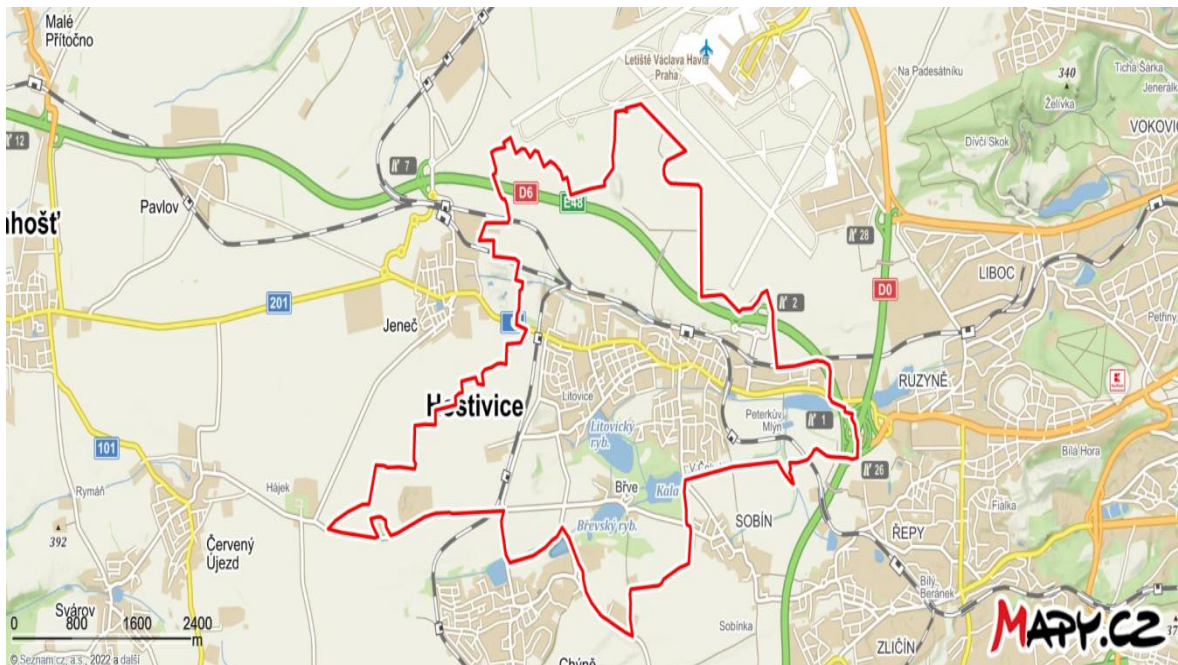
Zdroj: Mapy.cz

2.2 HOSTIVICE

V okrese Praha-západ se nachází město Hostivice. Toto město leží ve Středočeském kraji a spadá pod hlavní město Praha. Hostivice leží v nadmořské výšce přibližně 350-380 metrů nad mořem. Nalezneme zde pět rybníků ležící nedaleko od sebe. Prvním je Kalý rybník, dalším je Litovický rybník, rybník Strnad, Peterkův rybník a posledním je Břevský rybník. Hostivicemi protékají dva potoky. Mezi ně patří Jenečský potok a Litovický potok. Značnou část Hostivic tvoří přírodní památka Hostivické rybníky. Z historického hlediska zde nalezneme tvrz Litovice, Hostivický hřbitov, kaple Panny Marie, kostel sv. Jakuba, zámek Hostivice [4]. Hostivické pohřebiště můžeme zahrnout do 2. poloviny 18. století (Zichová 2021). Lokalitu Hostivic je možné vidět na obrázku 2. (viz. Obr. 2.).

Hostivice můžeme zařadit do Řípského regionu, který spadá pod hercynskou podprovincii. Vyskytuje se v suché srážkové oblasti a spadá do bukodubového až bukového vegetačního stupně. Pro tento region je charakteristické teplé až mírně teplé klima. Charakteristickým reliéfem jsou zde také rozřezané plošiny či vrchy na vulkanitech. Rozřezané plošiny jsou tvořeny opukou, sprašemi a droby. Jsou zde časté svahy a nakloněné plošiny a typická jsou zde i zvlněná údolí. Půda je tvořena pískovcem, slínovcem, prachovcem, bazalty, bazanity sodality či jílovitým vápencem. Nalezneme zde i slepence. Řípský region je bohatým geologicko-paleontologickým nalezištěm.

Charakteristická je zde černozem, hnědozem i fluvizem (nivní půda). Vegetace je zde tvořena rody *Potentilla*, *Quercetae*, *Carpinus*, *Festuca*, *Stellaria*. Pole a zemědělské půdy jsou zde ohraničeny vodními toky a dopravní komunikací. Travní porosty jsou tvořeny křovinami (Culek et al. 2003).



Obr. 2 Lokalita Hostivice [4]

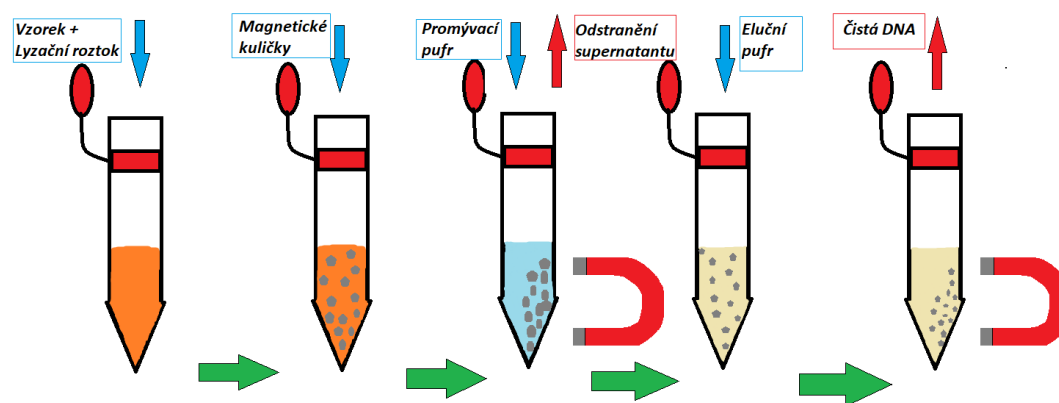
Zdroj: Mapy.cz

3 IZOLACE DNA

Základní laboratorní metoda izolace DNA se využívá už desítky let s využitím Fenol-Chloroformu. Podle Krausz a Bose 2016 lze pomocí klasické izolace DNA s pomocí Fenol-Chloroformu získat jakoukoliv nukleovou kyselinu různých organismů. Lze tedy i extrahovat RNA. Klasická metoda zahrnuje mnoho centrifugací a pipetování. Do sterilních zkumavek napipetujeme lyzační pufr s bakteriemi, vytvoří se pufr, který bude zakalený. Přidáme 2 μ l lysostafinu a inkubujeme ve vodní lázni o 37°C. Inkubujeme po dobu cca 30 minut. Následně přidáme 3 μ l 3% dodecylsulfátu sodného a směs inkubujeme při 95°C cca po dobu 10 minut. Poté směs necháme odpočívat, dokud se neochladí na pokojovou teplotu cca 5 minut. Dále přidáme Fenol-Chloroform-Isoamylalkohol a vortexujeme. Následně vložíme do centrifugy na 5 minut a poté ze zkumavky odebereme supernatant. Vložíme opět do centrifugy, postup opakujeme a na závěr přidáme TE pufr. Vzorek je připraven pro další manipulaci. Izolace DNA poskytuje velké množství materiálu pro další práci, například PCR. Po pomnožení izolované čisté DNA pomocí PCR, lze pak sledovat např. mutace genu (Krausz a Bose 2016).

3.1 IZOLACE DNA POMOCÍ MAGNETICKÝCH KULIČEK

Metoda izolace DNA pomocí magnetických kuliček je oproti klasické izolaci DNA o mnoho rychlejší a využívá magnetických částic polyhydroxyethylmethakrylát-co-glycidylmethakrylát [P(HEMA-co-GMA)], které vážou k sobě molekuly DNA. V této metodě nevyužíváme centrifugace nebo filtrace, proto je proces o mnoho rychlejší, jelikož dochází přímo k oddělení DNA pomocí magnetických částic ve směsi. Smícháme magnetické kuličky a vzorek DNA, následně dojde k vazbě mezi molekulami DNA a magnetickou částicí kuličky (Obr. 3.). K oddělení zbytku nečistot využijeme magnetický separátor a vymyjeme nečistoty z celkového vzorku. Pak získáme pouze molekuly DNA (Trojánek 2013).



Obr. 3 Izolace DNA pomocí magnetických kuliček

Zdroj: Vlastní zpracování dle Trojánek 2013

Využijeme magnetických nosičů F-kol 135 ox P(HEMA-co-GMA), F-kol B 100 ox P(GMA) a separační směsi (viz. Tab. 1.) (Trojánek 2013).

Tab. 1 Separační směs

Zdroj: Vlastní zpracování dle Trojánek 2013

Komponenty	Objem [μ l]
Magnetický nosič [2mg/ml]	25 50
Hrubý lyzát buněk	25 50
5 M NaCl	100 200
40% PEG 6000	100 200
Celkem	250 500

Zhruba 15 minut zahříváme směs s magnetickými kuličkami při teplotě 22°C (běžná laboratorní teplota). Následně vložíme směs do magnetického separátoru cca na 5 minut. Po oddělení magnetických kuliček odpipetujeme supernatant, ale stále v blízkosti magnetického pole. Magnetické kuličky a na nich navázanou DNA odebereme z magnetického pole a vyčistíme 70% ethanolem (500 μ l). Směs opět vložíme do magnetického separátoru cca na 1 minutu, kde dojde k oddělení magnetických kuliček. Opět odpipetujeme supernatant v blízkosti magnetického pole a postup opakujeme. Mimo magnetické pole pročistíme směs 70% ethanolem (200 μ l) a opět vložíme do magnetického

separátoru na 1 minutu. Do třetice odpipetujeme supernatant v blízkosti magnetického pole a vyčkáme, než se odpaří 70% ethanol. Magnetické kuličky spolu s navázanou DNA vymyjeme v pufru (50 μ l TE) po dobu cca 60 minut a následně vložíme do magnetického separátoru. Získaný eluát (vymytý produkt s DNA) uschováme do nové sterilní zkumavky (Trojánek 2013).

4 PCR

Polymerázová řetězová reakce (PCR) dokáže převést velmi malé množství vzorku DNA na velké množství kopií DNA, které lze uplatnit v dalších aplikacích molekulární biologie k analýze vzorku. Využívá obdobného procesu jako při mitotickém dělení buněk. Během dělení buněk se vytvoří kopie genomu buňky, která putuje do dvou nově vznikajících buněk. Dochází tedy ke zdvojování DNA a stejného principu využívá i polymerázová řetězová reakce. Primárními komponenty PCR je matrice (templát) DNA, deoxynukleotid trifosfát 66 (dNTP), základní stavební nukleotidy DNA, Taq polymeráza, oligonukleotidové primery (komplementární sekvence DNA k cílové DNA) a pufr. Nukleotidy, které tvoří DNA, jsou celkem čtyři, adenin trifosfát (ATP), thymin trifosfát (TTP), guanin trifosfát (GTP), cytosin trifosfát (CTP). Pomocí nukleotidových primerů společně s DNA polymerázou dojde k zahájení syntézy nové DNA. Pomocí Taq polymerázy jsou jednotlivé nukleotidy podle matrice spojovány a tvoří novou kopii DNA. Taq polymeráza je termostabilní a odvozená z bakterie *Thermus aquaticus*. Termostabilní Taq DNA polymeráza dokáže odolat vysokým teplotám, které se využívají k denaturaci DNA (Walters a Shapter 2013).

V PCR využíváme tři základních kroků. Prvním krokem je denaturace DNA při teplotě okolo 95°C. Dalším krokem je vazba primerů, které jsou komplementární k cíli DNA. Třetím krokem je samotná syntéza DNA, kde dochází ke čtení úseků DNA a doplňují se vhodné nukleotidy do nového vlákna podle matrice. Jednotlivé kroky se mohou vícekrát opakovat v cyklech, to znamená, že v druhém cyklu ze dvou kopií následně dostaneme čtyři nové apod. Během polymerázové řetězové reakce probíhá 25-35 cyklů (Walters a Shapter 2013).

5 SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE

Sangerovo sekvenování bylo objeveno v 70 letech 20. století. Bohužel bylo velmi nákladné a pro lékařské účely nevýhodné. Dlouho se využívalo metod Sangera, později byla objevena metoda sekvenování nové generace NGS, která se využívá nyní. Byla mnohem levnější a dostupnější pro řadu pacientů. Sekvenování nové generace umožnilo testovat a zkoumat plod v prenatálním období na aneuploidii, zjišťovat vzácné onemocnění či rakoviny. NGS metoda je velmi spolehlivá a účinná. Zkoumá rozdíly (tzv. varianty) v lidském genomu a referenčním genomu. Tyto změny mohou být dvojího typu. Prvním je velká delece nebo duplikace, která může odhalit například α -thalasemii (delece HbA1 a HbA2). Druhým typem variant je změna sekvence DNA, které v jistém případě mohou způsobit například cystickou fibrózu či jiná další onemocnění (Muzzey et al. 2015).

Sekvenování nové generace využívá několik typů technologií sekvenování, například sekvenování syntézou, iontové polovodičové sekvenování, sekvenování po ligaci a mnoho dalších technologií sekvenování. V medicíně se dnes nejhojněji využívá technologie Illumina. Využívá metodu Illumina sekvenování nové generace. NGS využívá replikace DNA, kde dochází ke kopírování DNA při každém dělení buněk. Dále využívá fluorescenčních metod, kde jednotlivé nukleotidy A, T, C a G, představují fluorescenční základ a jsou jednotlivě zbarveny do 4 různých barev (Muzzey et al. 2015).

NGS užívá prostorou separaci, kdy dochází k fixaci matrice na skleněné destičce a rozšíří se o jeden nukleotidový základ. Vše je snímáno mikroskopem, kde sledujeme polohu, barvu, intenzitu fluorescenčního záření z vlákna DNA. Následně upravená vlákna DNA jsou uvedena do původního stavu, kde nevyzařují. Proces lze tak několikrát po sobě opakovat a sledovat různé kombinace rozšiřování o nukleotidový základ, který je mapován mikroskopem. Díky této metodě můžeme číst velmi dlouhá vlákna DNA a velké množství vláken DNA. Čtení může probíhat na jakémkoliv místě vlákna a identifikovat různé nemoci, mutace apod. Díky této metodě lze přečíst celý genom (Muzzey et al. 2015).

Shotgun sekvenování je jedna z metod molekulární biologie, kdy se rozbije genom a z něho se získají velmi krátké fragmenty DNA. Tyto krátké fragmenty DNA se následně sekvenují jednotlivě. Překryv sekvencí je snímán počítačem a fragmenty jsou skládány do správného pořadí [5]. Sekvenování nové generace nevyužívá náhodného rozbití genomu na drobné fragmenty DNA, ale sekvenuje je paralelně. NGS při sekvenování využívá elektroforézu na rozdíl od shotgun sekvenování [6].

6 ILLUMINA

Společnost Illumina svými novými technologiemi umožnila možnost objevu nových léčiv, molekulárních testů a snadnější detekci chorob. Illumina využívá metod sekvenování nové generace od roku 2007. Nový přístup snížil časovou náročnost a náklady. Illumina pomohla svými technologiemi v oblastech infekčních chorob, onkologie, genomiky a mnoho dalších (Preston et al. 2021).

6.1 PRINCIP

Pomocí DNA polymerázy, která slouží jako katalyzátor celé reakce, včleňuje dNTP (deoxyribonukleosid trifosfát) do DNA templátu. Začleňovací místa dNTP jsou fluorescenčně značené a během každého cyklu proběhne excitace fluoroforu při začlenění jednotlivých nukleotidů do řetězce. Celý proces zajišťuje vysokou kvalitu a přesnost čtení. Sekvenování pomocí technologie Illumina se sestává ze čtyř základních kroků. V prvním kroku se připravují amplikonové knihovny DNA. Ty se nejčastěji připravují náhodnou fragmentací DNA či cDNA pomocí ligace adaptéru. Fragmety jsou následně PCR amplifikovány [1]. Knihovny DNA jsou propojeny s adaptéry a připevněny k pevnému podkladu tzv. „flowcell“ (průtoková komora). Průtokové komory jsou sestaveny z celkem osmi pruhů a jsou velmi hustě pokryty vzájemně kovalentními primery komplementární s adaptéry 5' a 3'. Pruhy lze načíst samostatnými knihovnami nebo multiplexovými knihovnami, které jsou typické pro bakterie. Tyto knihovny obsahují až 96 knihoven s indexy (Harris a Okoro 2014). Následně jsou pomnoženy PCR a vyčištěny. V druhém kroku se generují klastry. Vytvořené knihovny DNA připojíme do průtokové komory, kde jsou na povrchu navázány na oligokomplementární adaptéry^[1]. Jednotlivé fragmenty DNA se spolu spojují po obou koncích řetězců a jsou znehybněny. Na každém konci vytváří propojení či most mezi povrchem a fragmentem DNA. Následně může proběhnout můstková PCR (Ansorge 2009). Díky můstkové PCR (klastrové) vznikají identické kopie. Poté může začít sekvenace všech kopií současně (Harris a Okoro 2014). Třetím krokem je tedy sekvenování klastrů. Sekvenace má několik cyklů, během nichž se jednotlivé deoxyribonukleosid trifosfáty (dNTP) vážou do nukleových kyselin. Některé nukleotidy slouží jako terminátory, tedy po každém ukončení začlenění dNTP do řetězce nukleové kyseliny je vyzářena fluorescence, která pomůže identifikovat základnu (Harris a Okoro 2014). Jsou sledovány jednotlivé báze, které se navázaly do templátu. Jednotlivé nukleotidy jsou navázané na terminátor, při každém cyklu sekvenování mezi sebou

přirozeně soupeří jednotlivé čtyři nukleotidy o navázání do řetězce. Vzájemné soutěžení minimalizuje chyby a zvyšuje kvalitu oproti jiným technologiím [1]. K identifikaci je zapotřebí silného fluorescenčního signálu, abychom mohli navazovat další báze. Fluorescenční záření je snímáno CCD kamerou (Ansorge 2009). Posledním krokem je analýza dat. Srovnáme odlišnosti a výsledky nové sekvence s referenčním genomem. Následně lze výsledky dále upravovat a využít pro další postupy[1]. Illumina vynalezla různé technologie pro čtení, mezi ně patří HiSeq, MiSeq a NextSeq 500. HiSeq technologie má oproti ostatním největší výkon až 10 000 Gb. MiSeq je vhodnější pro menší laboratoře a dosahuje výkonu 15 Gb. NextSeq stojí přibližně mezi HiSeq a MiSeq. Jeho výkon je 120 Gb (Harris a Okoro 2014).

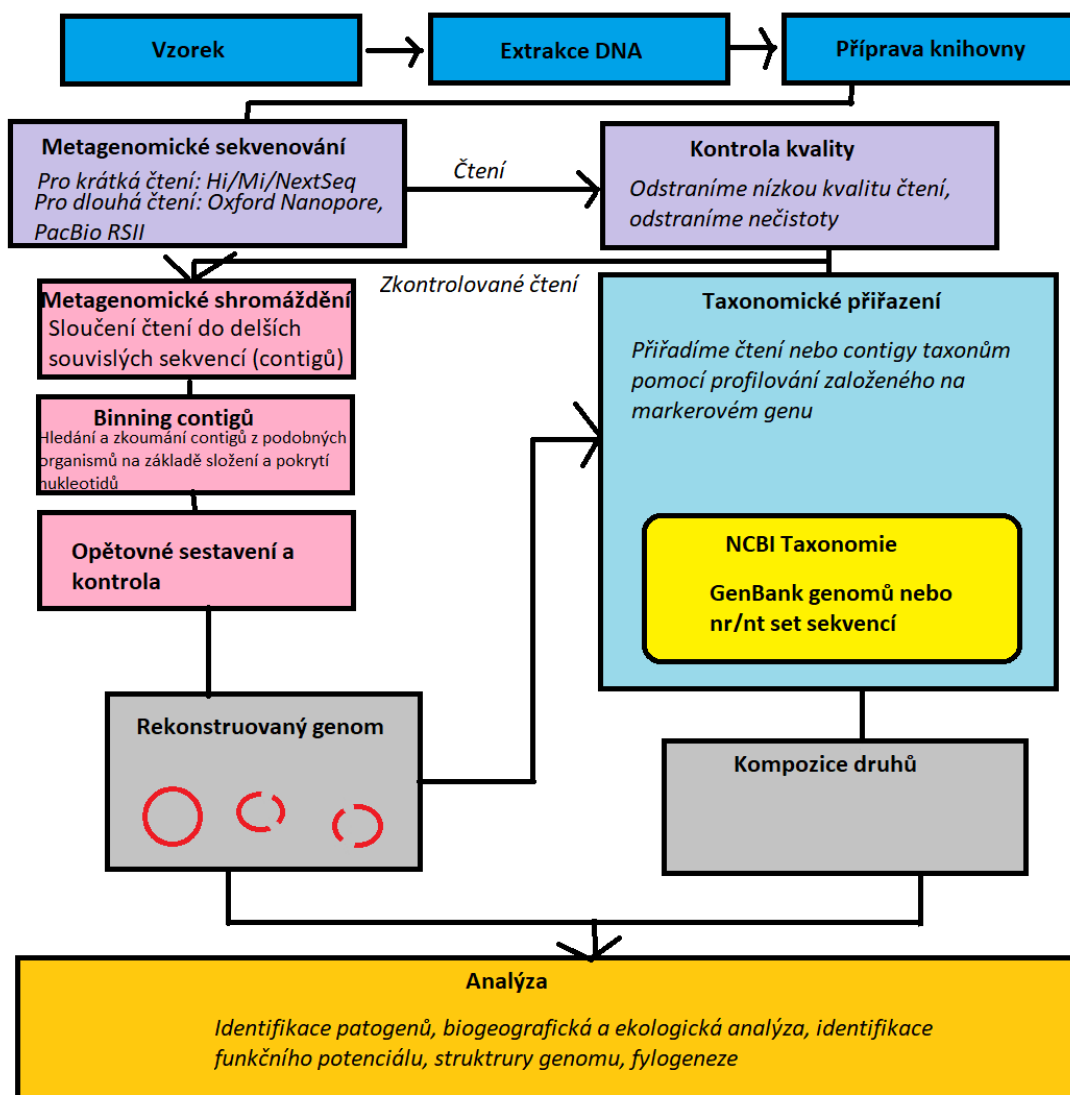
7 METAGENOMIKA A METATAXONOMIE

Pro sledování sekvencí a výzkum mikroorganismů se v dnešní době nejčastěji využívá metagenomiky a metataxonomie. Tyto dva přístupy nám mohou poskytnout širokou škálu dat o mikroorganismech ve vzorku. Pomohou nám jednotlivé organismy identifikovat a poskytnout informace o jejich genech. Metataxonomie využívá sekvenace tzv. markerového genu, obvykle určité oblasti genu RNA. Jelikož využívá jen jedné části genu, je snazší identifikovat organismy v daném vzorku. Je významná pro ekologii mikroorganismů, protože využívá markerových genů např. 16S RNA pro bakterie či 18S RNA pro houby. Tyto geny jsou přítomny ve všech koloniích bakterií a hub. Pro analýzu využívají genových databází, jako jsou například Greengenes či SILVA, které poskytují genové informace o miliónech druhů. Hlavní rozdíl mezi metagenomikou a metataxonomií je v sekvenování genů. Metagenomika využívá sekvenace jakéhokoliv genu DNA, na rozdíl od metataxonomie využívající pouze jeden konkrétní úsek genu. To znamená, že metagenomika může provést analýzu bez výběru konkrétního genu (Breitwieser et al. 2019).

