

**Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta  
Katedra zoologie**

**Charles University in Prague, Faculty of Science  
Department of zoology**

Doktorský studijní program: zoologie  
Ph.D. study program: zoology

Autoreferát disertační práce  
Summary of the Ph.D. Thesis



Ekologie mikrobiálních společenstev v prostředí sulfidických rud  
Ecology of microbial communities in the sulfidic ore environments

**Mgr. Lukáš Falteisek**

Školitel/Supervisor: doc. RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.

Praha, 2016

## Životopis

### Osobní údaje

Místo a datum narození: Praha, 28.10.1983  
e-mail: nealkoholik@seznam.cz  
Adresa: Katedra ekologie  
Přírodovědecká fakulta  
Karlova univerzita v Praze  
Viničná 7, 128 44 Praha 2  
Česká republika

### Vzdělání

2008 – dosud doktorský studijní obor zoologie; Přírodovědecká fakulta UK v Praze; školitel doc. RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.  
2006 – 2008 magisterský studijní obor imunologie; Přírodovědecká fakulta UK v Praze; školitel prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.  
2003 – 2006 bakalářský studijní program biologie; Přírodovědecká fakulta UK v Praze; školitel prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.  
květen 2003 maturita na Osmiletém gymnáziu Buďánka, Praha

### Zaměstnání

2015 - 2016 EPS, s.r.o., Kunovice, Česká republika  
2005 - dosud Přírodovědecká fakulta UK v Praze

### Výzkumné zájmy

- bioindikační potenciál mikrobiálních komunit v podzemních vodách
- role struktury prostředí v biogeochemických procesech
- vliv náhodných procesů na složení a funkci extrémofilních mikrobiálních komunit

## Abstrakt

Tato práce se zaměřuje na diverzitu mikroorganismů prokaryotického typu žijících v prostředí mikrobiální dekompozice i tvorby sulfidických minerálů a zkoumá zde vztah mezi složením mikrobiálních komunit a geochemickými procesy. V prostředí rozsáhlého a částečně vytěženého ložiska sulfidických rud byly poprvé charakterizovány mikrobiální komunity v gossanu a jejich role v rámci ekosystému. Kromě toho byla srovnána mikrobiální společenstva ze stanovišť typických pro tvorbu a přeměny kyselých důlních vod (AMD) a byla nalezena diferenciace nik mezi příbuznými mikroorganismy. Nález neobvykle variabilních mikrobiálních komunit v biostalaktitech rostoucích na vývěrech AMD byl využit pro detekci neutrální variability mikrobiálních společenstev. Bylo zjištěno, že jednoduché mikrobiální komunity nevykazují podobnost podle lokality, ačkoliv podobnost prostředí lokalitám odpovídala, ale převážně náhodně. Tím se jednoduché komunity liší od vysoce diverzifikovaných společenstev z půdy, sedimentů a dalších komplexních substrátů, které vykazují vysokou korelaci bioty s faktory prostředí. Předpokládaná příčina tohoto rozdílu je kompozitní charakter bohatých komunit a potlačení náhodných fluktuací průměrováním velkého počtu fyzicky oddělených mikrokomunit. Tomu nasvědčuje i fakt, že podobnost jednoduchých komunit řízená lokalitou byla posílena umělým spojením několika komunit dohromady. V další části výzkumu byly studovány mikrobiální komunity srážející realgar ( $As_4S_4$ ) v mělkém zvodnělém sedimentu. Bylo zjištěno, že tento sediment obsahuje různé a kontrastující mikrohabitaty, kde v některých případech patrně probíhají protichůdné děje, například autotrofní oxidace a disimilativní redukce arzenu. Tento poznatek vedl k formulaci hypotézy, že biogenní tvorba realgaru je závislá na struktuře prostředí podmiňující existenci mikrohabitátů s vysoce lokalizovanou tvorbou sulfidické síry.

