

**MIKROBIÁLNÍ PROFILOVÁNÍ SÝRŮ ZRAJÍCÍCH POD MAZEM:
VLIV STARTOVACÍCH KULTUR A PROSTŘEDÍ VÝROBY**

**MICROBIAL PROFILING OF SMEAR-RIPENED CHEESES:
INFLUENCE OF STARTER CULTURES AND PRODUCTION ENVIRONMENT**

**Kristýna Kořená¹ – Anna Klimešová² – Martina Florianová¹ – Miroslava Krzyžanková¹
Daniela Karasová¹ – Vladimír Babák¹ – Helena Juřicová¹**

¹Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Hudcova 296/70, 621 00 Brno

²Přírodovědecká fakulta, Masarykova Univerzita, Kotlářská 267/2, 625 00 Brno

<https://doi.org/10.11118/978-80-7701-048-1-0124>



ABSTRAKT

Sýry zrající pod mazem se vyznačují komplexní mikrobiotou, která hraje klíčovou roli při zrání, rozvoji chuti, struktuře a mikrobiologické bezpečnosti. Přestože se komerční výroba obvykle opírá o definované startovací a přídavné kultury, vlastnosti výrobku významně ovlivňují i mikroorganismy z výrobního prostředí. Tato studie zkoumala mikrobiální složení sýrů zrajících pod mazem šesti komerčních výrobců pomocí kultivačních i kultivačně nezávislých technik, včetně sekvenování genu pro 16S rRNA a sekvenování ITS regionů.

Celkem bylo ve všech analyzovaných vzorcích identifikováno 37 různých bakteriálních druhů. Sekvenování genu pro 16S rRNA a ITS regionů odhalilo 75, respektive 7 odlišných operačních taxonomických jednotek. Složení mikrobioty odráželo podíl mezofilních i termofilních startovacích a přídavných kultur spolu s mikroorganismy pocházejícími z výrobního prostředí. Patřily mezi ně různé psychrotrofní bakterie, mořské, tj. osmotolerantní bakterie, a další halofily z kmenů Proteobacteria (*Psychrobacter*, *Pseudoalteromonas*, *Marinomonas* a *Vibrio*), Firmicutes (*Vagococcus*, *Marinilactibacillus*), Actinobacteriota (*Glutamicibacter*), Bacteroidota (*Winogradskyella*, *Brumimicrobium*), Campylobacterota (*Malaciobacter*) a Fusobacteria (*Psychrilyobacter*) specifické pro prostředí jednotlivých výrobců. Výsledky ukazují, že ačkoli se při komerční výrobě používá pasterované mléko a definované startovací kultury, mikrobiální diverzita je do značné míry ovlivněna specifickou mikrobiotou přítomnou v prostředí sýrárny.

Klíčová slova: sýry zrající pod mazem; mikrobiota sýrů; sekvenování genu pro 16S rRNA, sekvenování ITS regionů

ABSTRACT

Smear-ripened cheeses are distinguished by their complex microbiota, which play pivotal roles in ripening, flavour development, texture, and microbiological safety. Although commercial production typically relies on defined starter and adjunct cultures, microorganisms from the production environment also significantly shape the product's characteristics. This study examined the microbial composition of smear-ripened cheeses

from six commercial manufacturers using culture and culture-independent techniques, including 16S rRNA gene sequencing and sequencing of internal transcribed spacers.

A limited number of microorganisms was recovered, with 37 different species identified across all samples. Sequencing of the 16S rRNA gene and ITS regions revealed 75 and 7 distinct operational taxonomic units, respectively. The microbiota composition reflected the contribution of both mesophilic and thermophilic starter and adjunct cultures, alongside microorganisms originating from the production environment. These included various psychrotrophic bacteria, marine, i.e. osmotolerant bacteria, and other halophiles from Proteobacteria (*Psychrobacter*, *Pseudoalteromonas*, *Marinomonas* and *Vibrio*), Firmicutes (*Vagococcus*, *Marinilactibacillus*), Actinobacteriota (*Glutamicibacter*), Bacteroidota (*Winogradskyella*, *Brumimicrobium*), Campylobacterota (*Malaciobacter*) and Fusobacteria (*Psychrilyobacter*), specific to the environment of particular manufacturers. The results indicate that although pasteurized milk and defined starter cultures are used in commercial production, the microbial diversity is largely influenced by the specific microbiota present in the cheese factory environment.