Metagenomické sekvenování nové generace umožňuje sekvenování veškeré genetické informace v daném vzorku. Je významné v ekologii a poodhaluje tajemství mikrobiální rozmanitosti lidského těla, ale i jiných organismů. Dokáže identifikovat nové patogeny, které mohou být pro organismy jistým rizikem (Greninger a Naccache 2019).

7.1 METAGENOMICKÁ ANALÝZA

Metagenomická analýza zahrnuje mnoho postupů. Základní schéma vidíme na obr. 2. Prvním krokem k úspěchu je kontrola kvality, odstranění případných kontaminací a nekvalitních sekvencí. Problémy mohou nastat, když je daný mikroorganismus odebrán z hostitele, např. lidské mikroorganismy. V tomto případě je nutné provést identifikaci, analýzu, kontrolu čtení a odstranit hostitelský genom, aby nedošlo k chybám. V dalším kroku sestavíme contigy, což jsou delší sekvence. Případně se mohou sekvence vložit do taxonomického klasifikátoru na místo tvorby contigů. Následně probíhá binning contigů a taxonomická klasifikace (Breitwieser et al. 2019).



Obr. 4 Analýza metagenomických dat

Zdroj: Vlastní zpracování dle Breiwieser et al. 2019

7.2 TAXONOMICKÁ KLASIFIKACE

Taxonomická klasifikace využívá markerového genu 16S RNA, který je pomocí softwaru analyzován. Markerový gen 16S RNA je srovnáván se sekvencemi taxonomických skupin v databázi programu a identifikuje daný vzorek. Program MGR-AST ve spolupráci s FragGeneScan provádí předpoklady, jaké geny se mohou v analyzovaném vzorku vyskytovat. Dochází k srovnávání sekvencí s vlastní databází M5nr a dále se zkoumají předpoklady nejnižšího společného předka, které jsou zprostředkovávány programem MEGAN. Ten srovnává jednotlivé sekvence a přiřazuje je k taxonu, kde se vyskytuje společný předek. Tento algoritmus nazýváme LCA, neboli nejnižší společný předek. Dále program Taxator-tk kombinuje sekvenční podobnosti a

výsledky aproximuje. Kompletní výsledek zařadí do fylogenetického stromu určitého taxonu. Programů, které zvyšují přesnost taxonomické klasifikace, je mnoho a stále se vyvíjí (Jünemann et al. 2017).

V numerické taxonomii se využívá provozní taxonomické jednotky (OTU), která je základní jednotkou taxonomie. Jednotky odkazují na druh, rod či třídu. Využívají se nejčastěji při analýze genomu a jednotlivé sekvence DNA jsou řazeny dle podobnosti do sad [7].

7.3 BIOINFORMATIKA

S rozvojem metagenomiky přichází i rozvoj bioinformatiky, která přináší mnoho nových algoritmů, softwarů a nástrojů pro lepší práci při metagenomickém sekvenování nové generace. Pomocí rozvoje bioinformatiky dochází stále k lepším výsledkům vyhodnocení dat a analýze. Mnoho softwarů využívá pro vyhodnocování dat statistiku. Jsou zde nastaveny algoritmy, které vyhodnotí data a statisticky rozdělí. Často byly jednotlivé softwary rozděleny a kroky pro hodnocení dat se prováděly odděleně. Proto byly vyvinuty softwary, které tyto kroky provádějí v jednom programu. Populární softwarové programy jsou například Mothur a QIIME. Protože je bioinformatika stále v raném stádiu, má stále drobné nedostatky. Pro analýzu se využívá genu 16S RNA, který je typický pouze pro bakteriální komunitu, nelze identifikovat jiné organismy. Dále může docházet ke zkreslení četnosti bakteriálních druhů v taxonu. I přesto bioinformatika bude tyto problémy moci v budoucnu vyřešit (Jünemann et al. 2017).

Určité softwary obsahují omezený počet dat pro identifikaci mikroorganismů. Může to být limitací pro některé identifikace. Vzorek genomu je analyzován softwarem, ale software jej může chybně vyhodnotit, protože data pro vyhodnocení s čím vzorek srovnat v databázi neobsahuje. Databáze jsou složeny z úplných genomů nebo fragmentů genomu. Mikrobiologové musí být na pozoru při vyhodnocování dat a kontrole výsledků, je třeba zkušeností (Greninger a Naccache 2019).

8 MATERIÁL A METODY

8.1 ODBĚR VZORKŮ

Antropoložka a archeoložka Mgr. Erika Průchová provedla odběr vzorků v laboratoři, kde byly odebrány vzorky zubů z dutiny ústní, kostí a hlíny z dutiny břišní v oblasti napojení tenkého střeva na tlusté střevo. Vzorky pocházely z oblastí Semonic a Hostivic.

8.2 IZOLACE DNA

DNA byla izolována z kosterních a půdních vzorků. Dle postupu Zichová (2021) byl rozdrcen vzorek zubní tkáně se stopami hlíny. V dalším kroku bylo nutné vzorek rozmixovat ve zkumavce (eppendorf 1,5 ml) společně s destilovanou vodou 400 μ l. Do zkumavky v množství 700 μ l byl přidán ROTI®-FENOL/CHLOROFORM/ISOAMYLALKOHOL a celá směs byla vortexována po dobu 3 minut. Osvědčilo se v tomto stadiu práci přerušit a pokračovat po několika hodinách, nejlépe další den. Celá směs byla následně vložena do centrifugy po dobu 7 minut. Ze zkumavky byl odebrán supernatant a vložen do nové stejné zkumavky. Celý postup byl zopakován ještě dvakrát a v poslední fázi místo ROTI®-FENOL/CHLOROFORM/ISOAMYLALKOHOL byl přidán chloroform. Do získané směsi (200 μ l) byl přidán roztok NaCl (100 μ l 5M), dále 40% polyethylenglykolem (200 μ l) a roztok s magnetickými kuličkami (50 μ l). Po dobu cca 15 minut směs inkubujeme. V dalším kroku po dobu 5 minut byly pomocí magnetického separátoru odseparovány magnetické částice. Následně byl pipetou odebrán supernatant. Získaná DNA ve zkumavce, která byla navázaná na magnetické kuličky, byla dále promyta 70% etanolem (500 μ l). Směs byla opět vložena do magnetického separátoru a postup byl zopakován znovu, tentokrát s 70% etanolem (200 μ l). V dalším kroku byl postup zopakován a směs s etanolem se nechala vypařovat. Směs byla vložena do TE puftru a byla eluována cca hodinu. Směs s TE pufrem a magnetickými kuličkami s vázanou DNA byla vložena do magnetického separátoru. V posledních krocích byl odebrán supernatant, odstraněny magnetické kuličky pomocí separátoru a získaná DNA z eulátu byla vložena do sterilní zkumavky (Zichová 2021).

8.3 ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

Bioptická laboratoř s.r.o. provedla zpracování vzorků Mikulášské náměstí 628/4, 326 00 Plzeň Slovany. Bioptická laboratoř s.r.o. je největším genetickým oddělením v České republice. Pro osekvenování vzorků byl použit sekvenátor MiSeq od společnosti Illumina.

Pro zpracování dat jsme použili programy CosmosID a SEED2. Data jsme roztřídili do excelu a vytvořili jsme funkci, která nám vytřídila shodné bakterie s databází půdních bakterií. Porovnáním našich vzorků s databází půdních bakterií ze zemědělských polí z Finska [8] byly vyloučeny půdní rody. Tato databáze byla získána analogickým způsobem jako naše vzorky, díky sekvenování nové generace na sekvenátoru Illumina. Byl získán soubor 5159 rodů bakterií, který je volně ke stažení. Bohužel dosud neexistuje podobný soubor dat ze střední Evropy. Vzorky půdy z Finska byly odebrány ze zdravé a nezdravé zemědělské půdy. “Zdraví půdy“ bylo stanoveno na základě produktivity rostlin. DNA byla extrahována a podrobena sekvenování metagenomu [8].

8.4 ILLUMINA

Pro sekvenování bylo využito sekvenátoru Illumina MiSeq. Při sekvenování vzorku bylo dodržováno detailního pracovního postupu (16S Metagenomic sequencing library preparation)[9]. Využívá se amplikonové PCR reakce, PCR čištění, další fáze PCR, druhého PCR čištění produktu, kvantifikace a sdružování knihoven pomocí fluorescenční metody a v poslední fázi denaturace knihovny a načítání MiSeq vzorků. PCR termální cyklus se v první fázi skládá z termálního cyklu: jedenkrát 95°C po 3 minuty, 25 cyklů 95°C a 55°C a 72°C po dobu 30 sekund, jedenkrát 72°C po dobu 5 minut a následně udržovat teplotu na 4°C. Druhá fáze PCR je obdobná s rozdílem 8 cyklů, nikoliv 25 termálních cyklů [9]. Veškerý teoretický postup je uveden v kapitole 5. Illumina.

9 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato studie se zabývá zkoumáním diverzity bakterií v zubních a kostních vzorcích z pohřebiště v Semonicích a Hostivicích a zaměřuje se na vodní a termofilní bakterie, které poněkud překvapivě zauímají značnou část identifikovaných bakterií. Jednalo se o vzorky ze zubů mrtvých lidí a z kosti krávy uložených v zemi. Byla očekávána převaha půdních, popřípadě lidských bakterií. Celkem bylo zpracováno šest vzorků. Ze sekvenování Illumina jsme získali mnoho přečtených sekvencí a nyní máme přehled o mnoha bakteriích vyskytujících se ve vzorcích. Níže uvedené rody bakterií byly objeveny z jednotlivých vzorků a jejich výskyt porovnáváme s výskytem bakterií stejných rodů či druhů z jiných míst na světě. Po vyloučení lidských a půdních druhů byly ve vzorcích objeveny tyto rody: *Acidibacillus*, *Acidibacter*, *Aegean-169*, *Agarivorans*, *Achromobacter*, *Algicola*, *Alishewanella*, *Alkanindiges*, *Anaerospora*, *Ancalomicrobium*, *Anoxybacillus*, *aquatic aquatic ML635J-40*, *Aquipuribacter*, *Arsenicicoccus*, *Arthrospira*, *Aurantimonas*, *Balneimonas*, *Bd1-7*, *Bd2-13*, *Beggiatoa*, *Blastobacter*, *Blastochoris*, *Brachymonas*, *Anaerolineaceae - C1_b004*, *Calothrix*, *Candidatus*, *Carnobacterium*, *Celeribacter*, *Colwellia*, *Cyanothece*, *Dehalobacter_syntrop*, *Desulfatiglans*, *Desulfurivibrio*, *Diaphorobacter*, *Dichotomicrobium*, *Piscirickettsiaceae - Endosymbionts*, *Enterovibrio*, *Fictibacillus*, *Fischerella*, *Fulvimarina*, *Gelria*, *Geobacillus*, *Desulfurellaceae - H16*, *Halorhodospira*, *Hasllibacter*, *Herminiimonas*, *Hylemonella*, *Phycisphaerales – hypersaline*, *Chloroflexi*, *Kineosphaera*, *Kistimonas*, *Labrenzia*, *Lebetimonas*, *Lewinella*, *Limimonas*, *Limnohabitans*, *Litoribacillus*, *Loktanella*, *Lutibacterium*, *Macellibacteroides*, *Maribacter*, *Marinilactibacillus*, *Marinobacter*, *Marinococcus*, *Mariprofundus*, *Meganema*, *Moritella*, *Nostocoida*, *Novispirillum*, *Oceanibacterium*, *Oceanicella*, *Oceanimonas*, *Om27*, *Om43*, *Om60(nor5)*, *Paeniglutamicibacter*, *Paenochrobastrum*, *Paraoerskovia*, *Pelotomaculum*, *Phaeospirillum*, *Phormidium*, *Photobacterium*, *Pigmentiphaga*, *Piscicoccus*, *Pontibacter*, *Propionicimonas*, *Prosthecomicrobium*, *Proteobacterium*, *Pseudanabaena*, *Pseudoalteromonas*, *Pseudochrobastrum*, *Pseudospirillum*, *Pyrinomonadales*, *Rahnella*, *Raoultella*, *Rarobacter*, *Renibacterium*, *Rheinheimera*, *Rhodoblastus*, *Rhodoligotrophos*, *Rhodothalassium*, *Family Rhodothermaceae*, *Rhodovarius*, *Rhodovulum*, *Roseospira*, *Rubrobastrum*, *Salinibacterium*, *Salinispora*, *Sandaracinobacter*, *Sediminibacterium*, *Sediminihabitans*, *Shewanella*, *Sphingorhabdus*, *Sphingosinicella*, *Spirochaeta*, *Spirulina*, *Sporanaerobacter*, *Sporotomaculum*, *Stappia*, *Streptacidiphilus*, *Telmatospirillum*, *Temperatibacter*,

Tepidibacter, *Tg5*, *Thalassomonas*, *Verrucosispora*, *Vibrio*, *Xanthobacter* a *Zymomonas* viz. (Tab. 2.-9.).

9.1 SLADKOVODNÍ BAKTERIE

Bakterie rodu *Achromobacter* se přirozeně vyskytuje ve vodním prostředí. Byla izolována z hlubokomořského sedimentu v Jižním Pacifiku. *Achromobacter* je gram-negativní bakterie s bičíkatým aparátem sloužícím k pohybu (Zhang et al. 2014). Dalším místem, kde byla nalezena bakterie rodu *Achromobacter*, je Jižní Korea. Její růst je zhruba při 20°C a pH okolo 7,5. Byla izolována z ústí řeky (Kim S. C., et al. 2021). Tento rod bakterie byl izolován z našich vzorků hlíny ze Semonic č. 234 a zubu ze Semonic č. 108. *Ancalomicrobium* byla nalezena ve sladké vodě společně s bakterií *Prosthecomicrobium* (Staley 1968). *Ancalomicrobium* bylo izolováno v našich výsledcích ze vzorků Hostivice zub 1399 a 1491. *Prosthecomicrobium* jsme izolovali ze vzorků hlíny ze Semonic č. 234 a zubu ze Semonic č. 108.

Alishewanella je bakterií, která se vyskytuje ve sladkých vodách a byla izolována z jezera Qurugöl v Íránu (Tarhriz et al. 2012). Tento rod bakterie můžeme také najít v půdě (Kim J., et al. 2012). *Alishewanella* jsme objevili ve vzorku zubu ze Semonic č. 108. *Aquipuribacter* izoloval tým autorů z ultračisté vody z maďarské elektrárny. Jedná se o gram-pozitivní bakterii (Tóth et al. 2011). Dalším srovnávacím místem, kde se bakterie rodu *Aquipuribacter* vyskytuje, je bahenní sopka v Indii (Srinivas et al. 2015). *Aquipuribacter* jsme objevili ve vzorcích zubu z Hostivice č. 1491 a v kosti krávy ze Semonic č. 65. *Beggiatoa* byla nalezena ve sladkovodním prameni, který byl však kontaminován odpadní vodou v Rusku (Dubinina et al. 2017). Největší výskyt byl však zaznamenán v pobřežních oblastech moří. Dle Mussmann et al. 2003 bakterie rodu *Beggiatoa* může přispívat ke koloběhu síry a dusíku v mořských oblastech (Mussmann et al. 2003). *Beggiatoa* je izolována i z našich vzorků hlíny ze Semonic č. 234 a zubu ze Semonic č. 108. *Desulfatiglans* způsobuje změny ve sladkých vodách a ovlivňuje vodní květy sinic (Chen et al. 2022). Velmi hojně je také rozšířena v mořských vodách, především v mořských sedimentech (Jochum et al. 2018). Zároveň jsme ji objevili i ve vzorcích hlíny ze Semonic č. 234 a zubu ze Semonic č. 108. Mezi běžné bakterie vyskytující se ve sladkých vodách patří také *Limnohabitans*, která je součástí vodního planktonu (Kasalický et al. 2017). Objevili jsme ji ve vzorcích zubu z Hostivice č. 1399, č. 1491, hlíny ze Semonic č. 234, zubu ze Semonic č. 108 a kravské kosti ze Semonic č. 65. Gram-negativní bakterie *Hylemonella* je další zcela běžnou bakterií ve sladkých vodách

(Eckhard et al. 2020). *Hylemonella* jsme izolovali ze vzorků zubu z Hostivic č. 1399, č. 1487, hlíny ze Semonice č. 234, zubu ze Semonice č. 108 a kravské kosti ze Semonice č. 65.

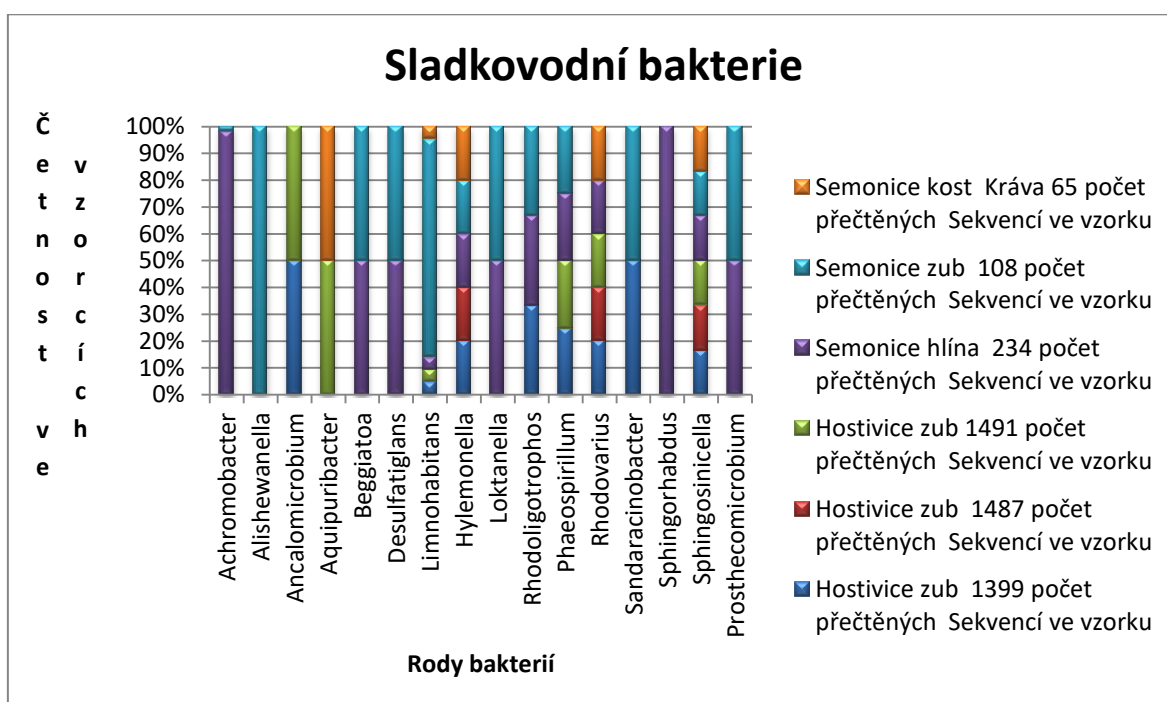
Gram-negativní bakterie *Rhodoligotrophos* izolovaná ze vzorků sladkých vod byla objevena v Antarktidě (Fukuda et al. 2012). *Rhodoligotrophos* jsme izolovali ze vzorků zubu z Hostivic č. 1399, hlíny ze Semonice č. 234 a zubu ze Semonice č. 108. Další bakterií, která byla získána z jezer na Antarktidě, je rod *Loktanella*. Autoři zkoumali jezera McMurdo Dry Valleys a Vestfold Hills (Van Trappen et al. 2004). Rod *Loktanella* se objevil pouze ve vzorcích hlíny ze Semonice č. 234 a zubu ze Semonice č. 108.

Phaeospirillum je sladkovodní fialová bakterie izolovaná z potoka. Byla nalezena ve vzorcích vodních sedimentů (Raj et al. 2012). Nalezli jsme ji ve vzorcích zubu z Hostivic č. 1399, č. 1491, hlíny ze Semonice č. 234, zubu ze Semonice č. 108. Rod *Rhodovarius* byl objeven ve sladkovodním rybníku na Tchaj-wanu. Tvoří růžové kolonie a má tyčinkovitý tvar (Chen W. M., et al. 2020). Objevil se i ve vzorcích zubů z Hostivic č. 1399, č. 1487, č. 1491, hlíny ze Semonice č. 234 a kravské kosti ze Semonice č. 65. Bakterie *Sandaracinobacter* byla nalezena ve sladkých vodách poblíž Bajkalského jezera v Rusku. Objevila se v blízkosti hydrotermálních pramenů (Maltman a Yurkov 2015). Nicméně se objevila také v mořských vodách v Tichém oceánu (Lee et al. 2020). Nalezli jsme ji i ve vzorcích zubu ze Semonice č. 108 a Hostivic č. 1399. Sladká voda z řeky Daejeonu obsahovala buňky bakterie *Sphingorhabdus*, která je gram-negativní bakterií a často tvoří kolonie (Jung et al. 2019). Zároveň tato bakterie je také mořská, jelikož byla objevena i v mořské vodě (Baek et al. 2019). *Sphingorhabdus* jsme objevili i ve vzorku Semonice hlína 234. *Sphingosinicella* tvořící kolonie se vyskytuje v sladkých vodách řeky Tenryu a jezera Suwa (Maruyama et al. 2006). Objevili jsme ji ve vzorcích zubu z Hostivic č. 1399, č. 1487, č. 1491, hlíny ze Semonice č. 234, zubu ze Semonice č. 108 a kravské kosti ze Semonice č. 65.