## Cíle práce

- popsat alfa a beta diverzitu prokaryot na různých typech stanovišť koexistujících v rámci opuštěného rudného dolu s vyvinutou supergenní zonalitou
- z informací o složení mikrobiálních komunit a chemismu vod a minerálních fází se pokusit rekonstruovat geochemickou funkci přítomných společenstev mikroorganismů
- analyzovat složení několika skupin mikrobiálních komunit obývajících biostalaktity rostoucí na vývěrech kyselých důlních vod
- pokusit se na tomto modelu o odlišení neutrální variability jednoduchých přirozených mikrobiálních společenstev od jejich odezvy na environmentální proměnné
  
- identifikovat hlavní skupiny mikroorganismů podílející se na redoxních cyklech arzenu a síry v prostředí, kde dochází k biogennímu srážení realgaru ( $As_4S_4$ )
- určit hlavní environmentální faktory ovlivňující složení mikrobiálních společenstev a biogeochemické procesy v tomto prostředí
- blíže charakterizovat složení jednotlivých funkčních skupin pomocí sekvenace genů pro enzymy katalyzující redoxní přeměny As a S

## Shrnutí disertační práce

Rozvoj molekulárně genetické determinace mikroorganismů a environmentální metagenomiky vede k rychlému nárůstu znalostí o přirozených mikrobiálních společenstvech, zároveň pochopitelně vytváří nové a často fundamentální otázky. Mezi ně patří i to, zda je složení mikrobiálních komunit determinováno hlavně prostředím, anebo mají podstatný vliv i další faktory. Postupně se vytváří konsensus, že podstatnou roli hraje i kolonizační historie a náhodné fluktuace četnosti jednotlivých mikroorganismů (Nemergut et al. 2013). V kontextu těchto poznatků je důležitá otázka, do jaké míry složení mikrobiálních komunit koreluje s biogeochemickými procesy, které jsou těmito komunitami katalyzovány. Pro výzkum těchto jevů je vhodné studovat mikrobiální komunity na stanovištích, kde probíhá omezený počet dobře definovaných procesů. Tuto podmínku splňují stanoviště vázaná na produkty zvětrávání sulfidických rudních minerálů.

V průběhu této práce byl navštíven, prohlédnut a do různé míry analyzován velký počet ložisek sulfidických rud. Při srovnání terénních pozorování s dostupnými publikacemi bylo zřejmé, že ačkoliv mikrobiální diverzita extrémně kyselých prostředí byla popsána mnoha autory, dosavadní vzorkování mikroorganismů vázaných na rudní ložiska je selektivně zaměřené na několik málo nápadných typů stanovišť. Nepodařilo se nalézt žádnou práci o systematickém výzkumu gossanu neboli podpovrchové vyloužené části ložiska. U jiných typů stanovišť autoři až na výjimky (např. Rowe et al. 2007) nesrovnávali komunity z většího počtu míst či výskytů. Naopak byla patrná tendence většiny studií zabývat se sice podrobným, ale více či méně faunisticky zaměřeným popisem malého počtu vzorků (např. Kimura et al. 2011). Většina prací automaticky spojovala konkrétní biogeochemické procesy s konkrétními organismy.

V práci Falteisek a Čepička (2012) proto bylo snahou nalézt a mikrobiologicky i geologicky charakterizovat co nejširší spektrum stanovišť spojených s ekosystémem sulfidického ložiska. Vzorky z vyloužené zóny ložiska obsahovaly charakteristická mikrobiální společenstva, jejichž složení odpovídalo výrazně oligotrofnímu charakteru stanovišť a jejichž význam zřejmě spočívá v udržování nízkého obsahu organických látek ve vodě napájející vlastní oxidační zónu. V rámci stanovišť s extrémně kyselým prostředím se podařilo na základě výskytu operačních taxonomických jednotek (OTU) i fylogenetické vzdálenosti komunit jednoznačně odlišit společenstva žijící na místech oxidace pyritu a v odtékajících kyselých vodách. V obou prostředích je zdrojem energie pro mikroorganismy chemolitotrofní oxidace  $Fe^{2+}$ . Známa ekologická valence organismů, které zde byly nalezeny,

takového rozdělení nepředpovídá. Tento výsledek ukazuje, že pro vymezení výskytu bakterie je zásadní především její konkurenceschopnost, která závisí na více faktorech než jen shodě podmínek s jejím růstovým optimem. Výsledek, který pomohl nasměrovat další výzkum, bylo zjištění, že na místech vývěrů kyselých železitých vod (AMD) se mohou nacházet nečekaně variabilní mikrobiální komunity, které se liší i na vzájemně blízkých vývěrech. Některé z těchto komunit překvapivě vůbec neobsahují nebo obsahují pouze v malém množství chemoautotrofní mikroorganismy, bez kterých tu nemůže vznikat nová organická hmota. Je zřejmé, že jde o přechodný stav, příčina jeho vzniku ale nebyla objasněna. Některé z nalezených pravděpodobných heterotrofů předtím nebyli zachyceni na stanovištích přímo ovlivněných AMD.