Keywords: smear-ripened cheese; cheese microbiota; 16S rRNA gene sequencing, ITS sequencing

ÚVOD

Mikroorganismy hrají při výrobě sýrů zrajících pod mazem zásadní roli a významně ovlivňují vývoj jedinečných sensorických parametrů konečného výrobku. Tradiční metody výroby sýrů tohoto typu zahrnují techniku známou jako „old-young smearing“, která spočívá v omytí zrajícího (starého) sýra solným roztokem a následném použití tohoto roztoku k omytí čerstvě vyrobeného (mladého) sýra (Brennan, 2004). V současné době je tento tradiční postup stále více nahrazován používáním specifických mlékařských kultur, které usnadňují standardizovanější výrobní postupy a zlepšují kontrolu kvality sýrů. Definované startovací kultury navíc poskytují ochranu před nežádoucími patogenními bakteriemi.

Startovací kultury (SC), které se přidávají do mléka na začátku výroby, se skládají především z bakterií mléčného kvašení (LAB) a lze je rozdělit do dvou hlavních skupin podle jejich optimální teplotní aktivity: mezofilní kultury, které se častěji používají v sýrech zrajících pod mazem, a termofilní kultury. Toto rozdělení je důležité pro různé druhy sýrů, protože změny teploty ovlivňují chování bakterií, a tím i proces výroby a zrání sýrů. Mezi mezofilní kultury patří např. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, některé druhy *Lactobacillus* a *Leuconostoc mesenteroides*. Naopak mezi termofilní kultury patří *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* a různé poddruhy *Lactobacillus delbrueckii* (Fox, 2004; Brennan, 2004). Tyto bakterie mají zásadní význam pro tvorbu kyselin v počátečních fázích fermentace a vytvářejí kyselé prostředí, které účinně potlačuje mikroflóru, která může způsobovat kažení výrobku, a další technologicky nežádoucí mikroorganismy.

Kromě startovacích kultur mohou LAB při výrobě sýrů fungovat také jako doplňkové (sekundární) kultury. Tyto mikroorganismy se uplatňují na povrchu sýra během procesu zrání a hrají zásadní roli při vytváření

měkké a vlhké kůry charakteristické pro sýry zrající pod mazem (Brennan, 2004). Mezi běžně používané doplňkové bakterie patří *Brevibacterium linens* (nově překlasifikované jako *Brevibacterium aurantiacum*), *Brevibacterium casei*, *Staphylococcus equorum*, *Microbacterium gubbeenense*, *Glutamicibacter* spp. a *Corynebacterium casei* (Brennan, 2004). Tyto bakterie rozkládají bílkoviny a tuky v sýru, což vede k produkci aromatických sloučenin, jako je čpavek a síra, které významně přispívají k výraznému aromatu sýra. Kromě zvýraznění chuti pomáhají tyto bakterie změkčovat jádro sýra a vytvářet krémovou strukturu. Řízená aplikace bakteriálních kultur je rozhodující pro dosažení charakteristického vzhledu, včetně načervenalé nebo oranžové kůry, a pro zajištění bezpečnosti a konzistence sýra během procesu zrání. Vývoj povrchové mikrobioty dále podporují kvasinky, které se na povrch sýra aplikují postřikem. *Debaryomyces hansenii* odkyseluje prostředí sýra a podporuje růst mazových bakterií. K organoleptickým vlastnostem sýra přispívají i další kvasinky, jako jsou *Geotrichum candidum*, *Kluyveromyces marxianus* a *Candida crusei* (Bockelmann, 2005).