Tab. 2 Sladkovodní bakterie v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích

Sladkovodní bakterie						
Rod	Hostivice zub 1399	Hostivice zub 1487	Hostivice zub 1491	Semonice hlína 234	Semonice zub 108	Semonice kost Kráva 65
	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku
<i>Achromobacter</i>	0	0	0	834325	15146	0
<i>Alishewanella</i>	0	0	0	0	116225	0
<i>Ancalomicrobium</i>	45563	0	45563	0	0	0
<i>Aquipuribacter</i>	0	0	91808	0	0	91808
<i>Beggiatoa</i>	0	0	0	8828	8828	0
<i>Desulfatiglans</i>	0	0	0	79787	79787	0
<i>Limnohabitans</i>	15882	0	15882	15882	272319	15882
<i>Hylemonella</i>	31783	31783	0	31783	31783	31783
<i>Loktanella</i>	0	0	0	1952	1952	0
<i>Rhodoligotrophos</i>	38673	0	0	38673	38673	0
<i>Phaeospirillum</i>	31767	0	31767	31767	31767	0
<i>Rhodovarius</i>	1277222	1277222	1277222	1277222	0	1277222
<i>Sandaracinobacter</i>	91651	0	0	0	91651	0
<i>Sphingorhabdus</i>	0	0	0	495863	0	0
<i>Sphingosinicella</i>	14523	14523	14523	14523	14523	14523
<i>Prosthecomicrobium</i>	0	0	0	232022	232022	0

Graf 1 Sladkovodní bakterie v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích



Uvedené bakterie v kapitole sladkovodní bakterie můžeme najít i v našich vzorcích. Jelikož jsou to všechno sladkovodní bakterie, mohou se zřejmě vyskytovat po celém světě ve všech sladkovodních systémech. Některé z uvedených bakterií se však mohou vyskytovat i v mořích, pak lze hovořit o tom, že dané bakterie jsou kosmopolitní či druhotně zavlečené. Těmto bakteriím se zřejmě daří i v jiném vodním prostředí, než je to mořské. Další zvláštností sladkovodních bakterií jsou rody, které se vyskytují v odpadních vodách. Jednou z teorií je, že se do sladkovodního systému dostala kontaminovaná voda. Druhou z teorií je, že tyto bakterie se vyskytují ve sladkovodních systémech přirozeně a podílejí se na samočištění vody. Do vzorků zubů a kostí se mohly jednotlivé rody bakterií dostat požitím sladké vody, ještě za života, nebo v druhém případě deštěm či jiným způsobem zavlažení půdy sladkou vodou. Veškeré uvedené bakterie jsou uvedeny v tabulce (viz. Tab. 2.) a grafu (viz. Graf 1.) Do jisté míry je překvapením, že hodnoty OTU jsou u některých vzorků stejné. Je to zřejmě dáno metodikou a vyhodnocením, které má dosud své limity.

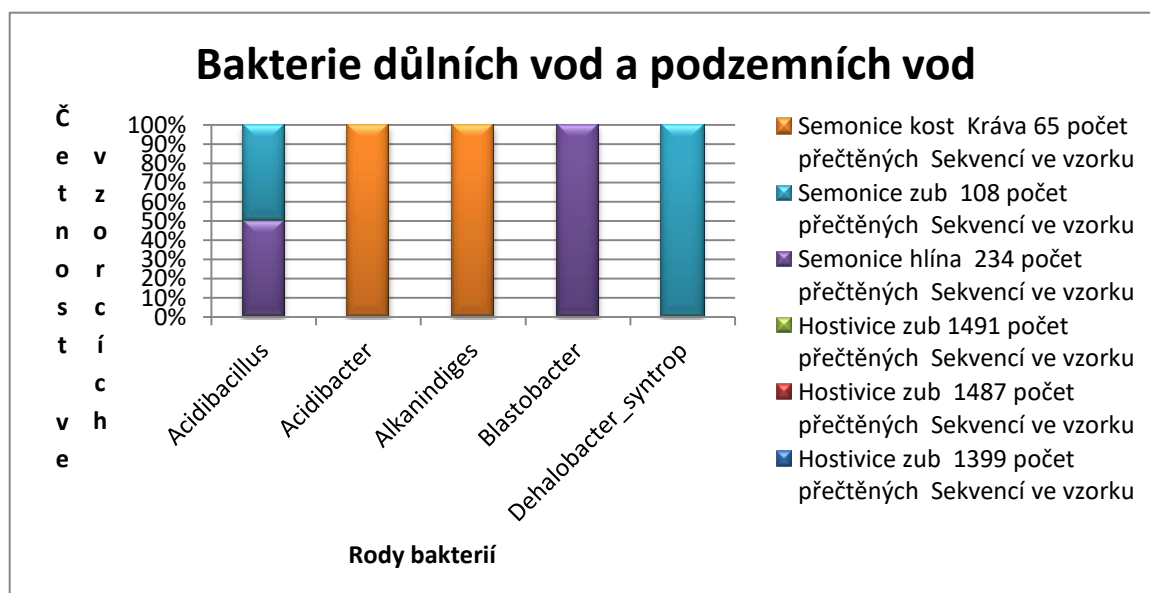
9.2 BAKTERIE DŮLNÍCH VOD A PODZEMNÍCH VOD

Acidibacillus ferrooxidans je bakterie izolovaná z důlní vody v Brazílii, kde se vyskytovala v blízkosti chalkopyritu (Dall'Agnol et al. 2016). *Acidibacillus ferrooxidans* jsme objevili ve vzorcích hlíny ze Semonic č. 234 a zubu ze Semonic č. 108. Rod *Acidibacter* byl ve Španělsku izolován z kovových dolů, konkrétně z vodních jezer nacházejících se v dole. Rod *Acidibacter* roste zhruba při 33°C (Falagán a Johnson 2014). Tento rod bakterie jsme izolovali ze vzorku kravské kosti ze Semonic č. 65. V podzemních vodách byly nalezeny bakterie rodu *Alkanindiges* (Mohapatra et al. 2021). Zároveň jsou zřejmě bakterie rodu *Alkanindiges* i patogenem, jelikož pravděpodobně vyvolávají střevní onemocnění (Xi et al. 2021). Tato bakterie byla izolována ze vzorku kravské kosti ze Semonic č. 65. Další rod, který se vyskytuje v podzemních vodách, je *Blastobacter*. Autoři ho objevili v indické podzemní vodě Lucknow (Kaur et al. 2011). Zároveň jsme ho objevili ve vzorku hlíny ze Semonic č. 234. Mezi bakterie taktéž vyskytujících se v podzemních vodách patří *Dehalobacter syntrop*, objevili ho v Austrálii (Alfán-Guzmán et al. 2017). Nalezli jsme ho ve vzorku zubu ze Semonic č. 108. Veškeré bakterie a jejich četnost ve vzorcích je uvedeno v tabulce (viz. Tab 3) a grafu (viz. Graf 2.).

Tab. 3 Bakterie důlních vod a podzemních vod v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích

Bakterie důlních vod a podzemních vod						
Rod	Hostivice zub 1399	Hostivice zub 1487	Hostivice zub 1491	Semonice hlína 234	Semonice zub 108	Semonice kost Kráva 65
	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku
<i>Acidibacillus</i>	0	0	0	6078	6078	0
<i>Acidibacter</i>	0	0	0	0	0	5221534
<i>Alkanindiges</i>	0	0	0	0	0	151672
<i>Blastobacter</i>	0	0	0	2164186	0	0
<i>Dehalobacter_syntrop</i>	0	0	0	0	26201	0

Graf 2 Bakterie důlních vod a podzemních vod v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích



Bakterie důlních a podzemních vod jsou zřejmě spojené s vodou, horninami, nerosty a půdou, jelikož se vyskytují v podzemních vodách. Naše zubní a kostní vzorky jsou z pohřebiště, tak mohou obsahovat půdní bakterie, vodní bakterie a mimo jiné i tyto bakterie, které jsou spojené s podzemní vodou. Dle mého názoru se vyskytují v půdě a pro svůj život a růst vyžadují vodu a vlhké prostředí spojené mimo jiné s půdními částicemi. Mohou být však i kosmopolitní.

9.3 BAKTERIE KONTAMINOVANÝCH VOD, ODPADNÍCH VOD, KALU

Rod *Alkanindiges* byl již popsán v kapitole bakterie důlních vod a podzemních vod. Bakterie rodu *Brachymonas* byla získána ze sladkovodního rybníka, který sloužil pro stabilizaci odpadů (Halpern et al. 2009). My jsme tuto bakterii objevili ze vzorku hlíny ze Semonic č. 234. Bakteriální rod *Macelibacteroides* je zvláštním rodem bakterií, které se podílejí na čištění odpadních vod. Tento rod byl izolován z filtru odpadních vod z jatek v Tunisku (Jabari et al. 2012). Objevili jsme ji ve vzorcích zubu z Hostivic č. 1399, zubu ze Semonic č. 108, kravské kosti ze Semonic č. 65. *Pelotomaculum* byl autory izolován z methanogenního kalu kalového reaktoru (Imachi et al. 2007). *Pelotomaculum* jsme izolovali ze vzorků hlíny ze Semonic č. 234 a zubu ze Semonic č. 108. V odpadních vodách barvírny se vyskytuje rod *Pigmentiphaga*, který byl nalezen v Koreii (Yoon et al. 2007). Dále se tento rod bakterie vyskytuje i v přílivových vodách, lze tedy hovořit i o bakterii brakických vod (Chen Y. G., et al. 2009). Nalezli jsme ji ve vzorcích hlíny ze Semonic č. 234 a zubu ze Semonic č. 108. Rod *Rarobacter* patří mezi bakterie vyskytujících se v odpadních vodách a čistírnách odpadních vod (Yamamoto et al. 1988). Izolovali jsme ho ze všech šesti vzorků ze Semonic a Hostivic. *Sporotomaculum* je autory izolovaná z methanogenního kalu (Qiu et al. 2003). My jsme ji objevili ve vzorcích zubů z Hostivic č. 1399, č. 1487, č. 1491 a hlíny ze Semonic č. 234. Papírny produkují mnoho odpadu, jako jiné odvětví průmyslu. V odpadních vodách papírenského průmyslu na Bajkalu v Rusku byla izolována bakterie rodu *Xanthobacter* (Tikhonova et al. 2021). *Xanthobacter* jsme našli ve vzorcích hlíny ze Semonic č. 234, zubu ze Semonic č. 108 a zubu z Hostivic č. 1487. *Desulfurellaceae* (H16) byla nalezena v odpadních vodách anaerobního bioreaktoru, hovoříme o denitrifikačních bakteriích (Wei et al. 2017). *Desulfurellaceae* (H16) jsme izolovali ze vzorku zubu z Hostivic č. 1491.

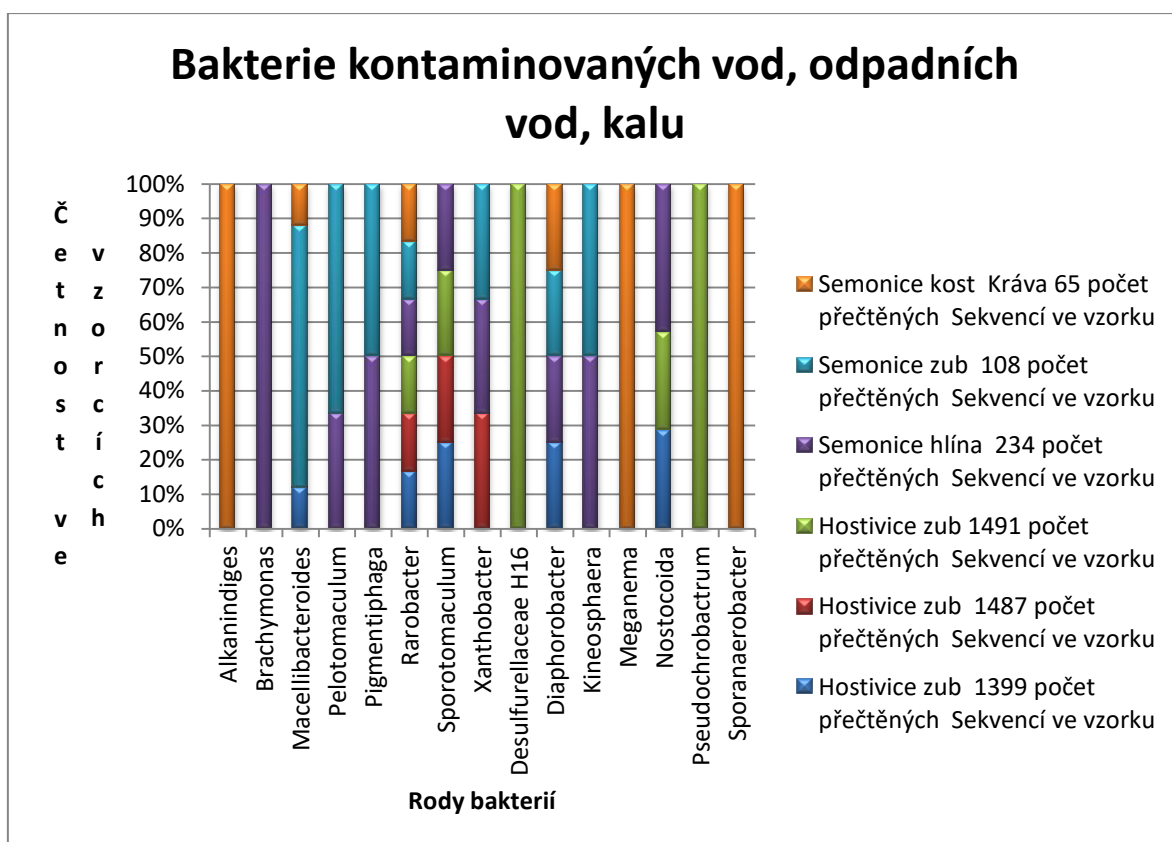
Z aktivovaného kalu byla získána bakterie rodu *Diaphorobacter*, která je mimo jiné gram-negativní bakterií (Khan et al. 2002). Objevili jsme ji ve vzorcích zubu z Hostivic č. 1399, hlíny ze Semonic č. 234, zubu ze Semonic č. 108, kravské kosti ze Semonic č. 65.

Další bakterií získanou z aktivovaného kalu je rod *Kineosphaera*, která je gram-pozitivním kokem (Liu et al. 2002). My jsme ji našli ve vzorcích hlíny ze Semonice č. 234 a kravské kosti ze Semonice č. 108. Z aktivovaného kalu je také získána bakterie *Meganema*, která byla v kalu čistírny odpadních vod v Dánsku (Thomsen et al. 2006). *Meganema* je izolována také ze vzorku kravské kosti ze Semonice č. 65. Rod *Nostocoida* je vláknitá bakterie odpadních vod, která se vyskytuje v aktivovaném kalu (Kocerba-Soroka et al. 2013). Objevili jsme ji ve vzorcích zubů z Hostovic č. 1399, č. 1491, hlíny ze Semonice č. 234. *Pseudochrobactrum* je také získána autory z aktivovaného kalu (Mao et al. 2015). Zároveň jsme ji objevili i ve vzorku zubu z Hostovic č. 1491. Bakteriální rod *Sporanaerobacter* náleží mezi další z mnoha bakterií, která se vyskytují v aktivovaném kalu. Tento rod byl autory izolován z mexického kalového reaktoru (Hernandez-Eugenio et al. 2002). My jsme ho izolovali ze vzorku kravské kosti ze Semonice č. 65. Veškeré bakterie a jejich četnost ve vzorcích je uvedeno v tabulce (viz. Tab. 4) a grafu (viz. Graf 3).

Tab. 4 Bakterie kontaminovaných vod, odpadních vod, kalu v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích

Bakterie kontaminovaných vod, odpadních vod, kalu						
Rod	Hostivice zub 1399	Hostivice zub 1487	Hostivice zub 1491	Semonice hlína 234	Semonice zub 108	Semonice kost Kráva 65
	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku
<i>Alkanindiges</i>	0	0	0	0	0	151672
<i>Brachymonas</i>	0	0	0	228870	0	0
<i>Macellibacteroides</i>	43597	0	0	0	275180	43597
<i>Pelotomaculum</i>	0	0	0	8170	16344	0
<i>Pigmentiphaga</i>	0	0	0	13354	13354	0
<i>Rarobacter</i>	6348	6348	6348	6348	6348	6348
<i>Sporotomaculum</i>	167669	167669	167669	167669	0	0
<i>Xanthobacter</i>	0	8770	0	8770	8770	0
<i>Desulfurellaceae H16</i>	0	0	1041372	0	0	0
<i>Diaphorobacter</i>	4329	0	0	4329	4329	4329
<i>Kineosphaera</i>	0	0	0	193129	193129	0
<i>Meganema</i>	0	0	0	0	0	301419
<i>Nostocoida</i>	171661	0	171661	257493	0	0
<i>Pseudochrobactrum</i>	0	0	542889	0	0	0
<i>Sporanaerobacter</i>	0	0	0	0	0	43601

Graf 3 Bakterie kontaminovaných vod, odpadních vod, kalu v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích



Rody bakterií vyskytujících se přirozeně v odpadních vodách a kontaminovaných vodách, se nejpravděpodobněji dostaly do vzorků zubů a kostí ze Semonice a Hostivice, únikem a kontaminací okolních půd a vod. Druhou variantou může být požití kontaminované vody osobou, které zuby patřily. To by ovšem pro danou osobu mohlo znamenat infekci či případné úmrtí.

9.4 SINICE (CYANOBACTERIA) A FOTOTROFNÍ BAKTERIE

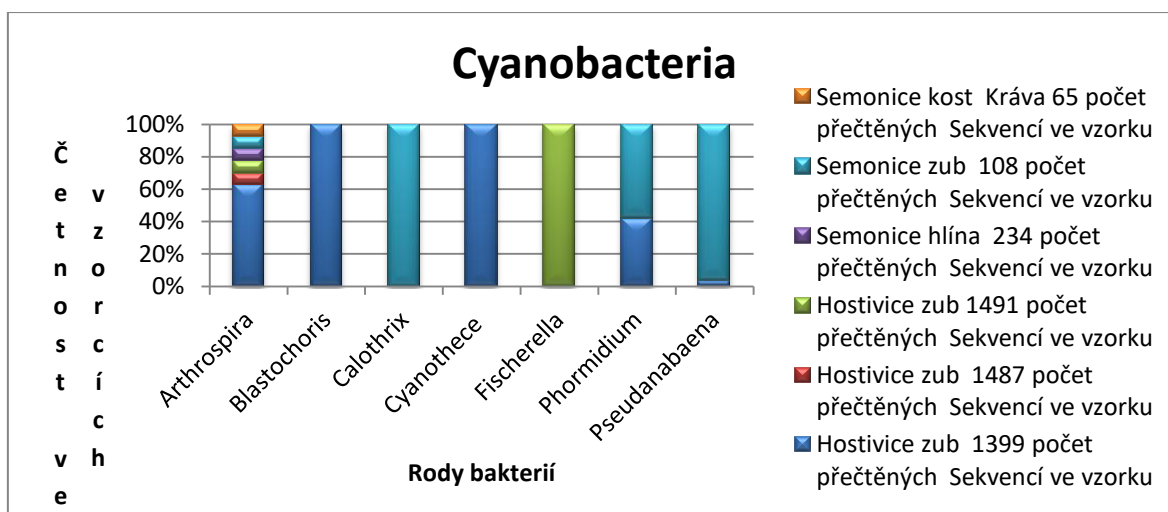
Arthrospira (Spirulina) je jednou z nejznámějších vodních sinic, má vláknitý tvar a modrozelenou barvu (Bhattacharya et al. 2020). *Arthrospira (Spirulina)* se vyskytovala ve všech vzorcích ze Semonice i Hostivice. Další sinicí je *Blastochoris*, která má fialovou barvu a je producentem bakteriochlorofylu b (Liu et al. 2016). Objevila se ve vzorku zubu z Hostivice č. 1399. Mezi sinice se řadí taktéž *Calothrix*, která byla objevena v Indii (Singh et al. 2014). Nalezli jsme ji ve vzorku Semonice zub 108. Sladkovodní jezero St. Lucia v Africe obsahovala sinice rodu *Cyanothece*, květy sinic podle du Plooy et al. 2018 často mohou za eutrofizaci vod a změny klimatu (du Plooy et al. 2018). Izolovali jsme tuto

bakterii ze vzorku zubu z Hostivice č. 1399. *Phormidium* je bentická sinice, která byla nalezena v jezeře na Antarktidě, vyskytuje se ve vodách bohatých na sulfidy (Lumian et al. 2021). Izolovali jsme ji ze vzorků zubů z Hostivice č. 1399 a Semonice č. 108. *Pseudanabaena* byla poprvé objevena ve sladkých vodách v Jižní Korei. Dle Jeong et al. 2021a zřejmě způsobuje zápach sladkých vod (Jeong J.Y., et al. 2021). Objevila se i ve vzorcích zubů z Hostivice č. 1399 a Semonice č. 108. *Fischerella* patří mezi sinice a je jednou z mála termofilních sinic. Vyskytuje se především v horkých pramenech, které mohou být vhodné pro její život po celém světě (Alcorta et al. 2019). *Fischerella* se objevila i ve vzorku zubu z Hostivice č. 1491. Četnost jednotlivých bakterií ve vzorcích je uvedena v grafu (viz. Graf 4) a tabulce (viz. Tab. 5).