Zmíněné komunity z vývěrů AMD často obývají biostalaktity, které někdy rostou okolo jediného vývěru ve velkém počtu. Tyto komunity jsou navíc relativně jednoduché, tvořené v typickém případě jedním až dvěma pravděpodobnými chemoautotrofy, kteří v komunitě výrazně převažují, a dalšími mikroorganismy, z nichž je zpravidla též jen několik hojných. Sousedící stalaktity často bývají napájené vodou ze stejného zdroje a pravděpodobně o stejném složení, takže představují mimořádně dobrou ukázkou oddělených, ale přitom skoro identických přirozených stanovišť. Skupiny mikrobiálních komunit ze sousedících stalaktitů byly v další studii využity k řešení otázky, zda je složení jednotlivých společenstev determinováno prostředím nebo je významná i jiná variabilita (Falteisek et al. 2016). Teoretické pozadí tohoto problému vychází ze současného rozštěpeného pohledu na mikrobiální společenstva. Jednak je evidentní, že pomocí analýz fylogenetické disimilarity mikrobiálních komunit je možné přesně seřadit jednotlivá společenstva podle ekologických gradientů (Faith et al. 2009; Kuczinski et al. 2010), ale na druhou stranu často ani komunity z velmi podobných stanovišť nesdílejí téměř žádné mikrobiální genotypy či OTU (Nemergut et al. 2011). S tím zřejmě souvisí i druhý problém, kterým je mimořádně vysoká diverzita prokaryot v různých substrátech, především v nehomogenních materiálech typu půd a sedimentů. Většina současných vysvětlení, proč nedojde ke kompetitivnímu vyloučení části z nich, předpokládá rozdělení těchto společenstev do mnoha jednodušších mikrokomunit (Nemergut et al. 2013). Tím vzniká zajímavá otázka, jak vypadá struktura těchto mikrokomunit. Lze si představit, že mikrokomunity budou podobné zjednodušeným kompozitním komunitám, přítomnost konkrétních OTU i jejich kvantita tedy bude věrně odrážet lokální mikroprostředí. Též je ale možné, že mikrokomunity mají velmi jednoduché a variabilní složení, které vzniká náhodně a charakterem prostředí je jen omežováno. Výsledná složená komunita, kterou pozorujeme při analýze typického makroskopického vzorku, bude

mít náhodnou variabilitu potlačenou díky průměrování mnoha mikrokomunit a její spojitá reakce na změnu podmínek bude vznikat na statistickém základě.

Důlní biostalaktity se mikrokomunitám z nespojitých prostředí podobají svojí relativní homogenitou a jednoduchostí, lze je však analyzovat odděleně (Falteisek et al. 2016). Pyrosekvence ampliconů genu pro 16S rRNA odhalila v některých těsně sousedících stalaktitech společenstva lišící se ve všech hojných OTU a naopak stejné dominantní OTU ve stalaktitech z různých lokalit. Analýza fylogenetické disimilarity ukázala klastrování komunit nečekaně slabě závislé na lokalitách. S jednou výjimkou platí, že podobnost komunit nesouvisela s žádnou testovanou proměnnou. Jednotlivá mikroprostředí nebyla charakterizována kompletně a nelze vyloučit existenci skryté variability, je však velmi málo pravděpodobné, že by neočekávané environmentální rozdíly v rámci řady stalaktitů rostoucích na vývěru z jediné pukliny podmiňovaly výskyt několika zcela odlišných společenstev a současně by se téměř identické komunity vyskytovaly v různých dolech na vývěrech, které se svým chemismem jednoznačně lišily. Nejpravděpodobnější vysvětlení je, že existuje poměrně velká množina mikroorganismů schopných obývat tento typ stanovišť a z těchto organismů se konkrétní komunity sestavují víceméně náhodným výběrem. Při tom nejspíše platí, že možnost koexistence podobných organismů v každé komunitě je omezená, a že přesný charakter prostředí pouze mění pravděpodobnost obsazení určité role konkrétním organismem, ale nedeterminuje složení komunity. Předpokládáme, že při spojitě změně podmínek se nebude spojitě měnit četnost jednotlivých mikroorganismů v komunitě, ale poroste pravděpodobnost, že bude některý z nich nahrazen jiným. Když byly komunity z jednotlivých vývěrů AMD náhodně sloučeny do umělých kompozitních komunit (s vyloučením opakovaného použití téhož stalaktitu), bylo tím výrazně posíleno jejich klastrování podle lokality. Navzdory poměrně malému počtu vzorků je tento výsledek konzistentní s hypotézou, že spojitá reakce mikrobiálních komunit na prostředí je dána průměrováním mnoha mikrokomunit.