Již dříve bylo zjištěno, že kromě startovacích a doplňkových kultur jsou v mikrobiotě sýra přítomny i další mikroorganismy. Ty se vyskytují zejména v povrchovém mazu a pocházejí z prostředí sýrárny, např. solných lázní nebo zracích ploch (Mounier 2005, Korena, 2023). Tato takzvaná „domácí mikrobiota“ může zahrnovat různé halofilní a psychrotolerantní mikroorganismy, jako jsou *Psychrobacter* spp., *Vibrio* spp., *Pseudomonas* spp. a *Vagococcus* spp. Tyto mikroorganismy mohou inhibovat růst záměrně přidaných kultur a mohou také ovlivnit vlastnosti konečného sýrového výrobku.

Sýry zrající pod mazem jsou dobře známé a vyrábějí se převážně v evropských zemích, jako je Rakousko, Belgie, Německo a Francie. Kromě jiných se jedná např. o druhy Münster, Limburger, Tête de Moine, Reblochon, Romadur a Tilsit. V této studii jsme se zaměřili na sýry zrající pod mazem dostupné na českém maloobchodním trhu, přičemž jsme zkoumali výrobky pocházející z České republiky, Německa a Francie. Cílem této studie bylo prozkoumat mikrobiální složení různých sýrů zrajících pod mazem a porovnat zastoupení záměrně přidaných startovacích a přídatných kultur a domnělé domácí mikrobioty.

MATERIÁL A METODIKA

Zpracování vzorků a extrakce DNA

Sýry zrající pod mazem šesti komerčních výrobců z České republiky (CZ), Německa (DE) a Francie (FR) (tab. 1) byly zakoupeny v české maloobchodní síti. Vzorky z jedné výrobní šarže byly analyzovány v jednom až čtyřech opakováních. Celkem 25 g sýra bylo homogenizováno v 225 ml pufovaného fyziologického roztoku (PBS) doplněného 0,2 % (v/w) Tween 80. Následně bylo 10 ml homogenátu centrifugováno (12 000 g po dobu 30 minut při 4 °C) a promyto PBS. Z pelety byla pomocí soupravy DNeasy PowerFood (Qiagen, Německo) izolována DNA. Koncentrace DNA byla stanovena spektrofotometricky a fluorometricky.

Tabulka 1: Přehled analyzovaných vzorků

Sýr	Země původu	Počet vzorků
A	CZ	3
B	CZ	3
C	CZ	4
D	DE	3
E	DE	2
F	FR	1

Složení mikrobioty stanovené sekvenováním genu pro 16S rRNA a sekvenováním ITS oblastí

Pro sekvenování genu 16S rRNA byly vzorky DNA zředěny na 5 ng/ml a použity jako templát v PCR s eubakteriálními primery 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-MID-GT-CCTACGGGGNGGCWGCAG-3' a 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGGTATAAGAGACAG-MID-GT-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3' zaměřené na variabilní oblast V3/V4 genu 16S rRNA. Po amplifikaci byly produkty zpracovány přesně podle předchozího popisu (Karasova et al., 2021). Sekvenování bylo provedeno pomocí sady MiSeq Reagent Kit v3 (600 cyklů) a sekvenační platformy MiSeq podle pokynů výrobce (Illumina, CA, USA). Surová čtení byla zpracována dle Karasova et al. (Karasova et al., 2021). Sekvenování oblasti ITS2a bylo provedeno externě službou Eurofins Genomics Europe Sequencing GmbH (Německo) pomocí platformy Illumina MiSeq. Surová čtení byla zpracována firmou Eurofins Genomics Europe Sequencing GmbH (Německo).

Následné analýzy na úrovni OTU (operační taxonomické jednotky) byly provedeny s OTU, které představovaly více než 0,1 % celkové mikrobioty alespoň v jednom vzorku. Tyto filtrované OTU pokrývaly 99,62–100,00 % celkového počtu bakterií identifikovaných sekvenováním 16S rRNA a 99,95–100,00 % celkového počtu mikrobioty identifikované sekvenováním ITS2a. Složení mikrobioty v replikátech se významně nelišilo ($p > 0,05$; RM PERMANOVA), a tak byla data zprůměrována.