Tab. 5 Sinice v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích

Cyanobacteria						
Rod	Hostivice zub 1399	Hostivice zub 1487	Hostivice zub 1491	Semonice hlína 234	Semonice zub 108	Semonice kost Kráva 65
	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku
<i>Arthrospira</i>	152337	18167	18167	18167	18167	18167
<i>Blastochoris</i>	146573	0	0	0	0	0
<i>Calothrix</i>	0	0	0	0	6946	0
<i>Cyanothece</i>	26231	0	0	0	0	0
<i>Fischerella</i>	0	0	5454	0	0	0
<i>Phormidium</i>	6730	0	0	0	9207	0
<i>Pseudanabaena</i>	2971	0	0	0	81226	0

Graf 4 Sinice v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích



Sinice se přirozeně vyskytují ve vodním prostředí a do zubů se dostaly pravděpodobně z vody. Jednou z variant je, že daný jedinec, kterému zuby patřily, se napil vody např. z rybníka. Další variantou je, že pohřbené zuby byly v půdě smíchány s vodou, která obsahovala sinice. Ta voda mohla být například z rybníka a do půdy se dostala například zaléváním vegetace. Nedá se ani vyloučit dlouhodobá existence kosmopolitních sinic v normální půdě.

9.5 MOŘSKÉ BAKTERIE

Aegean-169 je jednou z mořských bakterií, kterou autoři objevili ve vzorcích z Jaderského moře, spolu s *Aegean-169* se ve vzorku objevili bakterie rodu *Om60(nor5)*, která jsou také mořské bakterie (Šantić et al. 2021). *Aegean-169* se vyskytovala ve vzorku zubu z Hostivice č. 1491. *Om60(nor5)* se vyskytl ve vzorku zubu ze Semonice č. 108. *Flammeovirga agarivorans* je tyčinkovitý druh bakterie, který se vyskytoval ve vzorcích mořské vody z Jihočínského moře. Tato bakterie je schopná trávit agar (Wang et al. 2020). Tento rod jsme izolovali ze vzorku kravské kosti ze Semonice č. 65. *Algicola* je jednou z mořských bakterií. Dříve byla klasifikována jako *Pseudoalteromonas*. Autory byla odebrána ze vzorků mořského sedimentu v Korei (Nam et al. 2007). Objevili jsme ji ve vzorcích hlíny ze Semonice č. 234 a zubu ze Semonice č. 108.

Rod *Arsenicococcus* je poněkud zvláštním rodem bakterií. Tento rod byl objeven v důlních sedimentech, zároveň byl nalezen v trávicí soustavě mořské ryby tresky, objevil se i na nohách plameňáků a je nově spojen i s infekcí krevního řečiště (Jeong J. H., et al. 2021). *Arsenicococcus* se vyskytoval ve všech vzorcích ze Semonice a Hostivice.

Aurantimonas byla autory odebrána z mořského sedimentu, který se nacházel v Jihočínském moři (Song et al. 2021). Dále se uvádí, že *Aurantimonas* může být původcem infekce bílého moru na korálových útesech, kde napadá především *Dichocoenia stokesi* (Denner et al. 2003). Rod *Aurantimonas* jsme izolovali ze vzorků zubů z Hostivic č. 1399, č. 1487, č. 1491, hlíny ze Semonic č. 234 a zubu ze Semonic č. 108. *Bd1-7* se přirozeně vyskytují v blízkosti mořských korálů a jejich výskyt v průběhu roku kolísá. Nejvíce se vyskytovali na podzim (Yu et al. 2021). *Bd1-7* byl nalezen ve vzorcích zubů z Hostivic č. 1399, č. 1487, č. 1491, hlíny ze Semonic č. 234 a zubu ze Semonic č. 108. *Bd2-13* tvoří bakteriální společenstva chobotnic a olihní, které se přirozeně nacházejí v mořích. *Bd2-13* byla objevena v mořích na Havaii (Kerwin, Nyholm 2018). *Bd2-13* jsme objevili ve všech vzorcích ze Semonic. *Beggiatoa* byla popsána v kapitole sladkovodní bakterie, kde je uvedeno, že se taktéž vyskytuje v mořském prostředí.

Rod *Candidatus* byl autory izolován z mořské vody, která se nacházela u arktického fjordu. Bakterie rodu *Candidatus* patří do kmene aktinobakterií (Kang et al. 2012). Rod *Candidatus* jsme získali ze vzorků zubů z Hostivic č. 1487, č. 1491, hlíny ze Semonic č. 234 a kravské kosti ze Semonic č. 65. *Carnobacterium* byla nalezena v mořské vodě, konkrétně u Antarktického jezera. Jedná se o bakterii mléčného kvašení (Camesasca et al. 2021). Dále autoři uvádějí, že je zřejmě patogenem ryb (Roh et al. 2020). Nalezli jsme ji ve všech vzorcích z Hostivic a ve vzorku zubu ze Semonic č. 108. Autoři gram-negativní rod *Celeribacter* objevili ve vzorcích mořské vody ze Žlutého moře v Číně. Byly zde odebrány vzorky z povrchové mořské vody (Baek et al. 2014). *Celeribacter* jsme objevili ve vzorku zubu z Hostivic č. 1487. Další typickou bakterií vyskytující se v mořích je rod *Colwellia*, která byla izolována z mořské vody v Korejské republice (Park et al. 2019). Objevili jsme ji také ve vzorcích zubů z Hostivic č. 1399, č. 1487, č. 1491 a hlíny ze Semonic č. 234. Bakterie *Desulfatiglans* byla popsána již dříve v kapitole sladkovodní bakterie, kde je mimo jiné i mořskou bakterií. Z toho lze usoudit, že jsou zřejmě ve vodním prostředí kosmopolitní.

Enterovibrio bylo izolováno ze střeva larev Pakambaly velké, která se vyskytovala v Norsku (Thompson et al. 2002). Zároveň jsme ji objevili ve všech našich vzorcích. Gram-pozitivní bakterie rodu *Fictibacillus* se vyskytují v mořích, konkrétně v hlubokomořském sedimentu (Wang et al. 2018). Dalším místem, kde se tato bakterie vyskytovala, byla sladkovodní řeka Ganga v Indii (Pal et al. 2018). My jsme ji objevili pouze ve vzorku kravské kosti ze Semonic č. 65. *Fulvimarina* byla objevena ve vzorcích

z hydrotermálních průduchů v Indickém oceánu. Jsou to tyčinkovité bakterie, které mohou ve větších množstvích tvořit žluté kolonie bakterií (Ren et al. 2014). Objevili jsme ji ve všech vzorcích ze Semonic a Hostivic. *Hasllibacter* se přirozeně vyskytuje v mořské vodě, jedná se o mořskou bakterii (Kim S.H., et al. 2012). Nalezli jsme ji ve vzorcích zubů z Hostivic č. 1487, č. 1491, hlíny ze Semonic č. 234, zubu ze Semonic č. 108 a kravské kosti ze Semonic č. 65. Bakterie řádu *Phycisphaerales* (*Hypersaline*) jsou izolovány z mořské řasy (Fukunaga et al. 2009). *Phycisphaerales* (*Hypersaline*) jsme izolovali jen ze vzorku hlíny ze Semonic č. 234.

Kistimonas je další typickou bakterií v mořském prostředí. Autory byla izolována z mořského kroužkovce *Alitta succinea* v americké Jižní Karolíně (Illis et al. 2019). Nám se objevila ve vzorku kravské kosti ze Semonic č. 65. *Labrenzia* byla objevena v Mariánském příkopu (Zhong et al. 2021). Objevili jsme ji ve vzorcích zubů z Hostivic č. 1399, č. 1487, č. 1491, hlíny ze Semonic č. 234 a zubu ze Semonic č. 108. *Lebetimonas* byla nalezena v mořské vodě, sulfidických jeskyních a mořském sedimentu. Patří mezi Epsilonproteobakterie, které jsou uzpůsobené pro život v prostředích bohatých na síru, chudých na kyslík (Meyer et al. 2014). Rod *Lebetimonas* jsme izolovali ze vzorků zubů z Hostivic č. 1487, č. 1491, zubu ze Semonic č. 108, hlíny ze Semonic č. 234 a kravské kosti ze Semonic č. 65. V mořském písku z Korejské republiky byla objevena bakterie rodu *Lewinella*, která je gram-negativní bakterií (Park et al. 2020). Objevili jsme ji v jediném vzorku, tím byl vzorek hlíny ze Semonic č. 234. *Litoribacillus* je bičíkatá bakterie, která se nachází v mořích. Byla izolována z pobřežní vody v Číně (Li et al. 2014). Izolovali jsme ho ze vzorku kravské kosti ze Semonic č. 65. Mezi další mořské bakterie patří i rod *Lutibacterium* (Chung, King 2001). *Lutibacterium* jsme objevili ve vzorcích zubu z Hostivic č. 1487, hlíny ze Semonic č. 234, zubu ze Semonic č. 108 a kravské kosti ze Semonic č. 65. *Maribacter* byl autory izolován z mořské vody v Číně. Jsou to žluté gram-negativní bakterie, které se mohou objevovat i u hydrotermálních systémů (Lin et al. 2021). Izolovali jsme tento rod ze vzorku zubu z Hostivic č. 1399. *Marinilactibacillus* byla odebrána z mořské vody na pobřeží Japonska, zároveň patří mezi typické bakterie mléčného kvašení (Toffin et al. 2005). Objevili jsme tento rod ve vzorcích zubu z Hostivic č. 1487 a zubu ze Semonic č. 108. Další bakterií, která byla nalezena ve Žlutém moři v Číně je rod *Marinobacter* (Kim et al. 2017). Tento rod jsme našli ve vzorcích zubů z Hostivic č. 1487, č. 1491, hlíny ze Semonic č. 234, kravské kosti ze Semonic č. 65.

Marinococcus je další bakterií, která se vyskytuje v mořích, zřejmě může být využita pro kosmetické účely (Chen W. C., et al. 2020). *Marinococcus* jsme našli ve vzorcích zubu ze Semonice č. 108 a kravské kosti ze Semonice č. 65. *Mariprofundus* se vyskytuje v blízkosti hydrotermálních systémů v mořích a oceánech, zároveň je schopná oxidovat železo (Makita et al. 2017). Objevili jsme ho ve vzorcích zubů z Hostivic č. 1399, č. 1487, č. 1491, hlíny ze Semonice č. 234, kravské kosti ze Semonice č. 65. *Moritella* je jednou z mořských bakterií, která se vyskytuje především v hlubokých mořích (Kautharapu, Jarboe 2012). *Moritella* se objevila i ve dvou našich vzorcích Semonice zub 108 a Semonice hlína 234. Hlen mořských koníků *Hippocampus guttulatus* ve svém obsahu uchovává bakterie rodu *Oceanibacterium*, které jsou gram-negativní tyčinkovité bakterie (Balcázar et al. 2012). Tento rod bakterií se objevil ve vzorcích zubů z Hostivic č. 1487 a č. 1491. *Oceanicella* je termofilní bakterií, která byla objevena v horském mořském prameni. Tato bakterie je schopna optimálního růstu při 50°C (Albuquerque et al. 2012). Objevili jsme ji ve vzorcích zubů z Hostivic č. 1399 a Semonice č. 108. *Oceanimonas* je bakterie přirozeně se vyskytující v mořském prostředí, byla izolována z povrchové vody v USA (Brennan et al. 2017). Nalezli jsme ji ve vzorcích zubů z Hostivic č. 1491 a Semonice č. 108. *Om43* byla popsána v kapitole brakické vody. Bakteriální rod *Paeniglutamicibacter* byl autory izolován z *Dicentrarchus labrax* (Mořčák evropský), který se vyskytuje v mořích (Syropoulou et al. 2020). Dále tento bakteriální rod byl nalezen i ve vzorcích půdy (Sakdapetsiri et al. 2019). Objevil se i ve vzorku zubu z Hostivic č. 1487. Na základě těchto informací můžeme tvrdit, že rod *Paeniglutamicibacter* může být kosmopolitní.

Gram-negativní bakterie *Paenochrobactrum* byla nalezena ve vzorcích mořského ledu, který se nacházel v Japonském moři (Romanenko et al. 2008). Izolovali jsme tento rod ze vzorku zubu ze Semonice č. 108. Jednou z mnoha bakterií vyskytujících se v mořích je rod *Paraoerskovia*, která byla nalezena v mořském sedimentu (Hamada et al. 2013). Zároveň se tento rod objevil i ve všech vzorcích z Hostivic a vzorku Semonice kost kráva 65. Mořská bakterie *Photobacterium* byla autory získána ze vzorků odebraných z ryb, které se přirozeně vyskytovali na Havaii (Bjornsdottir-Butler et al. 2016). Nalezli jsme ji ve vzorcích zubu z Hostivic č. 1399 a hlíny ze Semonice č. 234. Rod *Piscicoccus* byl izolován ze střeva ryby *Repomucenus richardsonii* v Japonsku (Hamada et al. 2010). Objevili jsme *Piscicoccus* ve všech vzorcích ze Semonice. *Pseudospirillum* je bakterií, která žije volně v mořském prostředí (Oberbeckmann et al. 2016). *Pseudospirillum* jsme izolovali ze

vzorků hlíny ze Semonic č. 234 a zubu ze Semonic č. 108. *Renibacterium* je patogenní rod bakterie, který u mořských ryb (losos) způsobuje onemocnění ledvin (Delghandi et al. 2020). Nalezli jsme tento rod i ve všech vzorcích ze Semonic a Hostivic. Zřejmě se tato bakterie v našich vzorcích objevila požitím nakažené ryby a zůstala na zubních vzorcích. Pravděpodobnější variantou však bude, že se vyskytuje kosmopolitně.

U mořského pobřeží se taktéž vyskytuje bakterie rodu *Rheinheimera*, která je gram-negativní bakterií (Yu et al. 2020). Izolovali jsme ji ze vzorku hlíny ze Semonic č. 234. *Rhodothalassium* patří mezi další mořské bakterie (Foesel et al. 2007). *Rhodothalassium* jsme objevili pouze ve vzorku zubu z Hostivic č. 1491. Rody bakterie *Rhodovulum* byly autory izolovány z mořských biotopů, a tak patří také mezi mořské bakterie (Srinivas et al. 2014). My jsme ji izolovali ze vzorku hlíny ze Semonic č. 234. Bakterie *Roseospira* má přirozený výskyt v mořských vodách (Kalyan Chakravarthy et al. 2007). Zároveň jsme ji objevili i ve vzorcích hlíny ze Semonic č. 234 a zubu z Hostivic č. 1491. Ve vzorcích z Jihočínské moře byla nalezena bakterie *Rubroact*, která byla ve vzorcích mořského sedimentu (Chen R. W., et al. 2020). Nalezli jsme tuto bakterii ve vzorku hlíny ze Semonic č. 234. *Salinibacterium* se vyskytuje v mořském prostředí (Han et al. 2003). Dále ji však můžeme najít v půdě (Shin et al. 2012). Mezi další místa, kde se tento rod bakterie vyskytuje, můžeme dle Li et al. 2019 řadit výkaly antilopy (Li et al. 2019). My jsme ji objevili ve vzorcích zubu z Hostivic č. 1487, hlíny ze Semonic č. 234 a zubu ze Semonic č. 108. Můžeme tedy uvažovat o tom, že tato bakterie je kosmopolitní a schopná přežít v různých prostředích.

Salinispora patří mezi mořské bakterie a je typickou aktinomycetou, která byla izolována z Baham. Aktinomycety jsou považovány za běžné bakterie vyskytující se v mořích (Maldonado et al. 2005). Izolovali jsme tuto bakterii ze vzorku zubu ze Semonic č. 108. Další sedimentární bakterií je rod *Sediminihabitans*, který byl získán z mořského sedimentu (Hamada et al. 2012). Zároveň jsme ji získali ze vzorků hlíny ze Semonic č. 234, zubu ze Semonic č. 108 a kravské kosti ze Semonic č. 65. Hluboko v oceánu se vyskytuje i mořská bakterie rodu *Shewanella*, která byla získána z Tichého oceánu (Lauro et al. 2013). Nalezli jsme ji ve vzorcích zubu z Hostivic č. 1487 a kravské kosti ze Semonic č. 65. *Sphingorhabdus* je popsán v kapitole sladkovodní bakterie, zároveň patří i mezi mořské bakterie. Rod *Stappia* byla autory objevena ve Žlutém moři, jedná se o halofilní mořskou bakterii (Kim et al. 2006). Rod *Stappia* jsme objevili ve vzorku zubu ze Semonic č. 108. *Streptacidiphilus* patří mezi aktinobakterie, které se vyskytují v mořském prostředí.

Rod *Streptacidiphilus* byl autory objeven i v mangrovech v Malajsii (Lee et al. 2014). My jsme tento rod objevili ve vzorcích hlíny ze Semonic č. 234 a kravské kosti ze Semonic č. 65. V Japonsku z povrchové mořské vody byl odebrán vzorek vody s bakterií rodu *Temperatibacter* (Teramoto, Nishijima 2014). Tento bakteriální rod jsme objevili ve vzorcích hlíny ze Semonic č. 234, kravské kosti ze Semonic č. 65, zubu ze Semonic č. 108, zubů z Hostivic č. 1491 a č. 1487. *Thalassomonas* je gram-negativní mořská bakterie, která byla izolována z mořského sedimentu v Jižním moři (Jung et al. 2014). Rod *Thalassomonas* jsme objevili ve vzorku kravské kosti ze Semonic č. 65.

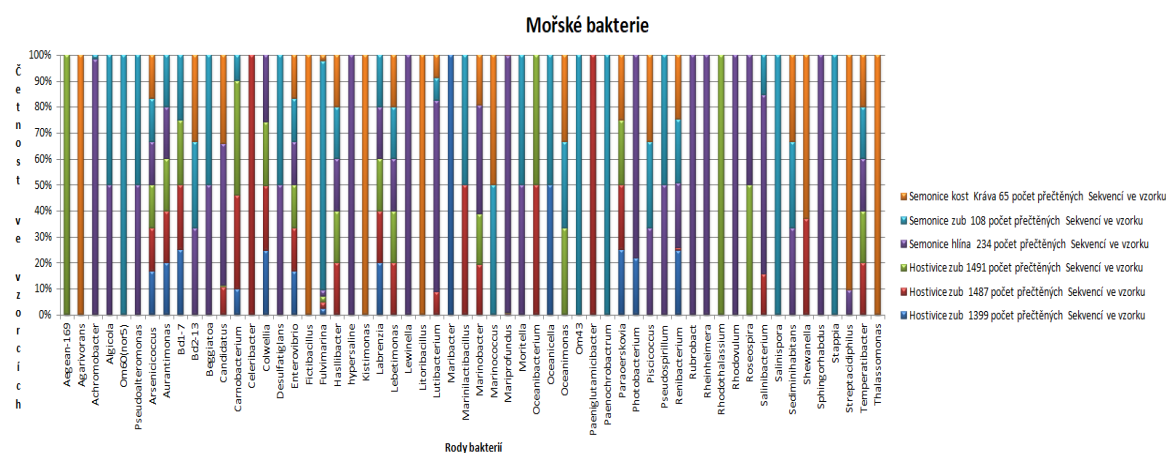
Uvedené bakterie jsou dle autorů mořského původu, nicméně jednotlivé uvedené rody byly objeveny i v zubních a kostních vzorcích ze Semonic a Hostivic (viz Tab. 6. a Graf 5.). Můžeme tedy říci, že tyto rody jsou buďto kosmopolitní, do zubů a kostí se dostaly z okolní půdy, nebo se rody bakterií do zubů dostaly požitím. O výskytu bakterií dosud nemáme kompletní přehled, tedy je nejpravděpodobnější, že se mohou vyskytovat všude a nemusí být vázány na konkrétní vodní prostředí či druh půdy apod.