Tyto výzkumy mikrobiálních komunit z AMD poskytly základ pro jejich budoucí podrobnější studium a především ukázaly, že je lze využít jako model pro řešení obecnějších otázek mikrobiální ekologie. Především jde o pochopení, jak může být složení mikrobiální komunity a probíhající proces ovlivněn různými faktory prostředí. Je jasné, že nastíněné otázky byly vyřešeny jen částečně a bude nutné spojit analýzy mikrobiálních komunit s podrobnějším studiem prostředí. Jako velká výhoda AMD se jeví především to, že tu jsou dobře definované zdroje pro primární produkci a energetický metabolismus. To umožňuje

snadno a poměrně přesně kvantifikovat vstupy do systému a popisovat biodiverzitu ve vztahu k nim.

Další výzkum se týkal prostředí, kde dochází ke srážení sekundárních sulfidů, v tomto případě sulfidu arzenu. Precipitace realgaru na pohřbené rostlinné hmotě v Mokrsku ve středních Čechách představuje jediný známý případ tvorby makroskopického množství tohoto minerálu mimo hydrotermální prostředí (Drahota et al. 2013). Fyzikálně chemické charakteristiky (pH, redukční potenciál, složení) podzemní vody i pórového roztoku v půdě přitom leží dosti daleko od oblasti stability tohoto minerálu. Jeho tvorba proto byla připsána mikrobiální redukci síranů, což bylo později potvrzeno i srovnáním izotopového složení sulfidické a síranové síry na lokalitě (P. Drahota, osobní sdělení). Analýzy mikrobiálních komunit ze sedimentu obsahujícího realgar a z půdy (resp. regolitu) bez realgaru odhalily v obou případech velmi podobné mikrobiální komunity, svědčící o redoxně i chemicky pestrém prostředí s kontrastujícími aerobními i striktně anaerobními mikrohabitaty. Sekvence funkčních genů potvrdila přítomnost autotrofní oxidace arsenitanu i disimilativní redukce arseničnanu i síranu. Vzhledem k tomu, že vzorky byly odebrány jako typické „kompozitní“ mikrobiální komunity, je obraz nalezené bioty plně konzistentní s existencí lokálních anoxických mikrohabitátů v okolí organických částic, v nichž probíhá intenzivní redukce síranů a tvorba realgaru. Zajímavé je, že mikrobiální komunity v sedimentu s realgarem a v půdě bez něj nevykazovaly významnou fylogenetickou odlišnost, pouze srovnání genů pro reduktázu síranu (*dsrB*) odhalilo signifikantně odlišné složení komunity redukující sírany v obou prostředích. Výsledky nabízejí pouze všeobecnou představu o způsobu biogenní tvorby realgaru a nestačí pro její bezpečné potvrzení (Drahota et al. 2013). Staly se však základem pro další intenzivní výzkum, který již poskytl řadu nepřímých důkazů, že klíčovým prvkem je mikroheterogenita prostředí, bez které by realgar pravděpodobně nevznikal. Důležitý závěr je, že mikroskopická heterogenita stanovišť i mikroorganismů může vést k segregaci některých prvků do pevné fáze a tím k ovlivnění funkce celého makroskopického systému i k environmentálně významným důsledkům. Podobný závěr naznačují i jiné studie zaměřené na srážení sulfidů arzénu, ovšem též pouze s nepřímými důkazy (Langner et al. 2013).

Práce je jako celek ovlivněna především všeobecně rostoucím významem vzhledu, že diverzita biogeochemických pochodů není vysvětlitelná přítomností konkrétních taxonů bakterií a archeí, ale teprve propojením biodiverzity s vlivem struktury prostředí, a to včetně struktury mikroskopické. Struktura prostředí je zároveň tou částí systému, která zodpovídá za to, že procesy nesměřují vždy přímo do termodynamického optima systému, ale někdy vedou k neočekávaným produktům.