Složení mikrobioty stanovené kultivací

Deset gramů sýra bylo homogenizováno v 90 ml PBS a byly připraveny ředící řady koncentrace. Alikvot 100 µl z každého ředění byl nanesen na PCA agar (plate count agar, Oxoid, UK) doplněný 5 % chloridem sodným a inkubován aerobně. Z příslušného ředění byly vybrány morfologicky odlišné kolonie, které byly identifikovány pomocí hmotnostního spektrometru AutoFlex Speed MALDI-TOF (Bruker, USA). Izoláty představující různé druhy byly archivovány v glycerolových roztocích při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ pro další analýzy.

Sangerovo sekvenování genu pro 16S rRNA

DNA z reprezentativních bakteriálních izolátů získaných ze vzorků sýra byla amplifikována pomocí primerů UNCB1-5'-TGAAGAGTTTGATCATGGCTCAG-3' a UNC2b-5'-AGGAGGTGATCCAGCCGCA-3' a následně bylo provedeno Sangerovo sekvenování celé délky sekvence genu pro 16S rRNA. Výsledné sekvence byly porovnány se záznamy v GenBank pomocí BLAST pro taxonomickou klasifikaci. U izolátů byla provedena shluková analýza pomocí programu Clustal Omega (Madeira et al., 2019). Konečný fylogenetický strom byl sestaven pomocí programu iTOL v7 (Letunic a Bork, 2016).

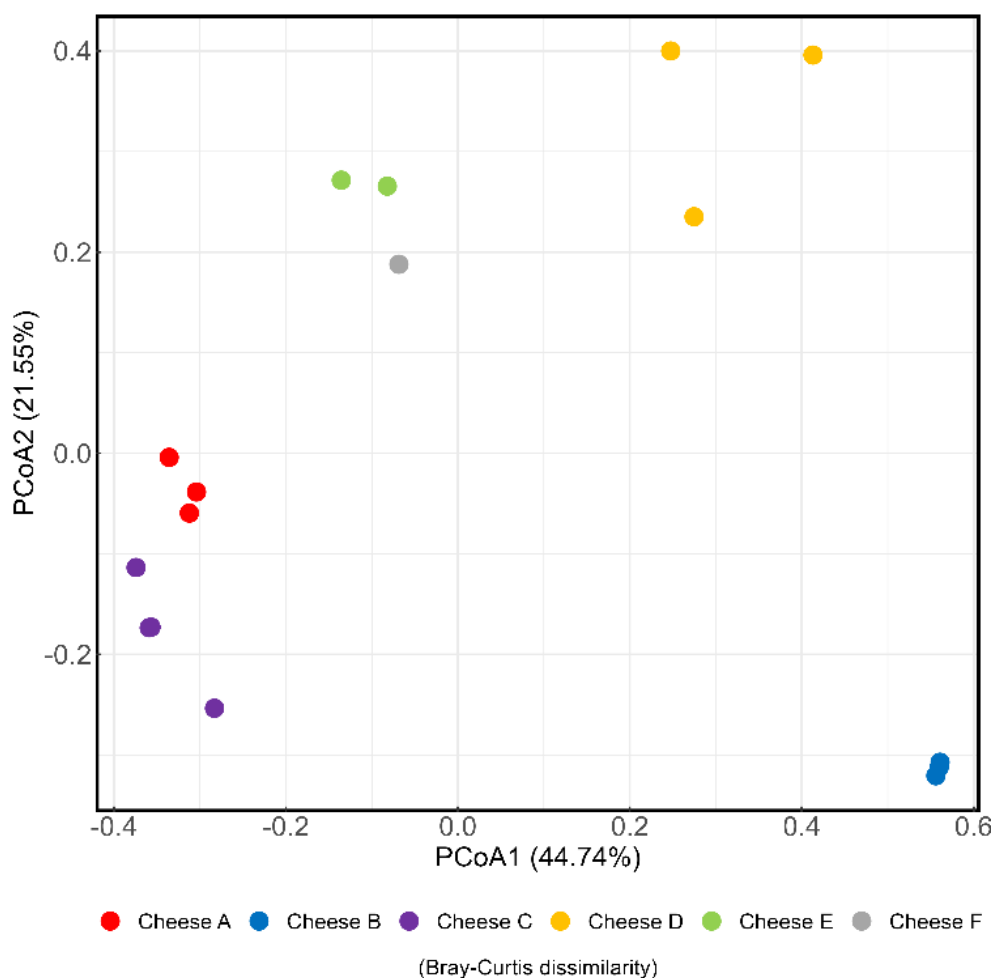
VÝSLEDKY A DISKUZE

Složení mikrobioty sýrů zrajících pod mazem stanovené pomocí sekvenování V3/V4 oblasti genu 16S rRNA