Tab. 6 Mořské bakterie v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích

Mořské bakterie						
Rod	Hostivice zub 1399	Hostivice zub 1487	Hostivice zub 1491	Semonice hlína 234	Semonice zub 108	Semonice kost Kráva 65
	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku
Aegean-169	0	0	357581	0	0	0
Agarivorans	0	0	0	0	0	22419
Achromobacter	0	0	0	834325	15146	0
Algicola	0	0	0	5498	5498	0
Om60(nor5)	0	0	0	0	750113	0
Pseudoalteromonas	0	0	0	22692	22692	0
Arsenicococcus	30323	30323	30323	30323	30323	30323
Aurantimonas	452209	452209	452209	452209	452209	0
Bd1-7	3810	3810	3810	504 016	3810	0
Bd2-13	0	0	0	3832	3832	3832
Beggiatoa	0	0	0	8828	8828	0
Candidatus	0	352422	22678	1811217	0	1143318
Carnobacterium	444307	1589219	1959235	0	444307	0
Celeribacter	0	799218	0	0	0	0
Colwellia	768758	768758	768758	800440	0	0
Desulfatiglans	0	0	0	79787	79787	0
Enterovibrio	5422	5422	5422	5422	5422	5422
Fictibacillus	0	0	0	0	0	821342
Fulvimarina	2277	2277	2277	2277	85947	2277
Hasllibacter	0	504779	504779	504779	504779	504779
hypersaline	0	0	0	104529	0	0
Kistimonas	0	0	0	0	0	6153
Labrenzia	111944	111944	111944	111944	111944	0
Lebetimonas	0	15363	15363	15363	15363	15363
Lewinella	0	0	0	1445533	0	0
Litoribacillus	0	0	0	0	0	23389
Lutibacterium	0	35650	0	297235	35650	35650
Maribacter	6895	0	0	0	0	0
Marinilactibacillus	0	362077	0	0	362077	0
Marinobacter	0	1716230	1716230	3722234	0	1730391
Marinococcus	0	0	0	0	13418	13418
Mariprofundus	2284	2284	2284	955469	0	2284
Moritella	0	0	0	3733	3733	0
Oceanibacterium	0	563768	563768	0	0	0
Oceanicella	40084	0	0	0	40084	0
Oceanimonas	0	0	4355	0	4355	4355

Om43	0	0	0	0	439933	0
Paeniglutamibacter	0	979941	0	0	0	0
Paenochrobactrum	0	0	0	0	22489	0
Paraorskovia	153051	153051	153051	0	0	153051
Photobacterium	276171	0	0	998656	0	0
Piscicoccus	0	0	0	32976	32976	32976
Pseudospirillum	0	0	0	44624	44624	0
Renibacterium	85518	4050	85 518	85518	85518	85518
Rubrobact	0	0	0	426521	0	0
Rheinheimera	0	0	0	1509281	0	0
Rhodothalassium	0	0	120721	0	0	0
Rhodovulum	0	0	0	252428	0	0
Roseospira	0	0	103032	103032	0	0
Salinibacterium	0	94141	0	420256	94141	0
Salinispora	0	0	0	0	34541	0
Sediminhabitans	0	0	0	47525	47525	47525
Shewanella	0	6455	0	0	0	10968
Sphingorhabdus	0	0	0	495863	0	0
Stappia	0	0	0	0	222176	0
Streptacidiphilus	0	0	0	159881	0	1546039
Temperatibacter	0	3766	3766	3766	3766	3766
Thalassomonas	0	0	0	0	0	22727

Graf 5 Mořské bakterie v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích



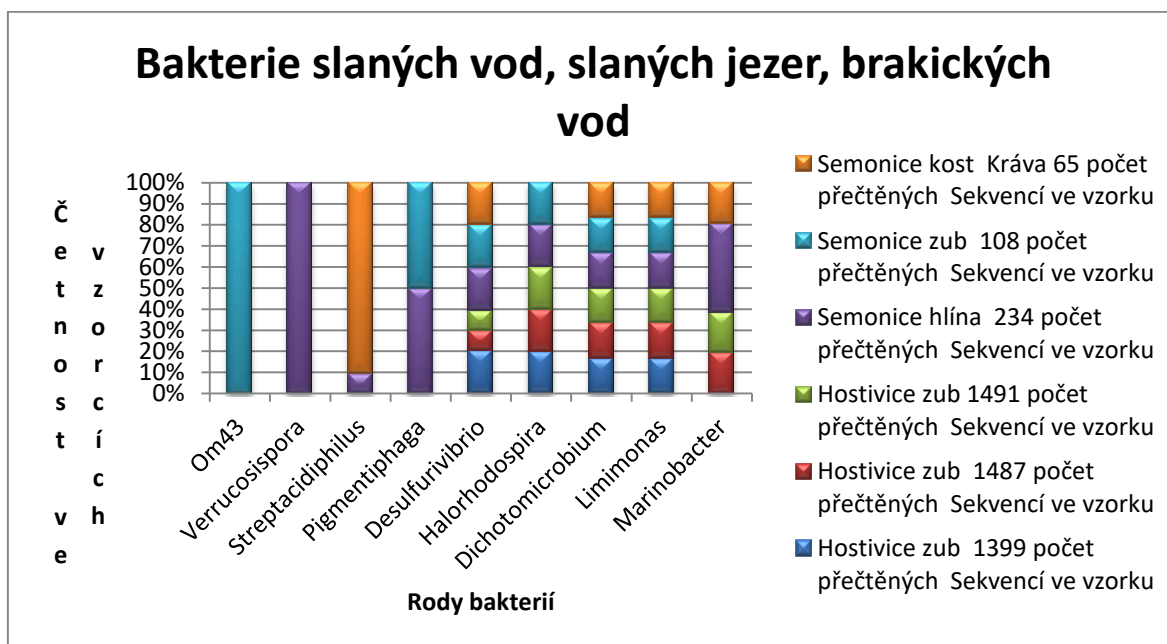
9.6 BRAKICKÉ VODY

Om43 patří k bakteriím vyskytujících se v mořích, jedná se o pelagické bakterie (Ramachandran, Walsh 2015). Dalším místem, kde se tato bakterie vyskytuje, jsou brakické vody (Mohapatra et al. 2020). Nalezli jsme ji ve vzorku zubu ze Semonice č. 108. Rod *Pigmentiphaga* byl již popsán v kapitole bakterie kontaminovaných vod, odpadních vod, kalu. Bakterie rodu *Streptacidiphilus* byla již popsána v kapitole mořské bakterie. Aktinomyceta *Verrucosipora* se vyskytuje dle Xie et al. 2018 v mangrovových oblastech v Číně (Xie et al. 2018). My jsme ji objevili ve vzorku hlíny ze Semonice č. 234. Četnost jednotlivých bakterií je uvedena v tabulce (viz. Tab. 7.) a grafu (viz. Graf 6.).

Tab. 7 Bakterie slaných vod, slaných jezer, brakických vod v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích

Bakterie slaných vod, slaných jezer, brakických vod						
Rod	Hostivice zub 1399	Hostivice zub 1487	Hostivice zub 1491	Semonice hlína 234	Semonice zub 108	Semonice kost Kráva 65
	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku
<i>Om43</i>	0	0	0	0	439933	0
<i>Verrucosipora</i>	0	0	0	832056	0	0
<i>Streptacidiphilus</i>	0	0	0	159881	0	1546039
<i>Pigmentiphaga</i>	0	0	0	13354	13354	0
<i>Desulfurivibrio</i>	4072	1953	1953	4072	4072	4072
<i>Halorhodospira</i>	15798	15798	15798	15798	15798	0
<i>Dichotomicrobium</i>	39770	39770	39770	39770	39770	39770
<i>Limimonas</i>	31121	31121	31121	31121	31121	31121
<i>Marinobacter</i>	0	1716230	1716230	3722234	0	1730391

Graf 6 Bakterie slaných vod, slaných jezer, brakických vod v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích



Bakterie brakických vod se vyskytují na pomezí sladké a slané vody. Můžeme uvažovat o tom, že dokážou přežít v jakémkoliv vodním prostředí. To znamená, že mohou například i přežít ve zvlhčené půdě.

9.7 SLANÁ JEZERA A SLANÉ VODY

Desulfurivibrio bylo autory izolováno z hypersalinního alkalického jezera v poušti Wadi Natrun (Melton et al. 2016). Objevili jsme tuto bakterii ve všech vzorcích z Hostivic a Semonice. *Halorhodospira* byla získána ze stejného místa jako bakterie *Desulfurivibrio*, byla izolována z egyptského hypersalinního alkalického jezera Wadi Natrun. *Halorhodospira* je extrémně halofilní bakterie (Singh et al. 2014). Dalším významným místem, kde byla bakterie rodu *Halorhodospira* nalezena, je hypersalinní jezero v Oregonu (Challacombe et al. 2013). Objevili jsme ji ve vzorcích zubů z Hostivic č. 1399, č. 1487, č. 1491, hlíny ze Semonice č. 234 a zubu ze Semonice č. 108. Rod *Dichotomicrobium* bylo dle Hirsch, Hoffman 1989 objeveno ve slané jezero Sinaj (Hirsch a Hoffman 1989). Zároveň se tento bakteriální rod objevil i ve všech našich vzorcích ze Semonice a Hostivic. V íránském hypersalinním jezero Aran-Bidgol byla autory objevena bakterie rodu *Limimonas*, která je také extrémně halofilní bakterií (Amoozegar et al. 2013). Objevili jsme ji ve všech našich vzorcích ze Semonice a Hostivic. *Marinobacter* byl již popsán v kapitole mořské bakterie.

Bakterie slaných vod jsou jistě schopny přežít i v mořském prostředí. Jelikož byly vzorky zubů a kostí nalezeny v půdě a tyto bakterie se vyskytují i v našich vzorcích zubů a kostí, bakterie budou zřejmě kosmopolitní. Objevení těchto halofilních bakterií v našich kosterních vzorcích z půdy může naznačovat, že se nejedná o specialisty na slané prostředí, ale spíše o bakterie schopné využívat řady prostředí, včetně extrémně slaného.

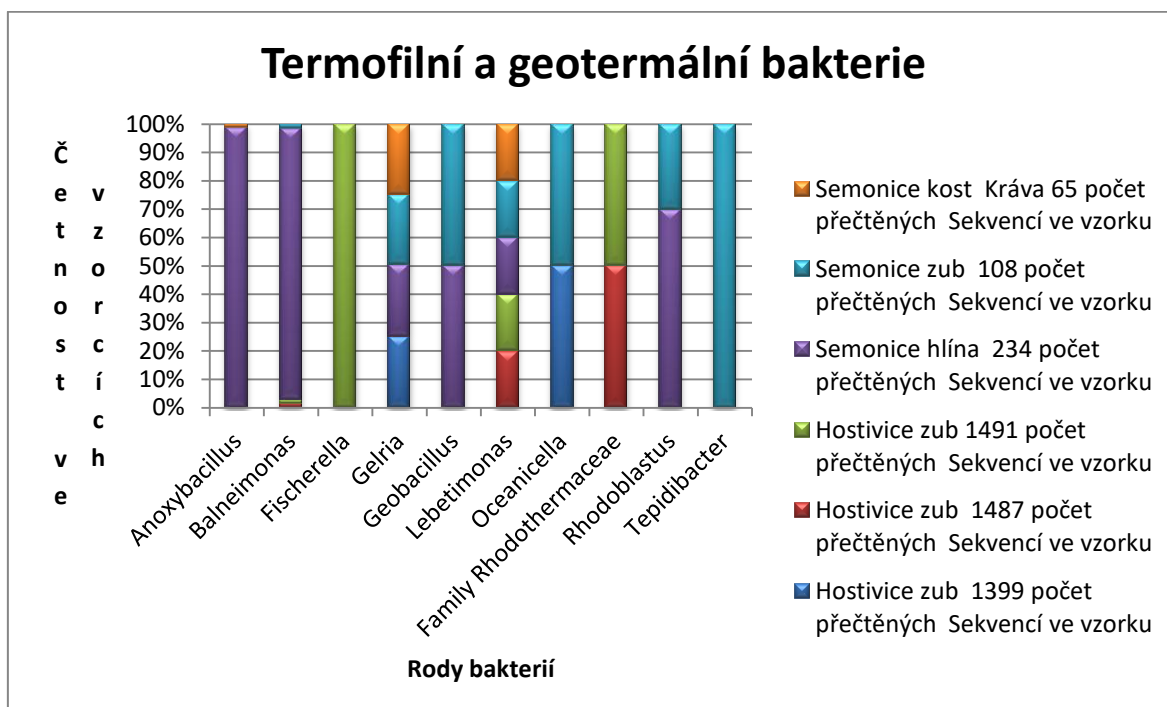
9.8 TERMOFILNÍ BAKTERIE A GEOTERMÁLNÍ BAKTERIE

Bakteriální rod *Anoxybacillus* můžeme dle Goh et al. 2013 najít ve hnoji, mlékárenském průmyslu či geotermálních pramenech (Goh et al. 2013). *Anoxybacillus* jsme objevili ve vzorcích hlíny ze Semonice č. 234 a kravské kosti ze Semonice č. 65. *Balneimonas* je termofilní bakterií, která dle Takeda et al. 2004 byla izolována z horkých pramenů (Takeda et al. 2004). Objevila se ve vzorcích hlíny ze Semonice č. 234, zubu ze Semonice č. 108, zubů z Hostovic č. 1487 a č. 1491. Rod *Fischerella* byl popsán v kapitole sinice (cyanobacteria) a fototrofní bakterie. *Gelria* je jednou z termofilních bakterií a autory byla izolována z anaerobního reaktoru pro úpravu kyseliny mléčné (Yamada et al. 2021). Izolovali jsme ji ze vzorků zubu z Hostovic č. 1399, hlíny ze Semonice č. 234, zubu ze Semonice č. 108 a kravské kosti ze Semonice č. 65. Bakteriální rod *Geobacillus* byl nalezen v horkých pramenech, ropných polích a půd v okolí. *Geobacillus* je termofilní bakterie, která se vyskytuje na extrémních stanovištích (Lin et al. 2019). *Geobacillus* se objevil i ve vzorcích hlíny ze Semonice č. 234 a zubu ze Semonice č. 108. Rod *Lebetimonas* byl popsán v kapitole mořské bakterie. Stejně tak rod *Oceanicella* byl již popsán v kapitole mořské bakterie. Čeleď *Rhodothermaceae* zahrnuje rody bakterií, které jsou termofilní nebo halofilní. Většina byla izolována z oceánu a jeho extrémních prostředí (Park et al. 2014). Bakterie byla izolována ze vzorků zubů z Hostovic č. 1487 a č. 1491. *Rhodoblastus* se vyskytuje hojně v hydrotermálních pramenech (Akimov et al. 2013). Objevila se i v našich vzorcích hlíny ze Semonice č. 234 a zubu ze Semonice č. 108. *Tepidibacter* je termofilní bakterie, která se vyskytuje v hydrotermálních průduších (Slobodkin et al. 2003). Bakterii *Tepidibacter* jsme objevili ve vzorku zubu ze Semonice č. 108. Veškeré termofilní a geotermální bakterie a jejich četnost ve vzorcích jsou uvedeny v tabulce (viz. Tab. 8.) a grafu (viz. Graf 7.).

Tab. 8 Termofilní a geotermální bakterie v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích

Termofilní a geotermální bakterie						
Rod	Hostivice zub 1399	Hostivice zub 1487	Hostivice zub 1491	Semonice hlína 234	Semonice zub 108	Semonice kost Kráva 65
	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku
Anoxybacillus	0	0	0	2129083	0	21580
Balneimonas	0	129792	129792	9668976	129792	0
Fischerella	0	0	5454	0	0	0
Gelria	994138	0	0	994138	979075	979075
Geobacillus	0	0	0	86429	86429	0
Lebetimonas	0	15363	15363	15363	15363	15363
Oceanicella	40084	0	0	0	40084	0
Family Rhodothermaceae	0	3815	3815	0	0	0
Rhodoblastus	0	0	0	1439079	625816	0
Tepidibacter	0	0	0	0	112629	0

Graf 7 Termofilní a geotermální bakterie v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích



Uvedené rody bakterií jsou termofilní a velmi často se vyskytují v horkých pramenech. Můžeme uvažovat o tom, že daná osoba, které patřily zuby, se napila vody z horkého pramene. Další teorií je, že osoba pozřela rybu, která se někdy mohla vyskytovat v blízkosti horkých pramenů. U nás v České republice je hojný počet horkých pramenů například v Karlových Varech. Jelikož se zde vyskytují i mořské termofilní bakterie, můžeme uvažovat o tom, že se na naše území dostaly například migrací mořských ryb (lososů) do sladkovodních řek za účelem rozmnožování. Poslední možnou variantou je, že bakterie jsou kosmopolitní. Nedá se ani zcela vyloučit zvýšená teplota při rozkladných procesech těla záhy po pohřbu, kdy by mohly teplomilné bakterie prosperovat. Nejpravděpodobnější možnost vidím zdroj teplé vody v tehdejších domácnostech, kde vzadu na kachlových kamnech bývaly tzv. hrnce kamňáky. Zde byla voda stabilně teplá, ale nikoliv vřelá voda.

9.9 JINÉ VÝSKYTY VODNÍCH BAKTERIÍ

Anaerolineaceae (C1_b004) patří mezi bakterie, které se vyskytují v těžební vodě ropy a v ropě (Liang et al. 2015). Nalezli jsme je ve vzorku zuby ze Semonice č. 108. *Anaerospora* je součástí mikrobioty hospodářských ryb (Zeng et al. 2020). Rod *Anaerospora* se objevil i ve vzorku zuby z Hostivice č. 1491. Bakterie *aquatic* (ML635J-40) patří mezi vodní bakterie (Brazelton et al. 2017). Objevila se i ve vzorcích hlíny ze Semonice č. 234, zuby ze Semonice č. 108 a zuby z Hostivice č. 1491. Bakterie rodu *Herminiimonas* je jednou z mnoha vodních bakterií (Tian et al. 2021). My jsme ji objevili ve vzorcích zuby ze Semonice č. 108 a hlíny ze Semonice č. 234. *Chloroflexi* je vodní i suchozemskou bakterií, může mít spojitost s paradontózou a být součástí lidské mikrobioty (Campbell et al. 2014). Objevila se ve vzorku hlíny ze Semonice č. 234. *Novispirillum* je vodním patogenem pro larvy komárů (Tranchida et al. 2012). Tento bakteriální rod se objevil ve všech našich vzorcích. Bakterie *Om27* byla nalezena ve vlhkém prostředí rýžových pólů (Qian et al. 2020). Zároveň se objevila i ve vzorcích hlíny ze Semonice č. 234 a zuby ze Semonice č. 108. Čeleď *Piscirickettsiaceae* (*Endosymbionts*) patří mezi vodní bakterie (Pavlovska et al. 2021). Vzorky Semonice hlína 234, Semonice zub 108 a Hostivice zub 1491 obsahovali *Piscirickettsiaceae* (*Endosymbionts*). Rod *Pontibacter* byl autory izolován z mořského sedimentu v Číně (Liu et al. 2021). Dalším místem, kde se tento rod vyskytoval, byl vodopád Jeonbang (Chhetri G, Seo 2021). Rod *Pontibacter* se objevil pouze ve vzorku zuby ze Semonice č. 108. Tento bakteriální rod se zřejmě může vyskytovat v různých vodních prostředích.

Propionicimonas se vyskytuje na rýžových polích v Japonsku (Akasaka et al. 2003). *Propionicimonas* se objevila ve všech vzorcích z Hostivic, zároveň se objevila i ve vzorku hlíny ze Semonic č. 234. *Proteobacterium* je vodní i půdní bakterií (Swain et al. 2014). Rod *Proteobacterium* se vyskytoval ve vzorcích hlíny ze Semonic č. 234 a všech vzorcích z Hostivic. Řád *Pyrinomonadales* byl nalezen na Antarktidě (Waschulin et al. 2022). Izolovali jsme tento řád ze vzorku hlíny ze Semonice č. 234. *Rahnella* je vodní bakterií, která může způsobovat infekce u lidí s nízkou obranyschopností organismu. Může způsobovat infekce dýchacích cest, močových cest a i endokarditidu (Kuzdan et al. 2015). Dle Roeder et al. 2021 se tento rod může vyskytovat i v popáleninách a způsobovat infekce (Roeder et al. 2021). Objevili jsme ji ve vzorcích zubu ze Semonic č. 108 a kravské kosti ze Semonic č. 65. *Raoultella* je zvláštním rodem bakterie, který se vyskytuje ve vodním i půdním prostředí. Nicméně největší zajímavostí tohoto rodu je jeho schopnost přeměny histaminu. Někteří lidé se mohou bakteriálním histaminem otrávit (Hajjar et al. 2020). Tato bakterie se objevila se ve vzorku hlíny ze Semonic č. 234. Mohla se tedy přirozeně nacházet v půdě. *Sediminibacterium* se velmi často vyskytuje ve vodním sedimentu. Dle Kim et al. (2016) byla tato bakterie nalezena v sedimentu akvária (Kim et al. 2016). Dalším místem, kde tento rod bakterie byl nalezen, je přehrada v Číně bohatá na živiny (Qu, Yuan 2008). *Sediminibacterium* jsme objevili ve vzorku zubu z Hostivic č. 1399. Dle Dubinina et al. 2015 byla *Spirochaeta* objevena v hypersalinním jezeru Sinai (Dubinina et al. 2015). Druhým místem, kde byla tato bakterie objevena je jezero Lonar v Indii (Vishnuvardhan Reddy et al. 2013). Objevili jsme ji ve všech vzorcích. Zřejmě se tato bakterie může vyskytovat v různých vodních prostředích.

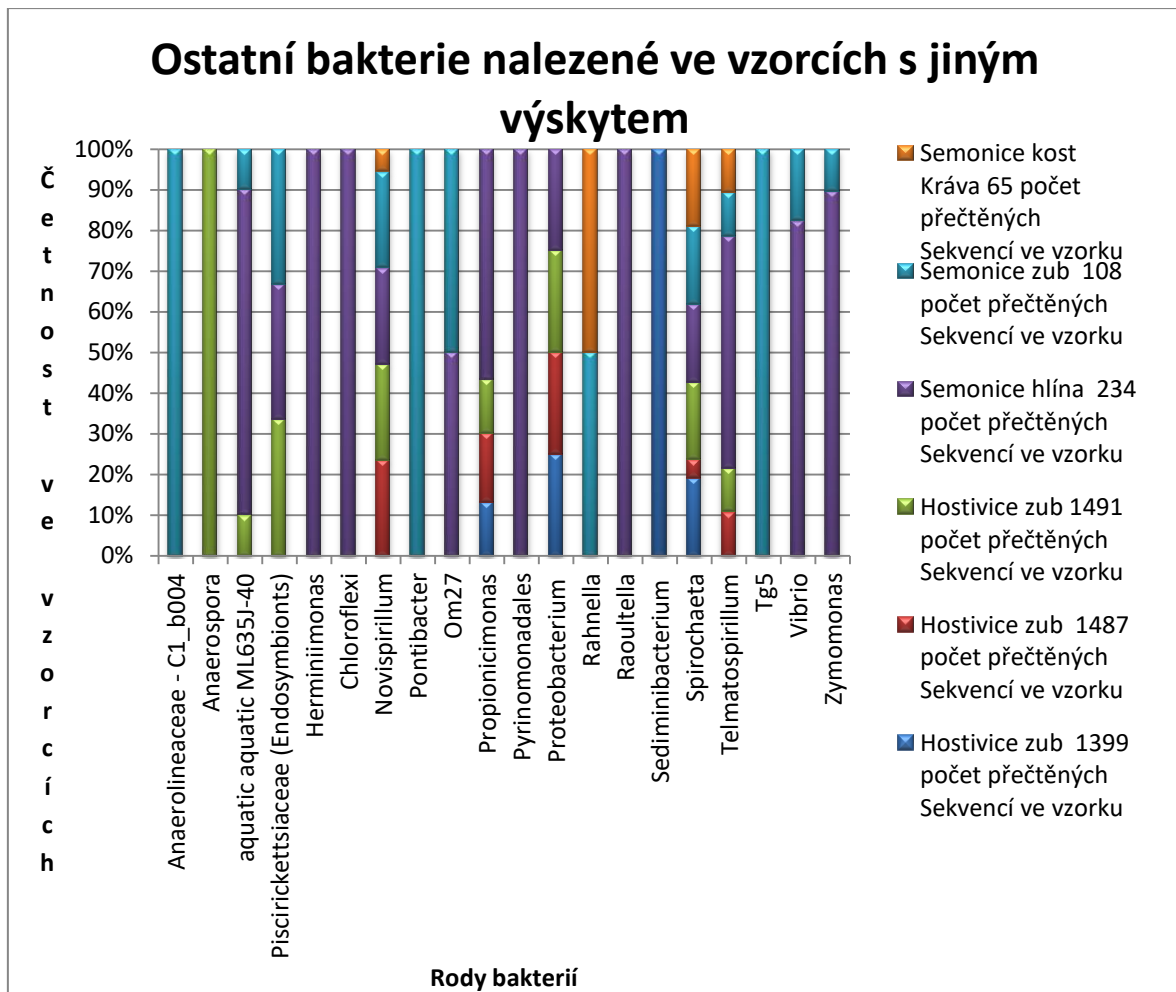
Telmatospirillum je bakterií, kterou řadíme do alfaproteobakterií. Autory byla izolována z rašeliniště na Sibíři (Hausmann et al. 2018). My jsme ji izolovali ze vzorků zubů z Hostivic č. 1491, č. 1487, hlíny ze Semonic č. 234, zubu ze Semonic č. 108, kravské kosti ze Semonic č. 65. Bakterie *Tg5* byla nalezena autory v dutině ústní psů se slinami (Oba et al. 2021). Objevili jsme ji ve vzorku zubu ze Semonic č. 108. *Vibrio* je jednou z kosmopolitních bakterií, které jsou schopny přežít v jakémkoliv prostředí. Hojně se vyskytují ve vodách, ve sladkých i slaných. Zajímavostí tohoto rodu je, že mohou lidem způsobovat infekce. Nejčastěji se jedná o průjmová onemocnění (choleru), která mohou v horších případech způsobit i smrt. Člověk se může nakazit například kontaminovanou vodou (Baker-Austin et al. 2018). Izolovali jsme ji ze vzorků hlíny ze Semonic č. 234 a zubu ze Semonic č. 108. *Zymomonas* je v blízkosti mořské vody a podílí se na výrobě

etanolu. Zároveň mohou být i v blízkosti sladké vody při výrobě etanolu. Ve sladké vodě se vyskytují v menším množství oproti mořské vodě (Gonçalves et al. 2015). Objevili jsme ji ve vzorcích zubu ze Semonice č. 108 a hlíny ze Semonice č. 234. Veškeré rody bakterií a jejich četnost v jednotlivých vzorcích je uvedena v tabulce (viz. Tab. 9.) a grafu (viz. Graf 8.).