## Abstract

This thesis is focused on the diversity of microorganisms of prokaryotic type living in the environments, where microbial sulfidic mineral precipitation or decomposition occur. The relationship between the microbial community composition and geochemical processes was examined. To the best of our knowledge, we were the first to analyze microbial communities from gossan and their significance for the ecosystem of a large sulfidic ore deposit. In addition, we compared the microbial assemblies at multiple habitats associated with generation or transformation of acidic mine drainage (AMD) and described niche partitioning among closely related organisms. The unexpectedly variable communities in stalactites growing on the AMD springs were utilized as a model for assessing neutral variability of the microbial communities. They clustered almost randomly even though the environmental conditions corresponded with the localities. This is an important difference of the simple communities from stalactites and the common highly diversified microbial assemblies. The communities found in sediments, soil, and many other complex substrates usually reveal high correlation with their environment. We propose that neutral fluctuations of the community composition are suppressed by averaging multiple physically separated microcommunities in each highly-diversified microbial community. In agreement with this assumption, the clustering of the stalactite communities by locality was enhanced by pooling few communities from a single site together. The microbial communities precipitating realgar ( $\text{As}_4\text{S}_4$ ) in the shallow saturated sediment were examined in the second part of the study. Various and contrasting microhabitats were revealed in the sediment. It is probable that opposing processes, for example autotrophic arsenite oxidation and dissimilative arsenate reduction, take place in close vicinity. Such a patchy structure of the sediment suggests that the highly localized intensive sulfate reduction is essential for the realgar formation.

## **Aims of the study**

- describe alpha and beta diversity of prokaryotes at various habitats coexisting within an abandoned ore mine with well-developed supergenic zonation
- infer geochemical function of the microbial communities from their species composition and chemical composition of associated water and mineral phases
- analyze the composition of several groups of microbial communities inhabiting biostalactites growing at the acidic mine water seepages
- attempt to distinguish neutral variability of the simple microbial assemblies from their response to environmental traits using the biostalactites as a model
  
- identify main groups of microorganisms involved in redox cycling of sulfur and arsenic in the environment where biogenic precipitation of realgar ( $\text{As}_4\text{S}_4$ ) takes place
- identify main environmental traits influencing the composition of microbial communities and biogeochemical processes at such habitats
- characterize composition of selected functional groups of microorganisms by sequencing the genes for enzymes catalyzing redox transitions of As and S

## Summary of the Ph.D. thesis

The improvement of molecular determination of microorganisms and environmental metagenomics has led to a rapid increase of our knowledge about natural microbial communities. However, it has also generated new questions, often of a fundamental nature. One such question is whether the composition of microbial communities is dictated mainly by the environment or whether other factors play a significant role as well. The increasingly accepted model proposes an important role of colonization history and random fluctuations of abundance of the microorganisms (Nemergut et al. 2013). This model urges the question to which extent the composition of microbial communities correlates with biogeochemical processes catalyzed by them. It seems useful to examine microbial communities from habitats where only few well-defined processes take place for addressing this question. One kind of such habitats are the sites associated with products of sulfidic mineral weathering.

During this research, we visited and examined a large number of sulfidic ore deposits. We took into consideration that most of the previous microbiological sampling efforts were confined to a few conspicuous types of habitats in the sulfidic ore mines even though a plenty of various sites impacted by acidic mine drainage (AMD) were studied by many authors. We found no study on systematic research of the near-surface leached zone of the deposits or gossan. With few exceptions (e.g., Rowe et al. 2007), the authors did not compare communities from more sites with defined similarity or relations to each other. By contrast, there was an obvious inclination to faunistic descriptions of a limited number of samples (e.g., Kimura et al. 2011). Most of the authors stereotypically associated the microbial species with specific geochemical processes.

The aim of our study was to describe microbiologically and geochemically a maximally wide spectrum of habitats associated with sulfidic deposit ecosystem (Falteisek and Čepička 2012). The samples from gossan contained characteristic microbial communities whose composition corresponded to the oligotrophic character of the site. They are probably important for maintaining low organic carbon content in the water flowing into the oxidation zone. At the extremely acidic habitats, we were able to distinguish the microbial communities thriving at sites of the pyrite oxidation from that in the draining water by both operational taxonomic units (OTU) composition and phylogenetic dissimilarity. The oxidation of ferrous iron represents the main energy source in both types of habitats. The observed habitat differentiation cannot be predicted from known ecological valences of the microorganisms. This result shows that the occurrence of a certain bacterium depends on its ability to compete

with other organisms. This ability is a complex trait and cannot be derived from mere comparison of the environment with growth optimum of the bacterium in culture. We also revealed an unexpected variability of microbial communities inhabiting the AMD springs at mine galleries, which can substantially differ even at the adjacent sites. Interestingly, some communities lacked or almost lacked primary producers. This should be a transient stage since the primary producers are essential for building the biomass, but our data did not allow us to explain the observation. Some of the heterotrophs present in the AMD outflows were detected at extremely acidic sites for the first time by this study.