Ve všech vzorcích bylo identifikováno celkem 75 OTU, přičemž nejméně komplexní mikrobiotu vykazoval sýr od výrobce B (11 OTU) a nejvíce komplexní mikrobiotu sýr od výrobce D (40 OTU) (tab. 2). Pouze 2 OTU (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* a *Streptococcus thermophilus*) byly společné pro mikrobiotu sýrů všech šesti výrobců. Nízkou podobnost ve složení mikrobioty potvrdila i PCoA analýza (Principal Coordinate Analysis), která jasně odlišila sýry od různých výrobců (obr. 1).

Tabulka 2: Počet OTU získaných sekvenováním genu pro 16S rRNA a počet odlišných bakteriálních izolátů získaných kultivací ze sýrů zrajících pod mazem.

Sýr	Počet OTU	Počet izolátů
A	32	20
B	11	7
C	23	10
D	40	6
E	23	7
F	19	4



Obrázek 1: Seskupení mikrobiálních společenstev sýrů zrajících pod mazem šesti výrobců na základě PCoA analýzy.

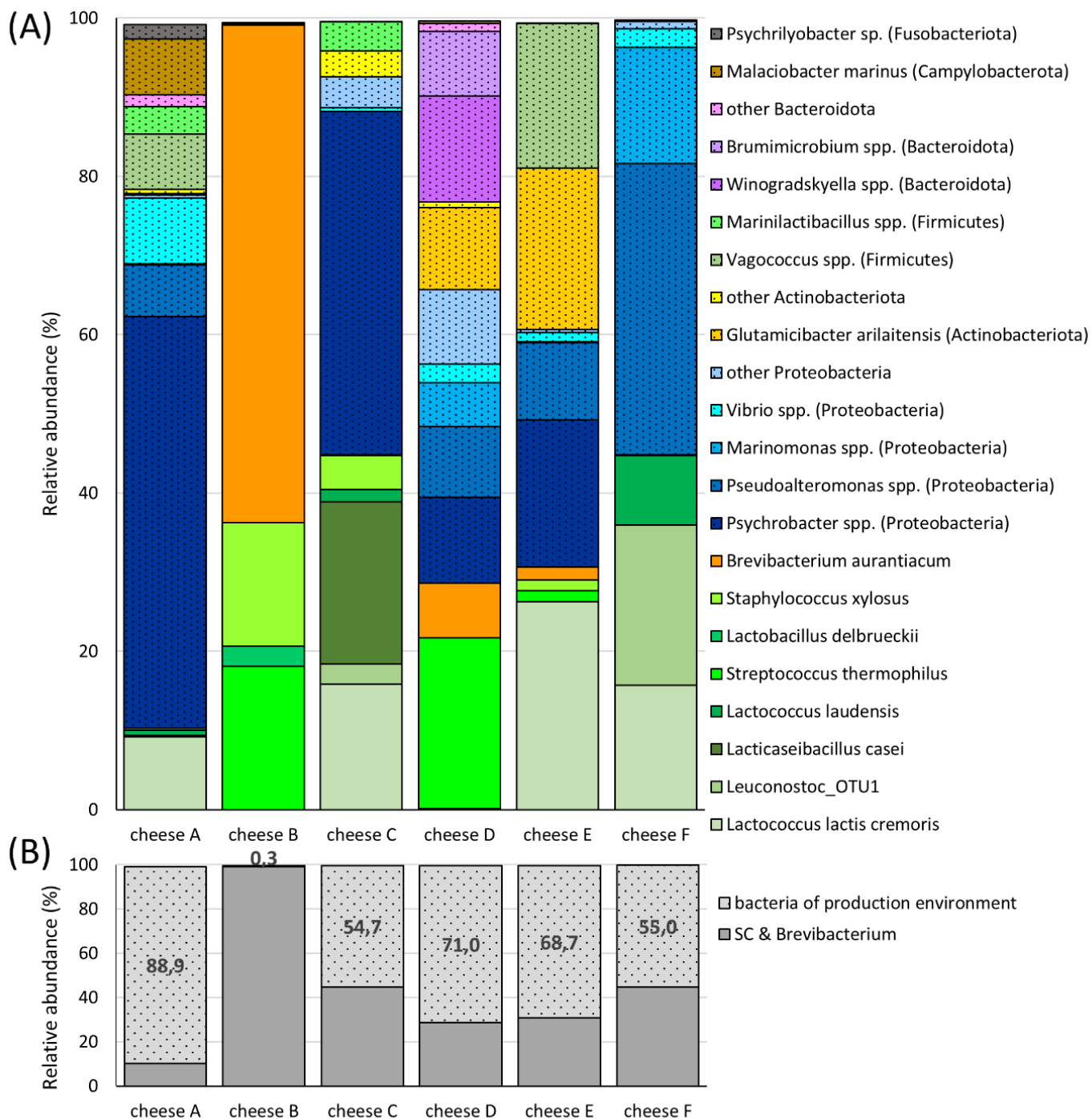
Bakteriální startovací kultury v sýrech zrajících pod mazem