Tab. 9 Ostatní bakterie nalezené ve vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích

Ostatní bakterie nalezené ve vzorcích s jiným výskytem						
Rod	Hostivice zub 1399	Hostivice zub 1487	Hostivice zub 1491	Semonice hlína 234	Semonice zub 108	Semonice kost Kráva 65
	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku	počet přečtených Sekvencí ve vzorku
Anaerolineaceae - C1_b004	0	0	0	0	334509	0
Anaerospira	0	0	83657	0	0	0
aquatic aquatic ML635J- 40	0	0	15528	125316	15528	0
Piscirickettsiaceae (Endosymbionts)	0	0	8573	8573	8573	0
Herminiimonas	0	0	0	739309	739 309	0
Chloroflexi	0	0	0	173908	0	0
Novispirillum	20 726	11583	11583	11583	11583	2711
Pontibacter	0	0	0	0	854660	0
Om27	0	0	0	335096	335096	0
Propionicimonas	78031	100570	78031	336764	0	0
Pyrinomonadales	0	0	0	3909558	0	0
Proteobacterium	3598	3598	3598	3598	0	0
Rahnella	0	0	0	0	342813	342813
Raoultella	0	0	0	249227	0	0
Sediminibacterium	106028	0	0	0	0	0
Spirochaeta	686192	162986	686192	686192	686192	686192
Telmatospirillum	0	24020	24020	128362	24020	24020
Tg5	0	0	0	0	6557	0
Vibrio	0	0	0	1565214	336507	0
Zymomonas	0	0	0	299605	34906	0

Graf 8 Ostatní bakterie nalezené ve vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích



Zmíněné rody bakterií se vyskytují v různých prostředích. Nejpravděpodobněji jsou kosmopolitní, a proto je můžeme najít i ve vzorcích zubů a kostí. Některé bakterie mohou být součástí lidské mikroflóry, ovšem nemůžeme to říci o všech uvedených bakteriích. Rody, které bychom mohli spojovat s lidskou mikroflórou či zvířecí, jsou například rody *Vibrio*, *Tg5*, *Rahnella*, *Chloroflexi* či *Anaerospira*. Většina rodů bude zřejmě trvale či sezónně přítomná v půdě a vodách. Bakterie rýžových polí byly pravděpodobně zavlečeny na území Evropy s dovozem rýže. Proto rody *Om27* a *Propionimonas* můžeme najít i v našich vzorcích. Nicméně mohou být i kosmopolitní. Doposud celkový výskyt bakterií není detailně prozkoumán. Rod *Zymomonas* bude pravděpodobně spojen s konzumací alkoholu.

Je pozoruhodné, kde všude jsou bakterie schopny žít a je velmi zajímavé, jaká prostředí jsou schopny kolonizovat. Můžeme si povšimnout jejich schopnosti přežívat v extrémních prostředích jako je například Antarktida nebo horké prameny, ropa apod.

Můžeme si těchto výskytů všimnout například u bakterií rodu *Loktanella*, *Geobacillus*, *Fischerella*, *Gelria* či *Anoxybacillus*. Dále se vyskytují ve zcela běžných prostředích, jako je voda, půda či jiné organismy. Součástí mikrobiomu organismů byly například bakterie *Anaerospora*, *Arsenicococcus*, *Enterovibrio*, *Chloroflexi*, *Kistimonas*, *Oceanibacterium*, *Paeniglutamicibacter*, *Photobacterium*, *Piscicoccus*, *Tg5*. Většina těchto uvedených bakterií mikrobiomu se vyskytovala u vodních živočichů a je pozoruhodné, že se vyskytují i v půdě. Je očividné, že tyto mikroorganismy jsou schopné přežít v jakémkoliv prostředí a i za jakýchkoliv podmínek pro život. Hlavním přínosem práce je určení kosmopolitního výskytu řady rodů bakterií, o kterých se to předtím nepředpokládalo.

Některé rody bakterií se podílejí na čištění vod a udržování ekosystému, mají pozitivní vliv na prostředí. Můžeme hovořit například o rodech *Brachymonas* nebo *Macellibacteroides*. Největší rodovou různorodost ve vzorcích vykazovali mořské bakterie. Jedná se o další důkaz toho, že bakterie jsou kosmopolitní a schopné přežívat v jakémkoliv prostředí. Z mořských bakterií ve vzorcích dominovala *Colwellia*, zřejmě není asi v půdě zastoupena jen minoritně. Podobně byly silně zastoupeny také *Aurantimonas*, *Carnobacterium*, *Photobacterium*, *Paraoerskovia* a například *Marinobacter*. Můžeme usoudit, že bakterie uvedené v kapitolách o „mořské bakterie“, „bakterie slanných vod a jezer“, „brakické vody“ jsou kosmopolitní. Salinita pro některé z uvedených bakterií není zřejmě podmínkou pro život.

ZÁVĚR

Práce byla zaměřena na zkoumání bakterií ve vzorcích odebrané z území Hostivic a Semonice. Práce je zaměřena především na vodní a termofilní bakterie. Bylo odebráno celkem šest vzorků. Tři vzorky byly odebrány z historického pohřebiště v Hostivicích. Toto území můžeme najít ve Středočeském kraji. Z Hostivic byly odebrány vzorky zubů označené jako Hostivice zub 1399, Hostivice zub 1487, Hostivice zub 1491. Další tři vzorky byly odebrány z území v Královehradeckém kraji. Semonice jsou taktéž historickým územím a vzorky byly odebrány z pohřebiště. Odebraly se tři vzorky označené Semonice hlína 234, Semonice zub 108 a Semonice kost kráva 65. Je vidět, že vzorky nebyly pouze zuby, nýbrž i kosti a hlína. Vzorek Semonice hlína 234 na pohřebišti obsahoval hlínu, která pocházela z dutiny břišní na rozdíl od jednotlivých zubů.

Analýza vzorků byla provedena pomocí metagenomického sekvenování od společnosti Illumina. Pro analýzu vzorků se využilo přístroje Illumina MiSeq. Pro zpracování dat byly použity dva softwary. Prvním je software CosmosID, díky kterému jsme získali bakterie určené do rodů. Druhým je software SEED2, díky kterému máme některé bakterie určené do rodů i druhů.

Ze získaných dat o bakteriích byla vytvořena tabulka dle jejich primárního výskytu. Jednotlivé získané bakterie ze všech šesti vzorků byly rozděleny do skupin sladkovodní bakterie, bakterie důlních vod a podzemních vod, bakterie kontaminovaných vod, odpadních vod, kalu, sinice, mořské bakterie, bakterie slaných vod, slaných jezer, brakických vod, termofilní a geotermální bakterie a ostatní bakterie nalezené ve vzorcích s jiným výskytem. Ostatní bakterie nalezené ve vzorcích s jiným výskytem byly sloučeny do jedné skupiny, protože měly specifický výskyt např. v ropě, rýžových polích apod. Pro každé toto rozdělení byla zhotovena tabulka a graf. Tabulka obsahovala přehled všech šesti vzorků s jednotlivými bakteriemi a jejich počtem sekvencí ve vzorku. Následně k těmto počtům sekvencí byl vytvořen graf četnosti bakterií, např. mořské bakterie a jejich četnost ve vzorcích.

Nejčetnější bakterie ve vzorcích byly rody *Rhodovarius*, *Colwellia*, *Spirochaeta*, *Aurantimonas* a *Carnobacterium* ve vzorku Hostivice zub 1399. Ve vzorku Hostivice zub 1487 byly nejčetnější rody *Marinobacter*, *Carnobacterium*, *Rhodovarius*, *Paeniglutamicibacter*, *Celeribacter* a *Colwellia*. Ve třetím vzorku Hostivice zub 1491 byla největší četnost bakterií u rodů *Carnobacterium*, *Marinobacter*, *Rhodovarius*, čeledi

Desulfurellaceae H16, *Colwellia* a *Spirochaeta*. Ve vzorku Semonice hlína 234 byla největší četnost u rodů *Marinobacter*, *Blastobacter*, *Anoxybacillus*, *Pyrinomonadales* a *Candidatus*. Ve vzorku Semonice zub 108 byla největší četnost rodů *Pontibacter*, *Om60(nor5)*, *Spirochaeta*, *Rhodoblastus*, *Hasllibacter* a *Herminiimonas*. V posledním vzorku Semonice kost kráva 65 byla největší četnost bakterií u rodů *Marinobacter*, *Streptacidiphilus*, *Rhodovarius*, *Candidatus* či termofilní *Gelria*. Minoritně ve všech vzorcích byly zastoupeny rody *Mariprofundus*, *Fulvimarina* či *Loktanella*.

Z jednotlivých vzorků byla získána široká škála bakterií. Mezi ty nejzajímavější patří bezpochyby bakterie např. *Loktanella*, *Geobacillus*, *Fischerella*, *Gelria*, *Marinobacter*, *Carnobacterium* či *Dichotomicrobium*. Tyto identifikované rody bakterií nám potvrzují jejich kosmopolitní výskyt. Výsledkem této práce je tedy přehled bakterií se zaměřením na rody uvažované spíše jako vodní a termofilní, avšak nalezené v kosterním materiálu v půdě, což lze považovat za důkaz o jejich kosmopolitním výskytu. Nicméně tyto bakterie se nevyskytují v půdním biomu zemědělských polí ve Finsku, pomocí kterých byly separovány z našich souborů půdní bakterie. Zdá se tedy, že tyto rody sice vykazují kosmopolitní rozšíření, ale přece jen preferují vyšší teploty. Nicméně tomu odporuje identifikace rodů izolovaných z Antarktidy *Rhodoligotrophos*, *Loktanella*, *Phormidium* a *Carnobacterium*. Je proto možné, že při odběru vzorků a konkrétního výskytu bakteriálních rodů hraje i velkou roli náhoda.

V současné době není publikováno příliš mnoho prací zaměřených na diverzitu bakterií v půdě. Tato práce je zatím ojedinělá v tom, že udává výskyt vodních, včetně domněle mořských a termofilních bakterií v půdě střední Evropy. Dále dokazuje, že některé bakterie jsou kosmopolitní. Získaná data mohou být dále zpracována a použita pro další výzkum. Je důležité zpracovávat výzkum nadále, abychom získali přehled o půdách a výskytu bakterií. Může nám to pomoci i s odhalením různých rizik v medicínské sféře. Například v prevenci před infekcí, kterou mohou některé bakterie způsobovat, jako rod *Vibrio*.

RESUMÉ

Tato práce je zaměřena na zkoumání mikrobiální diverzity bakterií v půdě. Zaměřuje se především na vodní a termofilní bakterie ze široké škály bakterií, které se v půdě vyskytují. Z oblasti Semonic a Hostivic bylo odebráno celkem šest vzorků. Vzorky pocházejí z historických pohřebišť. Z každé lokality byly odebrány tři vzorky. Vzorky ze Semonic obsahují vzorek kosti z krávy, hlínu z dutiny břišní a zub. Vzorky z Hostivic obsahují pouze zuby. V Bioptické laboratoři s.r.o. byla provedena metagenomická analýza vzorků a jejich zpracování pomocí přístroje od společnosti Illumina MiSeq pro sekvenování vzorků. Pro zpracovávání dat byly použity softwary CosmosID a SEED2. Tyto programy nám pomohly identifikovat bakterie a taxonomicky je zařadit.

Ze získaných výsledků bakterií byl vytvořen přehled různorodosti bakterií v půdě z oblastí Semonic a Hostivic. Přehled tvořily rody bakterií, které byly vodní nebo termofilní. Z vysoké různorodosti bakterií bylo zjištěno, že některé druhy bakterií jsou kosmopolitní. Jedná se především o bakterie typické pro mořské a slané vody, nebo termofilní bakterie, bakterie v ropě a další. Považujeme za významné zjištění, že některé zdánlivě výlučně mořské, nebo vodní bakterie jsou kosmopolitní a schopné přežít v jakémkoliv prostředí.

Tato práce je unikátní v tom, že udává výskyt vodních a termofilních bakterií v půdě z oblasti Semonic a Hostivic. Dále dokazuje, že některé bakterie jsou kosmopolitní. Získaná data mohou být dále zpracována a použita pro další výzkum. Je důležité zpracovávat výzkum nadále, abychom získali přehled o půdách, vodách apod. i na jiných územích.

SUMMARY

This work is focused on microbial diversity of bacteria in soil. It's especially focused on water and thermophilic bacteria from a wide variety of bacteria, which is in a soil. A total of six samples were taken from the area of Semonice and Hostivice. The samples come from the historical burial ground. Three samples were taken for each location. Samples from Semonice include a cow bone, a clay from the abdominal cavity and a tooth. Samples from Hostivice include just only teeth. In a Biopstická laboratoř s.r.o. was done metagenomic analysis of samples and their processing per aparature MiSeq from Illumina company for sequencing samples. CosmosID and SEED2 software were used for data processing.

A diversity report was created according to the obtained data of bacteria in a soil from location of Semonice and Hostivice. The diversity report was formed by genus of bacteria, which were from water and were thermophilic. It was found from the high diversity of bacteria that some genus of bacteria are cosmopolitan. This is especially typical for seawater bacteria and salt water or thermophilic bacteria, bacteria in petroleum and other. We consider it as significant finding that some exclusively marine or aquatic bacteria are cosmopolitan and able to survive in all types of an environment.

This work is unique that indicates the occurrence of water bacteria and thermophilic bacteria in a soil from locations of Semonice and Hostivice. In the next this work proves that some genus of bacteria are cosmopolitan. The obtained data can be further processed and used for further research. It is important to continue research in order to obtain an overview of soils, waters and other in another areas.

SEZNAM LITERATURY

- Abia, A. L. K., Alisoltani, A., Keshri, J. a Ubomba-Jaswa, E. 2018. Metagenomic analysis of the bacterial communities and their functional profiles in water and sediments of the Apies River, South Africa, as a function of land use. *Science of the Total Environment*, 617, 326-334.
- Abia, A. L. K., Alisoltani, A., Ubomba-Jaswa, E. a Dippenaar, M. A. 2019. Microbial life beyond the grave: 16S rRNA gene-based metagenomic analysis of bacteria diversity and their functional profiles in cemetery environments. *Science of the Total Environment*, 655, 831–841.
- Akasaka, H., Ueki, A., Hanada, S., Kamagata, Y. a Ueki, K. 2003. Propionicimonas paludicola gen. nov., sp. nov., a novel facultatively anaerobic, Gram-positive, propionate-producing bacterium isolated from plant residue in irrigated rice-field soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 53(6), 1991-1998.
- Akimov, V. N., Podosokorskaia, O. A., Shliapnikov, M. G. a Gal'chenko, V. F. 2013. [Dominant phylotypes in the 16S rRNA gene clone libraries from bacterial mats of the Uzon caldera (Kamchatka, Russia) hydrothermal springs]. *Microbiology*, 82, 721–727.
- Albuquerque, L., Rainey, F. A., Nobre, M. F. a Da Costa, M. S. 2012. Oceanicella actignis gen. nov., sp. nov., a halophilic slightly thermophilic member of the Alphaproteobacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 35(6), 385-389.
- Alcorta, J., Vergara-Barros, P., Antonaru, L. A., Alcamán-Arias, M. E., Nürnberg, D. J. a Díez, B. 2019. Fischerella thermalis: a model organism to study thermophilic diazotrophy, photosynthesis and multicellularity in cyanobacteria. *Extremophiles*, 23(6), 635-647.
- Alfán-Guzmán, R., Ertan, H., Manefield, M. a Lee, M. 2017. Isolation and Characterization of *Dehalobacter* sp. Strain TeCB1 Including Identification of TcbA: A Novel Tetra- and Trichlorobenzene Reductive Dehalogenase. *Frontiers in Microbiology*, 8, 558 s.

- Amoozegar, M. A., Makhdoumi-Kakhki, A., Ramezani, M., Nikou, M. M., Fazeli, S. A. S., Schumann, P. a Ventosa, A. 2013. *Limimonas halophila* gen. nov., sp. nov., an extremely halophilic bacterium in the family Rhodospirillaceae. *International journal of systematic and evolutionary mikrobiology*, 63(4), 1562-1567.
- Ansorge, W. J. 2009. Next-generation DNA sequencing techniques. *New Biotechnology*, 25(4), 195–203.
- Azam, F. a Worden, A. Z. 2004. Oceanography. Microbes, molecules, and marine ecosystems. *Science*, 303(5664), 1622-1624.
- Baek, K., Choi, A., Kang, I. a Cho, J. C. 2014. *Celeribacter marinus* sp. nov., isolated from coastal seawater. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(4), 1323-1327.
- Baek, M. G., Shin, S. K. a Yi, H. 2019. *Sphingorhabdus lutea* sp. nov., isolated from sea water. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 69(11), 3593-3598.
- Baker-Austin, C., Oliver, J. D., Alam, M., Ali, A., Waldor, M. K., Qadri, F. a Martinez-Urtaza, J. 2018. *Vibrio* spp. infections. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 8 s.
- Balcázar, J. L., Planas, M. a Pintado, J. 2012. *Oceanibacterium hippocampi* gen. nov., sp. nov., isolated from cutaneous mucus of wild seahorses (*Hippocampus guttulatus*). *Antonie Van Leeuwenhoek*, 102(1), 187-191.
- Bhattacharya, S. 2020. The Role of Spirulina (Arthrospira) in the Mitigation of Heavy-Metal Toxicity: An Appraisal. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 39(2), 149-157.
- Bjornsdottir-Butler, K., Mccarthy, S. A., Dunlap, P. V. a Benner Ra, J. R. 2016. *Photobacterium angustum* and *Photobacterium kishitanii*, Psychrotrophic High-Level Histamine-Producing Bacteria Indigenous to Tuna. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(7), 2167-2176.
- Brazelton, W. J., Thornton, C. N., Hyer, A., Twing, K. I., Longino, A. A., Lang, S. Q., Lilley, M. D., Früh-Green, G. L. a Schrenk, M. O. 2017. Metagenomic identification of active methanogens and methanotrophs in serpentinite springs of the Voltri Massif, Italy. *PeerJ*. 5, 2945 s.

- Breitwieser, F. P., Lu, J., Salzberg, S. L. 2019. A review of methods and databases for metagenomic classification and assembly. *Briefings in Bioinformatics*, 20(4), 1125-1136.
- Brennan, M. A., Trachtenberg, A. M., McClelland, W. D. a Maclea, K. S. 2017. Genome Sequence of *Oceanimonas doudoroffii* ATCC 27123T. *Genome Announcements*, 5(36), 996-1017.
- Burcham, Z. M., Pechal, J. L., Schmidt, C. J., Bose, J. L., Rosch, J. W., Benbow, M. E. a Jordan, H. R. 2019. Bacterial Community Succession, Transmigration, and Differential Gene Transcription in a Controlled Vertebrate Decomposition Model. *Frontiers in Microbiology*, 10, 745 s.
- Camesasca, L., De Mattos, J. A., Vila, E., Cebreiros, F. a Lareo, C. 2021. Lactic acid production by *Carnobacterium* sp. isolated from a maritime Antarctic lake using eucalyptus enzymatic hydrolysate. *Biotechnology Reports*, 31, 643 s.
- Campbell, A. G., Schwientek, P., Vishnivetskaya, T., Woyke, T., Levy, S., Beall, C. J., Griffen, A., Leys, E. a Podar, M. 2014. Diversity and genomic insights into the uncultured Chloroflexi from the human microbiota. *Environmental Microbiology*, 16(9), 2635-2643.
- CULEK, M., Buček, A., Grulich, V., Hartl, P., Hrabica, A., Kocián, J., Kyjovský, Š. a Lacina, J. 2003. *Biogeografické členění České republiky*. Enigma, 18-186. Praha.
- Dall'agnol, H., Nancuqueo, I., Johnson, D. B., Oliveira, R., Leite, L., Pylro, V. S., Holanda, R., Grail, B., Carvalho, N., Nunes, G. L., Tzotzos, G., Fernandes, G. R., Dutra, J., Orellana, S. C. a Oliveira, G. 2016. Draft Genome Sequence of "Acidibacillus ferrooxidans" ITV01, a Novel Acidophilic Firmicute Isolated from a Chalcopyrite Mine Drainage Site in Brazil . *Genome Announcements*, 4(2), 1748-1815.
- Delghandi, M. R. a El-Matbouli, M., Menanteau-Ledouble, S. 2020. *Renibacterium salmoninarum*-The Causative Agent of Bacterial Kidney Disease in Salmonid Fish. *Pathogens*. 9(10), 845 s.