Microbial communities associated with AMD springs regularly inhabit biostalactites that may grow in large number around a single seepage point. These communities are relatively simple, with one or two primary producers, which are usually the most abundant organisms in the stalactite, and a group of other microorganisms, from which only few are abundant in most cases. The adjacent stalactites are frequently supplied by water from the same source and with the same composition. Therefore, they represent an example of physically separated but almost identical natural habitats. We analyzed the groups of microbial communities from neighboring stalactites in a study addressing the question in what manner the simple communities follow the environmental traits (Falteisek et al. 2016). This is important also for understanding more complex microbial assemblies. We are able to classify the microbial communities and arrange them by ecological gradients using phylogenetic dissimilarity analyses (Faith et al. 2009; Kuczinski et al. 2010). However, the origin of microbial diversity is not fully understood. Even the communities from highly similar habitats usually share almost no OTUs (Nemergut et al. 2011). In addition, extremely high diversity of prokaryotes is usually detected in various substrates, mainly in the non-homogenous materials such as soil and sediments. The common explanation why a part of the microbes is not eliminated by competitive exclusion proposes the division of the complex assemblies into multiple microcommunities (Nemergut et al. 2013). It raises an interesting question how the microcommunities are structured. They may be similar to simplified complex communities with species composition fine-tuned to the local microenvironment, but they also may consist of only a small number of randomly selected organisms, and differ from each other. The environment can only delimit the group of organisms that may be included in the community in the latter case. Thus, the stochastic variability in the composed communities that are usually examined by common analyses of macroscopic samples would be suppressed, and the signal of environmental traits amplified by averaging many microcommunities. The fine-

tuned reaction of the composed communities to various environmental variables is generated only statistically in this model. The variability of OTU composition has an identical origin.

The mine stalactites resemble the microcommunities from discontinuous substrates by their relative homogeneity and simplicity, but they can be analyzed separately (Falteisek et al. 2016). Pyrosequencing of the 16S rRNA gene amplicons revealed that the microbial assemblies from adjacent stalactites may differ in all highly abundant genotypes and, conversely, the same dominant OTUs can be found at different sample sites. Analysis of phylogenetic dissimilarity revealed clear clustering of the communities, which was unexpectedly weakly correlated with sample sites. With only one exception, the similarity of the communities was not associated with any tested environmental variable. We were unable to characterize the environmental traits completely, and the existence of unobserved variability cannot be excluded. However, it is hard to imagine that the elusive environmental variability within a group of stalactites growing at single water seepage caused great dissimilarity of the communities, and, concurrently, almost identical communities grew at sites with clearly observed differences. Most probable explanation is that relatively many organisms can live in this type of habitat, but only a small and randomly selected subgroup inhabits each biostalactite. Coexistence of similar organisms in a single community is probably limited. The exact character of the environment influences only the probability that a certain organism will be included in the community but does not determine the composition of the community. We propose that the probability of complete replacement of certain species by another would increase, but the community will not change continuously along the environmental changes. The clustering of the communities by sample sites was substantially enhanced by random pooling of the samples from individual AMD springs (repeated use of individual samples was avoided). Despite a small number of samples, this result is consistent with the hypothesis that the seemingly continuous reaction of complex microbial communities to the environmental traits is generated by averaging multiple microcommunities.

The microbial communities from AMD springs proved to be a potential model for addressing questions of general importance in microbial ecology. Our study will probably serve as a basis for more thorough future research. It will be focused on better understanding the relation of microbial community composition to biogeochemical processes. It is clear that the present study solved the problem only partially, and more thorough characterization of the environment will be required in the future. The well-defined sources fueling the primary production are a great advantage of the AMD-related communities. It enables quantification of the input to the system and description of the biodiversity in relation to the energy flow.