Sekvenační data zaznamenala v analyzovaných sýrech přítomnost mezofilních i termofilních startovacích kultur (obr. 2A). V sýru A byla jako SC zjištěna pouze mezofilní kultura *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, která tvořila 9,2 % celkové mikrobioty. Mikrobiota sýra B obsahovala mezofilní SC v množství pod 0,1 %, zatímco termofilní SC tvořené *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* byly přítomny v 18,1 %, resp. 2,6 %. Termofilní SC byla navíc doplněna o bakterie *Staphylococcus xylosus*, které tvořily 15,6 %. V sýru C převažovala SC složená *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* a *Lactocaseibacillus casei* s relativním zastoupením 15,9 %, resp. 20,5 %. Menší podíl měly bakterie *Lactococcus laudensis* a *Leuconostoc*, které byly zjištěny v množství 1,5 %, resp. 2,5 %. Sýr D obsahoval jako SC výhradně termofilní kmeny *Streptococcus thermophilus*, které představovaly 21,6 % celkové mikrobioty. V sýru E převažoval jako SC *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* tvořící 26,3 %, další bakterie SC, konkrétně *Streptococcus thermophilus* a *Staphylococcus xylosus* byly přítomny v nízkém počtu (1,4 %, resp. 1,3 %). V sýru F byly zjištěny pouze mezofilní SC tvořené *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus laudensis* a *Leuconostoc*, přítomné v relativním množství 15,7 %, 8,8 % a 20,2 %.

Definované kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* nebo *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* jsou obvykle obsaženy v komerčně prodáváných SC určených pro základní mléčné výrobky, včetně tvarohů, čerstvých sýrů, polotvrdých sýrů nebo sýrů zrajících pod mazem. Termofilní startovací kultury, které obvykle obsahují bakterii *Streptococcus thermophilus*, se naopak přednostně používají při výrobě vysokodohříváných sýrů, sýrů typu Pasta Filata, Mozzarella nebo sýrů holandského typu.

Použití startovacích kultur souvisí s mikrobiologickou bezpečností výrobku, kdy použité startovací kultury mohou účinně potlačovat růst a množení patogenních nebo technologicky nežádoucích mikroorganismů. Nepřímo se použití startovacích kultur může projevit na složení a celkové komplexnosti mikrobioty.

Relativní zastoupení povrchové startovací kultury *Brevibacterium auranticum* se mezi sýrovou mikroflórou značně lišilo a pohybovalo se v rozmezí od 0,1 % do 62,8 % u pěti ze šesti výrobců sýrů zrajících pod mazem.