- Denner, E. B. M., Smith, G. W., Busse, H. J., Schumann, P., Narzt, T., Polson, S. W., Lubitz, W. a Richardson, L. L. 2003. *Aurantimonas coralicida* gen. nov., sp. nov., the causative agent of white plague type II on Caribbean scleractinian corals. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 53(4), 1115-1122.
- Deveau, A., Bonito, G., Uehling, J., Paoletti, M., Becker, M., Bindschedler, S., Hacquard, S., Hervé, V., Labbé, J., Lastovetsky, O. A., Mieszkin, S., Millet, L. J., Vajna, B., Junier, P., Bonfante, P., Krom, B. P., Olsson, S., van Elsas, J. D. a Wick, L. Y. 2018. Bacterial-fungal interactions: ecology, mechanisms and challenges. *FEMS Microbiology Reviews*, 42(3), 335-352.
- Du Plooy, S. J., Anandraj, A., White, S., Perissinotto, R. a Du Preez, D. R. 2018. Robust photosystem I activity by *Cyanothece* sp. (Cyanobacteria) and its role in prolonged bloom persistence in lake St Lucia, South Africa. *Extremophiles*. 22(4), 639-650.
- Dubinina, G., Grabovich, M., Leshcheva, N., Gronow, S., Gavrish, E. a Akimov, V. 2015. *Spirochaeta sinaica* sp. nov., a halophilic spirochaete isolated from a cyanobacterial mat. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 65(11), 3872-3877.
- Dubinina, G., Savvichev, A., Orlova, M., Gavrish, E., Verbarq, S. a Grabovich, M. 2017. *Beggiatoa leptomitiformis* sp. nov., the first freshwater member of the genus capable of chemolithoautotrophic growth. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 67(2), 197-204.
- Eckhard, U., Blöchl, C., Jenkins, B. G. L., Mansfield, M. J., Huber, C. G., Doxey, A. C., Brandstetter, H. 2020. Identification and characterization of the proteolytic flagellin from the common freshwater bacterium *Hylemonella gracilit*. *Scientific Reports*, 10(1), 19052 s.
- Falagán, C. a Johnson D. B. 2014. *Acidibacter ferrireducens* gen. nov., sp. nov.: an acidophilic ferric iron-reducing gammaproteobacterium. *Extremophiles*, 18(6), 1067-1073.
- Foesel, B. U., Gössner, A. S., Drake, H. L. a Schramm, A. 2007. *Geminicoccus roseus* gen. nov., sp. nov., an aerobic phototrophic Alphaproteobacterium isolated from a marine aquaculture biofilter. *Systematic and Applied Microbiology*, 30(8), 581-586.

- Fukuda, W., Yamada, K., Miyoshi, Y., Okuno, H., Atomi, H. a Imanaka, T. 2012. Rhodoligotrophos appendicifer gen. nov., sp. nov., an appendaged bacterium isolated from a freshwater Antarctic lake. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 62(Pt 8), 1945-1950.
- Fukunaga, Y., Kurahashi, M., Sakiyama, Y., Ohuchi, M., Yokota, A. a Harayama, S. 2009. Phycisphaera mikurensis gen. nov., sp. nov., isolated from a marine alga, and proposal of Phycisphaeraceae fam. nov., Phycisphaerales ord. nov. and Phycisphaerae classis nov. in the phylum Planctomycetes. *Journal of General and Applied Microbiology*, 55(4), 267-275.
- Garbeva, P., van Veen, J. A., a van Elsas, J. D. 2004. MICROBIAL DIVERSITY IN SOIL: Selection of Microbial Populations by Plant and Soil Type and Implications for Disease Suppressiveness. *Annual Review of Phytopathology*, 42(1), 243–270.
- Goh, K. M., Kahar, U. M., Chai, Y. Y., Chong, C. S., Chai, K. P., Ranjani, V., Illias, R. a Chan K. G. 2013. Recent discoveries and applications of Anoxybacillus. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(4), 1475-1488.
- Gonçalves, F. A., Dos Santos, E. S. a De Macedo, G. R. 2015. Alcoholic fermentation of Saccharomyces cerevisiae, Pichia stipitis and Zymomonas mobilis in the presence of inhibitory compounds and seawater. *Journal of Basic Microbiology*, 55(6), 695-708.
- Greninger, A. L. a Naccache, S. N. 2019. Metagenomics to Assist in the Diagnosis of Bloodstream Infection. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*, 3(4), 643-653.
- Hajjar, R., Ambaraghassi, G., Sebahang, H., Schwenter, F. a Su, S. H. 2020. Raoultella ornithinolytica: Emergence and Resistance. *Infection and Drug Resistance*, 13, 1091-1104.
- Halpern, M., Shakèd, T. a Schumann, P. 2009. Brachymonas chironomi sp. nov., isolated from a chironomid egg mass, and emended description of the genus Brachymonas. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59(12), 3025-3029.

- Hamada, M., Iino, T., Iwami, T., Harayama, S., Tamura, T. a Suzuki, K. 2010. Mobilicoccus pelagius gen. nov., sp. nov. and Piscicoccus intestinalis gen. nov., sp. nov., two new members of the family Dermatophilaceae, and reclassification of Dermatophilus chelonae (Masters et al. 1995) as Austwickia chelonae gen. nov., comb. nov. *Journal of General and Applied Microbiology*, 56(6), 427-436.
- Hamada, M., Tamura, T., Shibata, C., Yamamura, H., Hayakawa, M. a Suzuki, K. 2012. Sediminihabitans luteus gen. nov., sp. nov., a new member of the family Cellulomonadaceae isolated from sea sediment. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 102(2), 325-333.
- Hamada, M., Tamura, T., Shibata, C., Yamamura, H., Hayakawa, M., Schumann, P. a Suzuki, K. I. 2013. Paraoerskovia sediminicola sp. nov., an actinobacterium isolated from sea sediment, and emended description of the genus Paraoerskovia. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 63(7), 2637-2641.
- Han, S. K., Nedashkovskaya, O. I., Mikhailov, V. V., Kim, S. B. a Bae, K. S. 2003. Salinibacterium amurskyense gen. nov., sp. nov., a novel genus of the family Microbacteriaceae from the marine environment. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 53(6), 2061-2066.
- Harris, S. R. a Okoro, C. K. 2014. Whole-Genome Sequencing for Rapid and Accurate Identification of Bacterial Transmission Pathways. *Methods in microbiology*, 41, 123–152.
- Hausmann, B., Pjevac, P., Schreck, K., Herbold, C. W., Daims, H., Wagner, M. a Loy, A. 2018. Draft Genome Sequence of *Telmatospirillum siberiense* 26-4b1, an Acidotolerant Peatland Alphaproteobacterium Potentially Involved in Sulfur Cycling. *Genome Announcements*, 6(4), 1524-1617.
- Hernandez-Eugenio, G., Fardeau, M. L., Cayol, J. L., Patel, B. K., Thomas, P., Macarie, H., Garcia, J. L. a Ollivier, B. 2002. Sporanaerobacter acetigenes gen. nov., sp. nov., a novel acetogenic, facultatively sulfur-reducing bakterium. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 52(4), 1217-1223.
- Hirsch, P. A Hoffman, B. 1989. Dichotomicrobium thermohalophilum, gen. nov., spec. nov., budding prosthecate bacteria from the solar lake (Sinai) and some related strains. *Systematic and Applied Microbiology*, 11, 291-301.

- Huggett, M. J. a Rappé, M. S. 2012. Genome sequence of strain HIMB55, a novel marine gammaproteobacterium of the OM60/NOR5 clade. *Journal of Bacteriology*, 194(9), 2393-2394.
- Challacombe, J. F., Majid, S., Deole, R., Brettin, T. S., Bruce, D., Delano, S. F., Detter, J. C., Gleasner, C. D., Han, C. S., Misra, M., Reitenga, K. G., Mikhailova, N., Woyke, T., Pitluck, S., Nolan, M., Land, M. L., Saunders, E., Tapia, R., Lapidus, A., Ivanova, N. a Hoff, W. D. 2013. Complete genome sequence of *Halorhodospira halophila* SL1. *Standards in Genomic Sciences*, 8(2), 206-214.
- Chen, W. C., Yuan, F. W., Wang, L. F., Chien, C. C. a Wei, Y. H. 2020. Ectoine production with indigenous *Marinococcus* sp. MAR2 isolated from the marine environment. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 50(1), 74-81.
- Chen, M., Zhang, Y. Q., Krumholz, L. R., Zhao, L. Y., Yan, Z. S., Yang, Y. J., Li, Z. H., Hayat, F., Chen, H. B. a Huang, R. 2022. Black blooms-induced adaptive responses of sulfate reduction bacteria in a shallow freshwater lake. *Environmental Research*, 209, 112732 s.
- Chen, R. W., Li, C., He, Y. Q., Cui, L. Q., Long, L. J. a Tian, X. P. 2020. *Rubrobacter tropicus* sp. nov. and *Rubrobacter marinus* sp. nov., isolated from deep-sea sediment of the South China Sea. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(10), 5576-5585.
- Chen, W. M., Xie, Y. R., Sheu, D. S., Tsai, J. M. a Sheu, S. Y. 2020. *Rhodovarius crocodyli* sp. nov., isolated from a crocodile pond. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(9), 5141-5148.
- Chen, Y. G., Zhang, Y. Q., Huang, K., Tang, S. K., Cao, Y., Shi, J. X., Xiao, H. D., Cui, X. L., Li, W. J. 2009. *Pigmentiphaga litoralis* sp. nov., a facultatively anaerobic bacterium isolated from a tidal flat sediment. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59(3), 521-525.
- Chhetri, G. a Seo, T. 2021. *Pontibacter aquaedesilentis* sp. nov., isolated from Jeongbang Waterfall, Jeju Island. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 71(12), 1-2.

- Chung, W. K. a King, G. M. 2001. Isolation, characterization, and polyaromatic hydrocarbon degradation potential of aerobic bacteria from marine macrofaunal burrow sediments and description of *Lutibacterium anuloderans* gen. nov., sp. nov., and *Cycloclasticus spirillensus* sp. nov. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(12), 5585-5592.
- Imachi, H., Sakai, S., Ohashi, A., Harada, H., Hanada, S., Kamagata, Y. a Sekiguchi, Y. 2007. *Pelotomaculum propionicicum* sp. nov., an anaerobic, mesophilic, obligately syntrophic, propionate-oxidizing bacterium. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 57(7), 1487-1492.
- Jabari, L., Gannoun, H., Cayol, J. L., Hedi, A., Sakamoto, M., Falsen, E., Ohkuma, M., Hamdi, M., Fauque, G., Ollivier, B. a Fardeau, M. L. 2012. *Macelibacteroides fermentans* gen. nov., sp. nov., a member of the family Porphyromonadaceae isolated from an upflow anaerobic filter treating abattoir wastewaters. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 62(10), 2522-2527.
- Jeong, J. H., Kweon, O. J., Kim, H. R., Kim, T. H., Ha, S. M. a Lee, M. K. 2021. A Novel Species of the Genus *Arsenicicoccus* Isolated From Human Blood Using Whole-Genome Sequencing. *Annals of Laboratory Medicine*, 41(3), 323-327.
- Jeong, J. Y., Lee, S. H., Yun, M. R., Oh, S. E., Lee, K. H. a Park, H. D. 2021. 2-Methylisoborneol (2-MIB) Excretion by *Pseudanabaena yagii* under Low Temperature. *Microorganisms*, 9(12), 2486 s.
- Jochum, L. M., Schreiber, L., Marshall, I. P. G., Jørgensen, B. B., Schramm, A. a Kjeldsen, K. U. 2018. Single-Cell Genomics Reveals a Diverse Metabolic Potential of Uncultivated *Desulfatiglans*-Related Deltaproteobacteria Widely Distributed in Marine Sediment. *Frontiers of Microbiology*, 9, 2038 s.
- Jünemann, S., Kleinbölting, N., Jaenicke, S., Henke, C., Hassa, J., Nelkner, J., Stolze, Y., Albaum, S. P., Schlüter, A., Goesmann, A., Sczyrba, A. a Stoye, J. 2017. Bioinformatics for NGS-based metagenomics and the application to biogas research. *Journal of Biotechnology*, 261, 10-23.
- Jung, G. Y., Nam, I. H., Han, Y. S., Ahn, J. S., Rhee, S. K. a Kim, S. J. 2019. *Sphingorhabdus pulchriflava* sp. nov., isolated from a river. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 69(9), 2644-2650.

- Jung, Y. T., Park, S. a Yoon, J. H. 2014. *Thalassomonas fusca* sp. nov., a novel gammaproteobacterium isolated from tidal flat sediment. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 105(1), 81-87.
- Kalyan Chakravarthy, S., Srinivas, T. N. R., Anil Kumar, P., Sasikala, C. a Ramana, C. V. 2007. *Roseospira visakhapatnamensis* sp. nov. and *Roseospira goensis* sp. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 57(11), 2453-2457.
- Kang, I., Lee, K., Yang, S. J., Choi, A., Kang, D., Lee, Y. K. a Cho, J. C. 2012. Genome sequence of "Candidatus Aquiluna" sp. strain IMCC13023, a marine member of the Actinobacteria isolated from an arctic fjord. *Journal of Bacteriology*, 194(13), 3550-3551.
- Kasalický, V., Zeng, Y., Piwosz, K., Šimek, K., Kratochvilová, H. a Koblížek, M. 2017. Aerobic Anoxygenic Photosynthesis Is Commonly Present within the Genus *Limnohabitans*. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(1), 2116-2117.
- Kaur, J., Verma, M. a Lal, R. 2011. *Rhizobium rosettiformans* sp. nov., isolated from a hexachlorocyclohexane dump site, and reclassification of *Blastobacter aggregatus* Hirsch and Muller 1986 as *Rhizobium aggregatum* comb. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 61(5), 1218-1225.
- Kautharapu, K. B. a Jarboe, L. R. 2012. Genome sequence of the psychrophilic deep-sea bacterium *Moritella marina* MP-1 (ATCC 15381). *Journal of Bacteriology*, 194(22), 6296-6297.
- Kerwin, A. H. a Nyholm S. V. 2018. Reproductive System Symbiotic Bacteria Are Conserved between Two Distinct Populations of *Euprymna scolopes* from Oahu, Hawaii. *mSphere*, 3(2), 531-617.
- Khan, S. T. a Hiraishi, A. 2002. *Diaphorobacter nitroreducens* gen nov, sp nov, a poly(3-hydroxybutyrate)-degrading denitrifying bacterium isolated from activated sludge. *Journal of General and Applied Microbiology*, 48(6), 299-308.
- Kim, B. C., Park, J. R., Bae, J. W., Rhee, S. K., Kim, K. H., Oh, J. W. a Park, Y. H. 2006. *Stappia marina* sp. nov., a marine bacterium isolated from the Yellow Sea. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 56(1), 75-79.

- Kim, J. O., Lee, H. J., Han, S. I. a Whang, K. S. 2017. *Marinobacter halotolerans* sp. nov., a halophilic bacterium isolated from a saltern crystallizing pond. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 67(2), 460-465.
- Kim, J., Jung, J., Sung, J. S., Chun, J. a Park, W. 2012. Genome sequence of pectin-degrading *Alishewanella agri*, isolated from landfill soil. *Journal of Bacteriology*, 194(18), 5135-5136.
- Kim, S. C., Chung, S. O. a Lee, H. J. 2021. *Achromobacter aestuarii* sp. nov., Isolated from an Estuary. *Current Microbiology*, 78(1), 411-416.
- Kim, S. H., Shin, Y. K., Sohn, Y. C. a Kwon, H. C. 2012. Two new cholic acid derivatives from the marine ascidian-associated bacterium *Halobacter halocynthiae*. *Molecules*, 17(10), 12357-12364.
- Kim, Y., Kim, B., Kang, K. a Ahn, T. Y. 2016. *Sediminibacterium aquarii* sp. nov., isolated from sediment in a fishbowl. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(11), 4501-4505.
- Kocerba-Soroka, W., Fiałkowska, E., Pajdak-Stós, A., Klimek, B., Kowalska, E., Drzewicki, A., Salvadó, H. a Fyda, J. 2013. The use of rotifers for limiting filamentous bacteria Type 021N, a bacteria causing activated sludge bulking. *Water Science and Technology*, 67(7), 1557-1563.
- Krausz, K. L. a Bose, J. L. 2016. Rapid Isolation of DNA from *Staphylococcus*. *Methods in Molecular Biology*, 1373, 59-62.
- Kumar, R., Mishra, A. a Jha, B. 2019. Bacterial community structure and functional diversity in subsurface seawater from the western coastal ecosystem of the Arabian Sea, India. *Gene*, 701, 55-64.
- Kuzdan, C., Soysal, A., Özdemir, H., Coşkun, Ş., Akman, İ., Bilgen, H., Özek, E. a Bakir, M. 2015. *Rahnella aquatilis* Sepsis in a Premature Newborn. *Case Reports in Pediatrics*, 2015, 860671 s.
- Lauro, F. M., Chastain, R. A., Ferriera, S., Johnson, J., Yayanos, A. A. a Bartlett, D. H. 2013. Draft Genome Sequence of the Deep-Sea Bacterium *Shewanella benthica* Strain KT99. *Genome Announcements*, 1(3), 210-213.

- Lee, I., Jang, G. I., Cho, Y., Yoon, S. J., Pham, H. M., Nguyen, A. V., Lee, Y. M., Park, H., Rhee, T. S., Kim, S. H. a Hwang, C. Y. 2020. *Sandaracinobacter neustonicus* sp. nov., isolated from the sea surface microlayer in the Southwestern Pacific Ocean, and emended description of the genus *Sandaracinobacter*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(8), 4698-4703.
- Lee, L. H., Zainal, N., Azman, A. S., Eng, S. K., Goh, B. H., Yin, W. F., Ab Mutalib, N. S. a Chan, K. G. 2014. Diversity and antimicrobial activities of actinobacteria isolated from tropical mangrove sediments in Malaysia. *The Scientific World Journal*, 2014, 698178 s.
- Li, J., Lu, S., Jin, D., Yang, J., Lai, X. H., Zhang, G., Tian, Z., Zhu, W., Pu, J., Wu, X., Huang, Y., Wang, S. a Xu, J. 2019. *Salinibacterium hongtaonis* sp. nov., isolated from faeces of Tibetan antelope (*Pantholops hodgsonii*) on the Qinghai-Tibet Plateau. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 69(4), 1093-1098.
- Li, Y., Zhu, H., Lai, Q., Lei, X., Zhang, H., Chen, Z., Zheng, W., Tian, Y., Xu, H. a Zheng, T. 2014. *Litoribrevibacter albus* gen. nov. sp. nov., isolated from coastal seawater, Fujian Province, China. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 106(5), 911-918.
- Liang, B., Wang, L. Y., Mbadinga, S. M., Liu, J. F., Yang, S. Z., Gu, J. D. a Mu, B. Z. 2015. Anaerolineaceae and Methanosaeta turned to be the dominant microorganisms in alkanes-dependent methanogenic culture after long-term of incubation. *AMB Express*, 5(1), 117 s.
- Lin, H., Lin, D., Zhang, M., Ye, J., Sun, J. a Tang, K. 2021. *Maribacter hydrothermalis* sp. nov., Isolated from Shallow-Sea Hydrothermal Systems Off Kueishantao Island. *Current Microbiology*, 78(7), 2815-2820.
- Lin, J. H., Zhang, K. C., Tao, W. Y., Wang, D. a Li, S. 2019. *Geobacillus* strains that have potential value in microbial enhanced oil recovery. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(20), 8339-8350.
- Liu, D., Xiong, Q., Zhao, J., Fang, Z. a Zhang, G. 2021. *Pontibacter flavimaris* sp. nov., of the family *Hymenobacteraceae*, isolated from marine sediment. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 71(10), 1-2.

- Liu, L. N., Faulkner, M., Liu, X., Huang, F., Darby, A. C. a Hall, N. 2016. Revised Genome Sequence of the Purple Photosynthetic Bacterium *Blastochloris viridis* [online]. *Genome Announcements*, 4(1), 1520-1615.
- Liu, W. T., Hanada, S., Marsh, T. L., Kamagata, Y. a Nakamura, K. 2002. *Kineosphaera limosa* gen. nov., sp. nov., a novel Gram-positive polyhydroxyalkanoate-accumulating coccus isolated from activated sludge. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 52(5), 1845-1849.
- Llis, J. C., Thomas, M. S., Lawson, P. A., Patel, N. B., Faircloth, W., Hayes, S. E., Linton, E. E., Norden, D. M., Severenchuk, I. S., West, C. H., Brown, J. W., Plante, R. G. a Plante, C. J. 2019. *Kistimonas alittae* sp. nov., a gammaproteobacterium isolated from the marine annelid *Alitta succinea*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 69(1), 235-240.
- Lumian, J. E., Jungblut, A. D., Dillion, M. L., Hawes, I., Doran, P. T., Mackey, T. J., Dick, G. J., Grettenberger, C. L. a Sumner, D. Y. 2021. Metabolic Capacity of the Antarctic Cyanobacterium *Phormidium pseudopriestleyi* That Sustains Oxygenic Photosynthesis in the Presence of Hydrogen Sulfide. *Genes*, 12(3), 426 s.
- Makita, H., Tanaka, E., Mitsunobu, S., Miyazaki, M., Nunoura, T., Uematsu, K., Takaki, Y., Nishi, S., Shimamura, S. a Takai, K. 2017. *Mariprofundus micogutta* sp. nov., a novel iron-oxidizing zetaproteobacterium isolated from a deep-sea hydrothermal field at the Bayonnaise knoll of the Izu-Ogasawara arc, and a description of Mariprofundales ord. nov. and Zetaproteobacteria classis nov. *Archives of Microbiology*, 199(2), 335-346.
- Maldonado, L. A. , Fenical, W., Jensen, P. R., Kauffman, C. A., Mincer, T. J., Ward, A. C., Bull, A. T. a Goodfellow, M. 2005. *Salinispora arenicola* gen. nov., sp. nov. and *Salinispora tropica* sp. nov., obligate marine actinomycetes belonging to the family Micromonosporaceae. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(5), 1759-1766.
- Maltman, C. a Yurkov, V. 2015. The Effect of Tellurite on Highly Resistant Freshwater Aerobic Anoxygenic Phototrophs and Their Strategies for Reduction. *Microorganisms*, 3(4), 826-838.