We also focused on the environments where precipitation of secondary sulfides of arsenic takes place in shallow underground. The precipitation of realgar ( $\text{As}_4\text{S}_4$ ) in Mokrsko in central Bohemia represents the only known case of formation of a macroscopic amount of this mineral outside hydrothermal environments (Drahota et al. 2013). Nevertheless, the physico-chemical parameters (pH, ORP, composition) of the groundwater and pore solution in soil are quite distant from the field of stability of realgar. Thus, the mineral formation was assigned to microbial sulfate reduction. This hypothesis was later confirmed by the comparison of sulfate and sulfide sulfur isotopic composition (P. Drahota, personal communication). Analyses of microbial communities from sediment containing realgar and from regolith lacking realgar revealed functionally almost identical microbial communities. They indicated that the environment was significantly heterogeneous in chemical composition and redox state. The environment contained both, aerobic and strictly anaerobic, microhabitats. Sequencing of functional genes revealed occurrence of autotrophic oxidation of arsenite as well as dissimilative reduction of arsenate and sulfate. Such character of macroscopic samples is consistent with the existence of sharply-delimited anoxic microhabitats around organic material particles where intensive sulfate reduction and realgar formation take place. Interestingly, the communities from sediment and regolith were indistinguishable from each other by phylogenetic dissimilarity metrics with the exception of the sulfate reductase gene (*dsrB*). This indicates that sulfate reducing populations of microorganisms differed significantly in both environments. Our results enable to propose only a rough model of realgar precipitation and are not sufficient for testing the hypothesis (Drahota et al. 2013). However, ongoing research based on the results revealed a range of indirect proofs that the environmental microheterogeneity is the essential factor for realgar formation. The main results of the study support the idea that the microheterogeneity of habitats and microorganisms can cause segregation of certain elements to the solid phase and thus can influence functioning of macroscopic system. This led to environmentally important results at the Mokrsko geochemical anomaly. Although the conclusion is consistent with results of other studies on arsenic sulfide bioprecipitation (Langner et al. 2013), only indirect indications were published so far.

This work is influenced mainly by increasing acceptance of the assumption that diversity of geochemical processes cannot be explained merely by the presence of specific bacteria or archaea, and understanding of the biodiversity in context of the structure and even the microstructure of the habitat is necessary. Spatial heterogeneity is an important factor preventing various biogeochemical systems from straight progress towards the seemingly best thermodynamic state and thus amplifying diversity of the processes.

## Curriculum vitae

### Personal data

Place and date of birth: Prague, 28.10.1983  
e-mail: nealkoholik@seznam.cz  
Adress: Department of ecology  
Faculty of Science  
Charles university in Prague  
Viničná 7, 128 44 Praha 2  
Czech republic

### Education

2008 – now Ph.D. study of zoology; Faculty of Science, Charles university in Prague; supervisor doc. RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.  
2006 – 2008 master's degree study of immunology; Faculty of Science, Charles university in Prague; supervisor Prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.  
2003 – 2006 bachelor's degree study of biology; Faculty of Science, Charles university in Prague; supervisor Prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.  
may 2003 graduation at Osmileté gymnázium Buďánka, Prague

### Work experience

2015 - 2016 EPS, s.r.o., Kunovice, Czech Republic  
2005 - now Faculty of Science, Charles university in Prague

### Research interests

- bioindicating potential of microbial communities in underground water
- role of habitat structure in biogeochemical processes
- influence of random processes on composition and function of extremophilic microbial communities

## **Použitá literatura / References**

Faith DP, Lozupone CA, Nipperess D, Knight R (2009) The cladistic basis for the phylogenetic diversity (PD) measure links evolutionary features to environmental gradients and supports broad applications of microbial ecology's "phylogenetic beta diversity" framework. *Int. J. Mol. Sci.* 10, 4723-4741.

Kimura S, Bryan CG, Hallberg KB, Johnson DB (2011). Biodiversity and geochemistry of an extremely acidic, low-temperature subterranean environment sustained by chemolithotrophy. *Environ. Microbiol.* 13, 2092-2104.

Kuczynski J, Liu Z, Lozupone C, McDonald D, Fierer N, Knight R (2010). Microbial community resemblance methods differ in their ability to detect biologically relevant patterns. *Nat. Methods* 7, 813-819.

Langner P, Mikutta C, Suess E, Marcus MA, Kretzschmar R (2013). Spatial distribution and speciation of arsenic in peat studied with microfocused X-ray fluorescence spectrometry and X-ray absorption spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 47, 9706-14.