Obrázek 2: **(A)** Bakteriální složení ve vzorcích sýrů zrajících pod mazem. Zástupci bakteriálních kmenů Actinobacteriota (žlutá až oranžová), Proteobacteria (odstíny modré), Firmicutes (odstíny zelené), Bacteroidota (odstíny fialové), Campylobacterota (hnědá) a Fusobacteriota (šedá). **(B)** Relativní zastoupení bakterií startovací kultury a bakterií výrobního prostředí. Plné sloupce, bakterie startovacích kultur; vzorované sloupce, bakterie výrobního prostředí.

Bakterie výrobního prostředí v sýrech zrajících pod mazem

Bakterie, u nichž se předpokládá, že pocházejí z výrobního prostředí, tvořily různý podíl celkové mikrobioty, a to od 0,3 % do 88,9 % (obr. 2B). Tyto bakterie byly zastoupeny šesti kmeny: Actinobacteriota, Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidota, Campylobacterota a Fusobacteriota (obr. 2A).

Mikrobiota sýra A vykazovala nejvyšší podíl mikroorganismů pocházejících z prostředí (88,9 %) ze všech analyzovaných sýrů. Tyto bakterie byly tvořeny převážně proteobakteriemi, z nichž tři rody, *Psychrobacter*, *Pseudoalteromonas* a *Vibrio*, tvořily 52,0 %, 6,5 % a 8,2 % celkové mikrobioty. Kmen Firmicutes byl zastoupen dvěma rody, *Vagococcus* a *Marinilactibacillus*, které tvořily 6,9 %, resp. 3,5 % celkové mikrobioty. Dalšími hojnými taxony byly *Psychroflexus* (Bacteroidota), *Malaciobacter marinus* (Campylobacterota) a *Psychrilyobacter* (Fusobacteriota). Sýr B nevykazoval téměř žádný podíl mikrobioty z výrobního prostředí a byl tvořený výhradně bakteriemi startovací kultury a mazovou bakterií *Brevibacterium auranticum*. V sýru C opět převažovala mikrobiota z výrobního prostředí, a to proteobakterie, zejména *Psychrobacter* (43,4 %), a *Celerinatantimonas* (3,8 %). Z grampozitivních bakterií vykazovaly vyšší relativní četnost *Marinilactibacillus* (Firmicutes) a mazová bakterie *Corynebacterium variabile* (Actinobacteriota), které byly přítomny v abundanci 3,7 %, resp. 3,2 %. V sýru D byly proteobakterie zastoupeny 5 rody s relativně podobným zastoupením, včetně *Psychrobacter*, *Pseudoalteromonas*, *Marinomonas*, *Vibrio* a *Cobetia*. Kmen Firmicutes nebyl zastoupen žádným bakteriálním taxonem. Actinobacteriota byla zastoupena mazovou bakterií *Glutamicibacter arilaitensis*, která tvořila 10,4 % celkové mikrobioty. Jako u jediného sýra byly v mikrobiotě zastoupeny též bakterie z kmene Bacteroidota, konkrétně *Winogradskyella vidalii* a *Brumimicrobium*, které představovaly 11,8 %, resp. 8,1 %. V sýru E byla mikrobiota z výrobního prostředí tvořena proteobakteriemi, přičemž *Psychrobacter* se podílel 18,6 % a *Pseudoalteromonas* 9,8 %. Kmen Firmicutes byl zastoupen různými druhy rodu *Vagococcus* (18,3 %) a kmen Actinobacteriota byl převážně zastoupen mazovou bakterií *Glutamicibacter arilaitensis*, která tvořila 20,3 % celkové mikrobioty. V sýru F byla mikrobiota výrobního prostředí tvořena téměř výhradně proteobakteriemi, z nichž různé druhy *Pseudoalteromonas*, *Marinomonas* a *Vibrio* byly přítomny s četností 36,8 %, 14,7 % a 2,8 %.