- Mao, Z., Yu, C. a Xin, L. 2015. Enhancement of phenol biodegradation by *Pseudochrobactrum* sp. through ultraviolet-induced station. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4), 7320-7333.
- Maruyama, T., Park, H. D., Ozawa, K., Tanaka, Y., Sumino, T., Hamana, K., Hiraishi, A. a Kato, K. 2006. *Sphingosinicella microcystinivorans* gen. nov., sp. nov., a microcystin-degrading bacterium. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 56(1), 85-89.
- Melton, E. D., Sorokin, D. Y., Overmars, L., Chertkov, O., Clum, A., Pillay, M., Ivanova, N., Shapiro, N., Kyrpides, N. C., Woyke, T., Lapidus, A. L. a Muyzer, G. 2016. Complete genome sequence of *Desulfurivibrio alkaliphilus* strain AHT2(T), a haloalkaliphilic sulfidogen from Egyptian hypersaline alkaline lakes. *Standards in Genomic Sciences*, 11(1), 67 s.
- Meyer, J. L. a Huber, J. A. 2014. Strain-level genomic variation in natural populations of *Lebetimonas* from an erupting deep-sea volcano. *The ISME Journal*, 8(4), 867-880.
- Mohapatra, B., Saha, A., Chowdhury, A. N., Kar, A., Kazy, S. K. a Sar, P. 2021. Geochemical, metagenomic, and physiological characterization of the multifaceted interaction between microbiome of an arsenic contaminated groundwater and aquifer sediment. *Journal of Hazardous Materials*, 412, 125099 s.
- Mohapatra, M., Behera, P., Kim, J. Y. a Rastogi, G. 2020. Seasonal and spatial dynamics of bacterioplankton communities in a brackish water coastal lagoon. *Science of the Total Environment*, 705, 134729 s.
- Moreira, C., Ramos, V., Azevedo, J. a Vasconcelos, V. 2014. Methods to detect cyanobacteria and their toxins in the environment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(19), 8073–8082.
- Musmann, M., Schulz, H. N., Strotmann, B., Kjaer, T., Nielsen, L. P., Rosselló-Mora, R. A., Amann, R. I. a Jørgensen, B. B. 2003. Phylogeny and distribution of nitrate-storing *Beggiatoa* spp. in coastal marine sediments. *Environmental Microbiology*, 5(6), 523-533.
- Muzzey, D., Evans, E. A. a Lieber, C. 2015. Understanding the Basics of NGS: From Mechanism to Variant Calling. *Current Genetic Medicine Reports*, 3(4), 158–165.

- Nam, Y. D., Chang, H. W., Park, J. R., Kwon, H. Y., Quan, Z. X., Park, Y. H., Lee, J. S., Yoon, J. H. a Bae, J. W. 2007. *Pseudoalteromonas marina* sp. nov., a marine bacterium isolated from tidal flats of the Yellow Sea, and reclassification of *Pseudoalteromonas sagamiensis* as *Algicola sagamiensis* comb. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 57(1), 12-18.
- Oba, P. M., Carroll, M. Q., Alexander, C., Valentine, H., Somrak, A. J., Keating, S. C. J., Sage, A. M. a Swanson, K. S. 2021. Microbiota populations in supragingival plaque, subgingival plaque, and saliva habitats of adult dogs. *Animal Microbiome*, 3(1), 38 s.
- Oberbeckmann, S., Osborn, A. M. a Duhaime, M. B. 2016. Microbes on a Bottle: Substrate, Season and Geography Influence Community Composition of Microbes Colonizing Marine Plastic Debris. *PLOS ONE*, 11(8), 159289 s.
- Pal, D., Bhardwaj, A., Kaur, N., Sudan, S. K., Bisht, B., Kumari, M., Vyas, B., Krishnamurthi, S. a Mayilraj, S. 2018. *Fictibacillus aquaticus* sp. nov., isolated from downstream river water. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 68(1), 160-164.
- Park, S., Akira, Y. a Kogure, K. 2014. The Family *Rhodothermaceae*. *The Prokaryotes*, 4, 849-856.
- Park, S., Park, J. M. a Yoon, J. H. 2019. *Colwellia ponticola* sp. nov., isolated from seawater. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 69(10), 3062-3067.
- Park, S., Won, S. M. a Yoon, J. H. 2020. *Lewinella litorea* sp. nov., isolated from marine sand. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(1), 246-250.
- Pavlovska, M., Prekrasna, I., Dykyi, E., Zotov, A., Dzhalai, A., Frolova, A., Slobodnik, J. a Stoica, E. 2021. Niche partitioning of bacterial communities along the stratified water column in the Black Sea. *Microbiologyopen*, 10(3), 1195 s.
- PRESTON, J., VANZEELAND, A. a PEIFFER, D. A. 2021. Innovation at Illumina: The road to the \$600 human genome. *Nature portfolio*, 2 s.
- Qian, H., Hou, C., Liao, H., Wang, L., Han, S., Peng, S., Chen, W., Huang, Q. a Luo, X. 2020. The species evenness of "prey" bacteria correlated with *Bdellovibrio*-and-like-organisms (BALOs) in the microbial network supports the biomass of BALOs in a paddy soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(12), 195 s.

- Qiu, Y. L., Sekiguchi, Y., Imachi, H., Kamagata, Y., Tseng, I. C., Cheng, S. S., Ohashi, A. a Harada, H. 2003. *Sporotomaculum syntrophicum* sp. nov., a novel anaerobic, syntrophic benzoate-degrading bacterium isolated from methanogenic sludge treating wastewater from terephthalate manufacturing. *Archives of Microbiology*, 179(4), 242-249.
- Qu, J. H. a Yuan, H. L. 2008. *Sediminibacterium salmoneum* gen. nov., sp. nov., a member of the phylum Bacteroidetes isolated from sediment of a eutrophic reservoir. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58(9), 2191-2194.
- Raj, P. S., Chakravarthy, S. K., Ramaprasad, E. V. V., Sasikala, C. a Ramana, C. V. 2012. *Phaeospirillum tilakii* sp. nov., a phototrophic alphaproteobacterium isolated from aquatic sediments. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 62(5), 1069-1074.
- Ramachandran, A. a Walsh, D. A. 2015. Investigation of XoxF methanol dehydrogenases reveals new methylotrophic bacteria in pelagic marine and freshwater ecosystems. *FEMS Microbiology Ecology*, 91(10), 105 s.
- Ren, F., Zhang, L., Song, L., Xu, S., Xi, L., Huang, L., Huang, Y. a Dai, X. 2014. *Fulvimarina manganoxydans* sp. nov., isolated from a deep-sea hydrothermal plume in the south-west Indian Ocean. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(8), 2920-2925.
- Roeder, H. A., Fuller, B. a Scoular, S. 2021. Septic Shock Caused by *Rahnella aquatilis* Bacteremia in an Immunocompetent Adult. *American Journal of Case Reports*, 22, 930888 s.
- Roh, H., Kim, B. S., Lee, M. K., Park, C. I. a Kim, D. H. 2020. Genome-wide comparison of *Carnobacterium maltaromaticum* derived from diseased fish harbouring important virulence-related genes. *Journal of Fish Diseases*, 43(9), 1029-1037.
- Romanenko, L. A., Tanaka, N., Frolova, G. M. a Mikhailov, V. V. 2008. *Pseudochrobactrum glaciei* sp. nov., isolated from sea ice collected from Peter the Great Bay of the Sea of Japan. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58(10), 2454-2458.
- Rosypal, S., Hoďák, K., Martinec, T. a Kocur, M. 1981. *Obecná bakteriologie*. Státní pedagogické nakladatelství, 564-570. Praha.

- Ruuskanen, M. O., St Pierre, K. A., St Louis, V. L., Aris-Brosou, S. a Poulain, A. J. 2018. Physicochemical Drivers of Microbial Community Structure in Sediments of Lake Hazen, Nunavut, Canada. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1138 s.
- Sakdapetsiri, C., Kuntaveesuk, A., Ngaemthao, W., Suriyachadkun, C., Muangchinda, C., Chavanich, S., Viyakarn, V., Chen, B. a Pinyakong, O. 2019. *Paeniglutamicibacter terrestris* sp. nov., isolated from phenanthrene-degrading consortium enriched from Antarctic soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 71(3), 1-2.
- Shin, S. C., Kim, S. J., Ahn Do, H., Lee, J. K., Lee, H., Lee, J., Hong, S. G., Lee, Y. M. a Park, H. 2012. Genome sequence of a *Salinibacterium* sp. isolated from Antarctic soil. *Journal of Bacteriology*, 194(9), 2404 s.
- Shirley, N. R., Wilson, R. J. a Jantz, L. M. 2011. Cadaver use at the University of Tennessee's Anthropological Research Facility. *Clinical Anatomy*, 24(3), 372-380 s.
- Schauer, R., Bienhold, C., Ramette, A. a Harder, J. 2010. Bacterial diversity and biogeography in deep-sea surface sediments of the South Atlantic Ocean. *The ISME Journal*, 4(2), 159-170.
- Singh, K. S., Kirksey, J., Hoff, W. D. a Deole, R. 2014. Draft Genome Sequence of the Extremely Halophilic Phototrophic Purple Sulfur Bacterium *Halorhodospira halochloris*. *Journal of Genomics*, 2, 118-120.
- Singh, N., Mathur, A. S., Gupta, R. P., Barrow, C. J., Tuli, D. K. a Puri, M. 2021. Enzyme systems of thermophilic anaerobic bacteria for lignocellulosic biomass conversion. *International Journal of Biological Macromolecules*, 168, 572–590.
- Singh, P., Kaushik, M. S., Srivastava, M. a Mishra, A. K. 2014. Phylogenetic analysis of heterocystous cyanobacteria (Subsections IV and V) using highly iterated palindromes as molecular markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 20(3), 331-342.
- Slobodkin, A. I., Tourova, T. P., Kostrikina, N. A., Chernyh, N. A., Bonch-Osmolovskaya, E. A., Jeanthon, C. a Jones, B. E. 2003. *Tepidibacter thalassicus* gen. nov., sp. nov., a novel moderately thermophilic, anaerobic, fermentative bacterium from a deep-sea hydrothermal vent. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 53(4), 1131-1134.

- Song, L., Liu, H., Sun, Q., Dong, X. a Zhou, Y. 2021. *Aurantimonas marina* sp. nov., isolated from deep-sea sediment. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 71(8), 1-2.
- Srinivas, A., Kumar, B. V., Sree, B. D., Tushar, L., Sasikala, C. a Ramana, C. V. 2014. *Rhodovulum salis* sp. nov. and *Rhodovulum viride* sp. nov., phototrophic Alphaproteobacteria isolated from marine habitats. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(3), 957-962.
- Srinivas, T. N. R., Anil Kumar, P., Tank, M., Sunil, B., Poorna, M., Zareena, B. a Shivaji, S. 2015. *Aquipuribacter nitratireducens* sp. nov., isolated from a soil sample of a mud volcano. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 65(8), 2391-2396.
- Staley J. T. 1968. *Prosthecomicrobium* and *Ancalomicrobium*: new prosthecate freshwater bacteria. *Journal of Bacteriology*, 95(5), 1921-1942.
- Swain, B., Otta, S., Sahu, K. K., Panda, K. a Rout, S. 2014. Urinary tract infection by *chromobacterium violaceum*. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(8), 1-2.
- Syropoulou, F., Parlapani, F. F., Bosmali, I., Madesis, P. a Boziaris, I. S. 2020. HRM and 16S rRNA gene sequencing reveal the cultivable microbiota of the European sea bass during ice storage. *International Journal of Food Microbiology*, 327, 108658 s.
- Šantić, D., Piwosz, K., Matic, F., Vrdoljak, T. A., Arapov, J., Dean, J. I., Šolić, M., Koblížek, M., Kušpilić, G. a Šestanović, S. 2021. Artificial neural network analysis of microbial diversity in the central and southern Adriatic Sea. *Scientific Reports*, 11(1), 11186 s.
- Takeda, M., Suzuki, I. a Koizumi, J. 2004. *Balneomonas flocculans* gen. nov., sp. nov., a new cellulose-producing member of the alpha-2 subclass of Proteobacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 27(2), 139-145.
- Tarhriz, V., Nematzadeh, G., Zununi Vahed, S., Hejazi, M. A. a Hejazi, M. S. 2012. *Alishewanella tabrizica* sp. nov., isolated from Qurugol Lake. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 62(8), 1986-1991.

- Teramoto, M. a Nishijima, M. 2014. *Temperatibacter marinus* gen. nov., sp. nov., a mesophilic bacterium isolated from surface seawater and description of *Temperatibacteraceae* fam. nov. in the class Alphaproteobacteria. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(9), 3075-3080.
- Thompson, F. L., Hoste, B., Thompson, C. C., Goris, J., Gomez-Gil, B., Huys, L., De Vos, P. a Swings, J. 2002. *Enterovibrio norvegicus* gen. nov., sp. nov., isolated from the gut of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae: a new member of the family *Vibrionaceae*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 52(6), 2015-2022.
- Thomsen, T. R., Blackall, L. L., De Muro, M. A., Nielsen, J. L., Nielsen, P. H. 2006. *Meganema perideroedes* gen. nov., sp. nov., a filamentous alphaproteobacterium from activated sludge. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 56(8), 1865-1868.
- Tian, W., Xiang, X. a Wang, H. 2021. Differential Impacts of Water Table and Temperature on Bacterial Communities in Pore Water From a Subalpine Peatland, Central China. *Frontiers in Microbiology*, 12, 649981 s.
- Tikhonova, E. N., Grouzdev, D. S. a Kravchenko, I. K. 2021. *Xanthobacter oligotrophicus* sp.nov., isolated from paper mill sewage. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 71(8), 1-2.
- Toffin, L., Zink, K., Kato, C., Pignet, P., Bidault, A., Bienvenu, N., Birrien, J. L. a Prieur, D. 2005. *Marinilactibacillus piezotolerans* sp. nov., a novel marine lactic acid bacterium isolated from deep sub-seafloor sediment of the Nankai Trough. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(1), 345-351.
- Tóth, E. M., Kéki, Z., Bohus, V., Borsodi, A. K., Márialigeti, K. a Schumann, P. 2012. *Aquipuribacter hungaricus* gen. nov., sp. nov., an actinobacterium isolated from the ultrapure water system of a power plant. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 62(3), 556-562.
- Tranchida, M. C., Riccillo, P. M., Rodriguero, M. S., García, J. J. a Micieli, M. V. 2012. Isolation and identification of α -proteobacteria from *Culex pipiens* (Diptera Culicidae) larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109(1), 143-147.
- Trojáněk, Z. 2013. *Izolace DNA z rostlinných tkání pro použití v polymerázové řetězové reakci*. MS. Diplomová práce, depon. in Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 84 s. Brno.

- Van Trappen, S., Mergaert, J. a Swings, J. 2004. Loktanella salsilacus gen. nov., sp. nov., Loktanella fryxellensis sp. nov. and Loktanella vestfoldensis sp. nov., new members of the Rhodobacter group, isolated from microbial mats in Antarctic lakes. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 54(4), 1263-1269.
- Větrovský, T., Baldrian, P. a Morais, D. 2018. SEED 2: a user-friendly platform for amplicon high-throughput sequencing data analyses. *Bioinformatics*, 34(13), 2292–2294.
- Vishnuvardhan Reddy, S., Aspana, S., Tushar, D. L., Sasikala, C. a Ramana, C. V. 2013. Spirochaeta sphaeroplastigenens sp. nov., a halo-alkaliphilic, obligately anaerobic spirochaete isolated from soda lake Lonar. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 63(6), 2223-2228.
- Wang, H. L., Zhang, J. a Sun, L. 2018. Fictibacillus iocasae sp. nov., isolated from the deep-sea sediment in Pacmanus, Manus Basin. *Archives of Microbiology*, 200(7), 1123-1128.
- Wang, X., Guo, F., Tian, P., Yu, S., Xue, C. X., Wang, W., Xiao, J. a Niu, W. 2020. *Flammeovirga agarivorans* sp. nov., an agar-digesting marine bacterium isolated from surface seawater. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(12), 6060-6066.
- Waschulin, V., Borsetto, C., James, R., Newsham, K. K., Donadio, S., Corre, C. a Wellington, E. 2022. Biosynthetic potential of uncultured Antarctic soil bacteria revealed through long-read metagenomic sequencing. *The ISME Journal*, 16(1), 101-111.
- Waters, D. L. E. a Shapter, F. M. 2013. The Polymerase Chain Reaction (PCR): General Methods. *Cereal Genomics*, 1099, 65–75.
- Wei, H., Wang, J., Hassan, M., Han, L. a Xie, B. 2017. Anaerobic ammonium oxidation-denitrification synergistic interaction of mature landfill leachate in aged refuse bioreactor: Variations and effects of microbial community structures. *Bioresource Technology*, 243, 1149-1158.
- Xi, L., Song, Y., Han, J. a Qin, X. 2021. Microbiome analysis reveals the significant changes in gut microbiota of diarrheic Baer's Pochards (*Aythya baeri*). *Microbial Pathogenesis*, 157, 105015 s.

- Xie, Q. Y., Bao, X. D., Ma, Q. Y., Kong, F. D., Zhou, M. L., Yan, B. a Zhao, Y. X. 2018. *Verrucosipora rhizosphaerae* sp. nov., isolated from mangrove rhizosphere soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 111(1), 125-133.
- Yamada, T., Hamada, M., Kurobe, M., Narihiro, T., Tsuji, H. a Daimon, H. 2021. Complete Genome Sequence of *Gelria* sp. Strain Kuro-4, a Thermophilic Anaerobe Isolated from a Thermophilic Anaerobic Digestion Reactor Treating Poly(L-Lactic Acid). *Microbiology Resource Announcements*, 10(33), 54421 s.
- Yamamoto, N., Sato, S.I., Saito, K., Hasuo, T., Tadenuma, M., Suzuki, K.I., Tamaoka, J. a Komagata, K. 1988. *Rarobacter faecitabidus* gen. nov., sp. nov., a yeast-lysing coryneform bacterium. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 38, 7-11.
- Yan, J., Wu, Y. H., Meng, F. X., Wang, C. S., Xiong, S. L., Zhang, X. Y., Zhang, Y. Z., Xu, X. W. a Zhang, D. M. 2016. *Pseudoalteromonas gelatinilytica* sp. nov., isolated from surface seawater. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(9), 3538-3545.
- Ye, Q., Liu, J., Du, J. a Zhang, J. 2016. Bacterial Diversity in Submarine Groundwater along the Coasts of the Yellow Sea. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1519 s.
- Yoon, J. H., Kang, S. J., Kim, W. a Oh, T. K. 2007. *Pigmentiphaga daeguensis* sp. nov., isolated from wastewater of a dye works, and emended description of the genus *Pigmentiphaga*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 57(6), 1188-1191.
- Yu, Q., Qi, Y., Zhang, H. a Pu, J. 2020. *Rheinheimera sediminis* sp. nov., a marine bacterium isolated from coastal sediment. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(2), 1282-1287.
- Yu, X., Yu, K., Liao, Z., Chen, B., Deng, C., Yu, J., Yao, Q., Qin, Z. a Liang, J. 2021. Seasonal fluctuations in symbiotic bacteria and their role in environmental adaptation of the scleractinian coral *Acropora pruinosa* in high-latitude coral reef area of the South China Sea. *Science of the Total Environment*, 792, 148438 s.
- Zeng, A., Tan, K., Gong, P., Lei, P., Guo, Z., Wang, S., Gao, S., Zhou, Y., Shu, Y., Zhou, X., Miao, D., Zeng, F. a Liu, H. 2020. Correlation of microbiota in the gut of fish species and water. *3 Biotech*, 10(11), 472 s.

- Zhang, Z., Fan, X., Gao, X. a Zhang, X. H. 2014. *Achromobacter sediminum* sp. nov., isolated from deep seafloor sediment of South Pacific Gyre . *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(7), 2244-2249.
- Zhong, H., Sun, H., Liu, R., Zhan, Y., Huang, X., Ju, F. a Zhang, X. H. 2021. Comparative Genomic Analysis of *Labrenzia aggregata* (Alphaproteobacteria) Strains Isolated From the Mariana Trench: Insights Into the Metabolic Potentials and Biogeochemical Functions. *Frontiers in Microbiology*, 12, 770370 s.
- Zhou, W. a Bian Y. 2018. Thanatomicrobiome composition profiling as a tool for forensic investigation. *Forensic Sciences Research*, 3(2), 105-110.
- Zichová, E. 2021. *Screening mikroorganismů a patogenů na vybraném historickém pohřebišti*. MS. Bakalářská práce. depon. in Západočeská univerzita v Plzni, Fakulta Pedagogická, 27-29. Plzeň.

Internetové zdroje

- [1] <https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing.html>
- [2] <https://www.cosmosid.com/>
- [3] <https://mapy.cz/zakladni?x=15.8824781&y=50.3363469&z=13>
- [4] <https://mapy.cz/zakladni?x=14.2603686&y=50.0760985&z=13&source=muni&id=4246&ds=2>
- [5] <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Shotgun-Sequencing>
- [6] <https://www.differencebetween.com/difference-between-shotgun-sequencing-and-next-generation-sequencing/>
- [7] <https://www.cd-genomics.com/microbioseq/operational-taxonomic-unit-otu-and-otu-clustering.html>
- [8] <https://www.gbif.org/dataset/7585b2f0-0150-4409-985d-7b57832e3dca>
- [9] https://support.illumina.com/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf

SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK, GRAFŮ A DIAGRAMŮ

Obr. 1 Lokalita Semonice [3]	11
Obr. 2 Lokalita Hostivice [4].....	12
Obr. 3 Izolace DNA pomocí magnetických kuliček.....	14
Obr. 4 Analýza metagenomických dat	21
Tab. 1 Separční směs	14
Tab. 2 Sladkovodní bakterie v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích .	28
Tab. 3 Bakterie důlních vod a podzemních vod v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích	30
Tab. 4 Bakterie kontaminovaných vod, odpadních vod, kalu v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích	32
Tab. 5 Sinice v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích	34
Tab. 6 Mořské bakterie v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích	41
Tab. 7 Bakterie slaných vod, slaných jezer, brakických vod v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích	43
Tab. 8 Termofilní a geotermální bakterie v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích.....	46
Tab. 9 Ostatní bakterie nalezené ve vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích	49
Graf 1 Sladkovodní bakterie v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích .	28
Graf 2 Bakterie důlních vod a podzemních vod v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích	30
Graf 3 Bakterie kontaminovaných vod, odpadních vod, kalu v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích	33
Graf 4 Sinice v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích	35
Graf 5 Mořské bakterie v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích	42
Graf 6 Bakterie slaných vod, slaných jezer, brakických vod v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích	44
Graf 7 Termofilní a geotermální bakterie v jednotlivých vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích.....	46
Graf 8 Ostatní bakterie nalezené ve vzorcích a jejich četnost v OTU sekvencích	50