Nemergut DR, Lozupone C, Jiang L, Schmidt SK, Fierer N, Townsend AR, Cleveland CC, Stanish L, Knight R (2011) Global patterns in the biogeography of bacterial taxa. *Environ. Microbiol.* 13, 135-144.

Nemergut DR, Schmidt SK, Fukami T, O'Neill SP, Bilinski TM, Stanish LF et al. (2013) Patterns and processes of microbial community assembly. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 77, 342-356.

Rowe OF, Sánchez-España J, Hallberg KB, Johnson DB (2007). Microbial communities and geochemical dynamics in an extremely acidic, metal-rich stream at an abandoned sulfide mine (Huelva, Spain) underpinned by two functional primary production systems. *Environ. Microbiol.* 9, 1761-71.



## Seznam publikací / Publications

**Slavík M, Bruthans J, Filippi M, Schweigstillová J, Falteisek L, Řihošek J** (2016). Biocrust on sandstone: mechanical and hydraulic properties and resistance to erosion. Geomorphology, v recenzi / under review.

\***Falteisek L, Duchoslav V, Čepička I** (2016). Substantial variability of multiple microbial communities collected at similar acidic mine water outlets. *Microb. Ecol.*, DOI 10.1007/s00248-016-0760-6.

\***Drahota P, Falteisek L, Redlich A, Rohovec J, Matoušek T, Čepička I** (2013). Microbial effects on the release and attenuation of arsenic in the shallow subsurface of a natural geochemical anomaly. *Environ. Pollut.* 180, 84-91.

**Falteisek L, Janštová V, Černý J** (2013). Simplified technique to evaluate human CCR5 genetic polymorphism. *Am. Biol. Teach.* 75, 704-707.

**Ptáčková E, Kostygov AY, Chistyakova LV, Falteisek L, Frolov AO, Patterson DJ, Walker G, Čepička I** (2013). Evolution of Archamoebae: Morphological and molecular evidence for pelobionts including *Rhizomastix*, *Entamoeba*, *Iodamoeba*, and *Endolimax*. *Protist* 164, 380-410.

\***Falteisek L., Čepička I.** (2012). Microbiology of diverse acidic and non-acidic microhabitats within a sulfidic ore mine. *Extremophiles* 16, 911-922.

**Kačenka M, Kaman O, Kotek J, Falteisek L, Černý J, Jiráček D, Herynek V, Zacharovová K, Berková Z, Jendelová P, Kupčík J, Pollert E, Veverka P, Lukeš I** (2011). Dual imaging probes for magnetic resonance imaging and fluorescence microscopy based on perovskite manganite nanoparticles. *J. Mater. Chem.* 21, 157-164.

**Martínková N, Horáček I, Bačkor P, Bartonička T, Blažková P, Červený J, Falteisek L, Gaisler J, Hanza V, Horáček D, Hubálek Z, Jahelková H et al.** (2010). Increasing incidence of *Geomyces destructans* fungus in bats from the Czech Republic and Slovakia. *PLoS One* 5, e13853.

\* Publikace zahrnuté do disertační práce / Papers included in the Ph.D. thesis

### Vybrané abstrakty z vědeckých konferencí / Selected conference abstracts:

**Falteisek L, Duchoslav V, Čepička I** (2015). Does the beta diversity of microbial communities at acidic mine water outlets follow environmental traits? 6th FEMS microbiology congress 2015, Maastricht, The Netherlands, 7. – 11. 6. 2015.

**Kindlová H, Drahota P, Falteisek L, Fridrichová M, Mihaljevič M** (2015). Arsenic rich mine speleothems, Mikulov, North Bohemia, Czech Republic: mineral phases, water and

microbes. International Society for Environmental Biogeochemistry, 22nd symposium, Piran, Slovenia, 28. 9. – 2. 10. 2015.

**Bruthans J, Soukup J, Schweigstillová J, Vaculiková J, Smutek D, Mayo AL, Falteisek L** (2013). Origin of "rock cities", pillars and cleft-conduits in kaolinite-bonded sandstone: New insight from study in sandstone quarry where landforms recently evolve. 16<sup>th</sup> International congress of speleology, Brno, Czech republic, 21. - 27. 7. 2013. Proceedings vol. 3, 247-252.

**Drahota P, Falteisek L** (2012). Speciation and natural attenuation of arsenic in a shallow subsurface of a natural geochemical anomaly. Vol. 1, EMC2012-191. European Mineralogical Conference, Frankfurt, Germany, 2. - 6. 9. 2012.