Složení mikrobioty stanovené sekvenováním ITS oblastí

Sekvenováním oblasti ITS2 bylo u všech vzorků identifikováno celkem 7 OTU - *Debaryomyces hansenii* zastoupená 3 různými OTU, *Kluyveromyces marxianus*, *Yamadazyma triangularis*, *Pichia kudriavzevii* a *Saccharomyces cerevisiae*. V jednotlivých vzorcích sýrů jasně dominovaly dvě OTU náležející *Debaryomyces hansenii* a *Kluyveromyces marxianus* (obr. 3). Ostatní druhy kvasinek včetně *Yamadazyma triangularis*, *Pichia kudriavzevii* a *Saccharomyces cerevisiae* byly zjištěny v množství nižším než 1 % a byly přítomny pouze v sýrech výrobce A a B. Kvasinka *Debaryomyces hansenii* tvořila 99,63–100 % z celkové populace ve vzorcích pěti ze šesti výrobců. Pouze sýr od výrobce B vykazoval podobné zastoupení obou OTU *Debaryomyces hansenii* a kvasinky *Kluyveromyces marxianus* (obr. 3).



Obrázek 3: Relativní zastoupení druhů kvasinek ve vzorcích sýra zrajícího pod mazem stanovené pomocí sekvenování oblasti ITS2. Převažující druhy představovaly *Debaromyces hansenii* (odstíny žluté) a *Kluyveromyces marxianus* (zelená).

ZÁVĚR

Mikrobiota sýrů zrajících pod mazem pocházejících od šesti komerčních výrobců z České republiky, Německa a Francie vykazovala odlišné složení. Výběr startovacích kultur se u jednotlivých výrobců lišil, což ovlivnilo komplexnost a složení mikrobioty. Stejně tak se u jednotlivých výrobců značně lišila mikrobiota původem z prostředí podniku. Ta může svou roli sehrávat zejména při utváření specifických organoleptických vlastností jednotlivých sýrů.

PODĚKOVÁNÍ

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství ČR, institucionální podpory MZe-RVO0523.

LITERATURA

- Brennan, N. M.; Cogan, T. M.; Loessner, M.; Scherer, S. Bacterial Surface-Ripened Cheeses (2004): In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*; Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P., Eds.; Academic Press. Vol. 2, pp. 199–225 ISBN 1874-558X.
- Bockelmann, W.; Willems, K. P.; Neve, H.; Heller, K. H. (2005): Cultures for the Ripening of Smear Cheeses. *International Dairy Journal*. 15, 719–732, doi:10.1016/j.idairyj.2004.08.022.
- Mounier, J.; Gelsomino, R.; Goerges, S.; Vancanneyt, M.; Vandemeulebroecke, K.; Hoste, B.; Scherer, S.; Swings, J.; Fitzgerald, G. F.; Cogan, T. M. Surface Microflora of Four Smear-Ripened Cheeses (2005): *Applied and Environmental Microbiology*. 71, 6489–6500, doi:10.1128/AEM.71.11.6489-6500.2005.

Korena, K.; Krzyzankova, M.; Florianova, M.; Karasova, D.; Babak, V.; Strakova, N.; Juricova, H. (2023): Microbial Succession in the Cheese Ripening Process-Competition of the Starter Cultures and the Microbiota of the Cheese Plant Environment. *MICROORGANISMS*. 11, doi:10.3390/microorganisms11071735.

Karasova, D.; Crhanova, M.; Babak, V.; Jerabek, M.; Brzobohaty, L.; Matesova, Z.; Rychlik, I. (2021): Development of Piglet Gut Microbiota at the Time of Weaning Influences Development of Postweaning Diarrhea - A Field Study. *RESEARCH IN VETERINARY SCIENCE*. 135, 59–65, doi:10.1016/j.rvsc.2020.12.022.

Madeira, F.; Park, Y.; Lee, J.; Buso, N.; Gur, T.; Madhusoodanan, N.; Basutkar, P.; Tivey, A.; Potter, S.; Finn, R.; et al. (2019): The EMBL-EBI Search and Sequence Analysis Tools APIs in 2019. *NUCLEIC ACIDS RESEARCH*. 47, W636–W641, doi:10.1093/nar/gkz268.

Letunic, I.; Bork, P. (2024): Interactive Tree of Life (ITOL) v6: Recent Updates to the Phylogenetic Tree Display and Annotation Tool. *NUCLEIC ACIDS RESEARCH*. 52, W78–W82, doi:10.1093/nar/gkae268.

Kontaktní adresa: Mgr. Helena Juřicová, Ph.D., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 296/70, 621 00 Brno, e-mail: helena.juricova@vri.cz