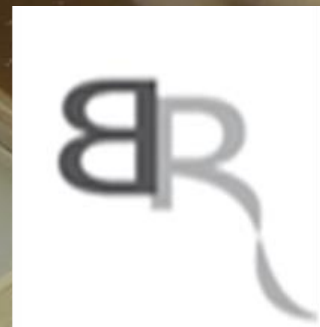


Identyfikacja molekularna bakterii wyodrębnionych z wybranych odpadów organicznych oraz ocena ich aktywności celulolitycznej

Molecular identification of bacteria isolated from organic wastes and the evaluation of their cellulolytic activity

Magdalena Frąc¹, Karolina Oszust¹, Anna Siczek¹, Anna Pawlik², Grzegorz Janusz²

Praca naukowa finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Programu LIDER 2011-2014



¹Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk, Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina
Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej

ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin 27

e-mail: m.frac@ipan.lublin.pl

²Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii

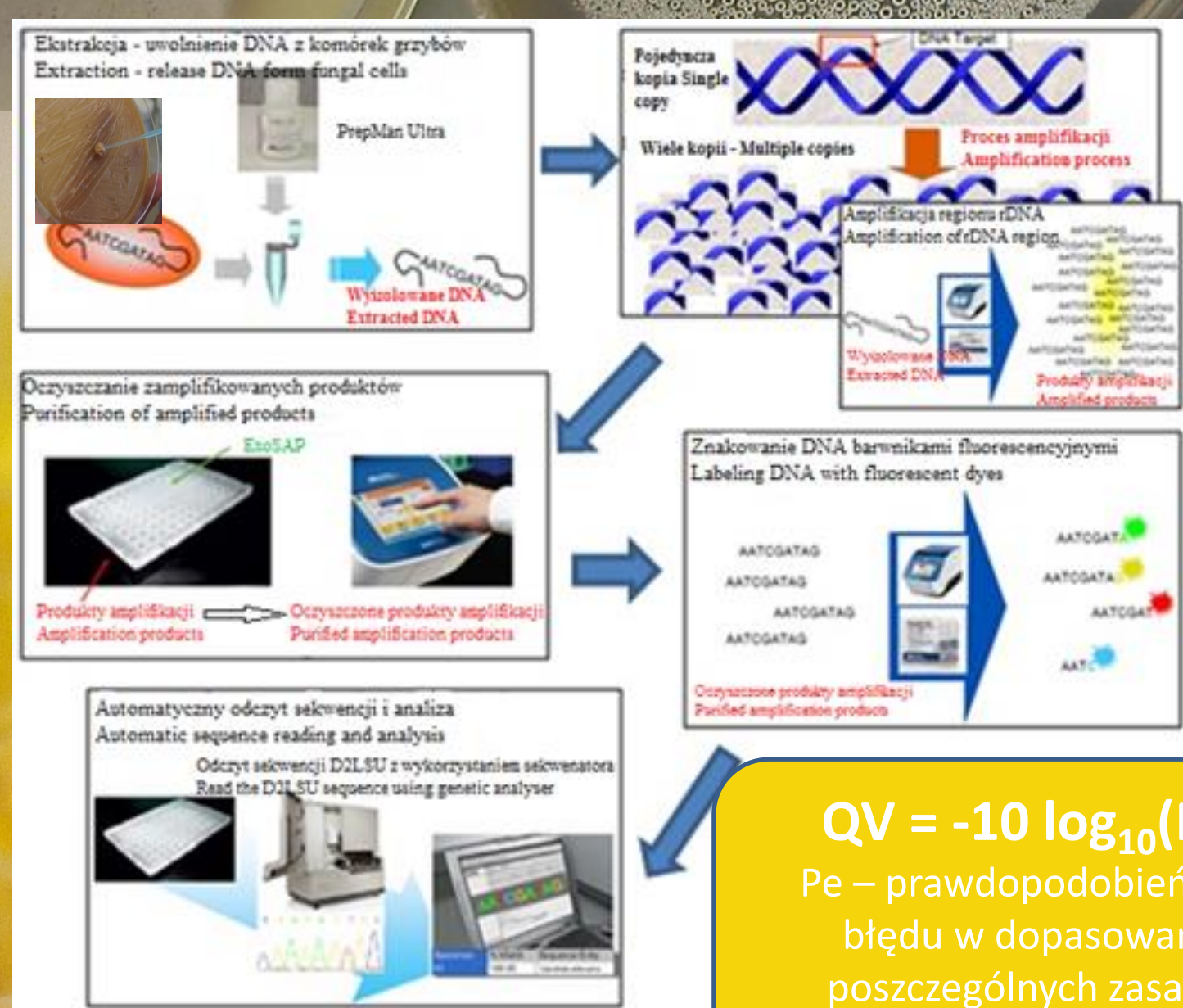
Zakład Biochemii

ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Przewiduje się, iż w Polsce w celu osiągnięcia wymaganych poziomów redukcji składowania odpadów ulegających biodegradacji, znacznie wzrośnie liczba instalacji do mechaniczno-biologicznego ich przetwarzania (MBP), w tym opartych na procesie fermentacji metanowej.

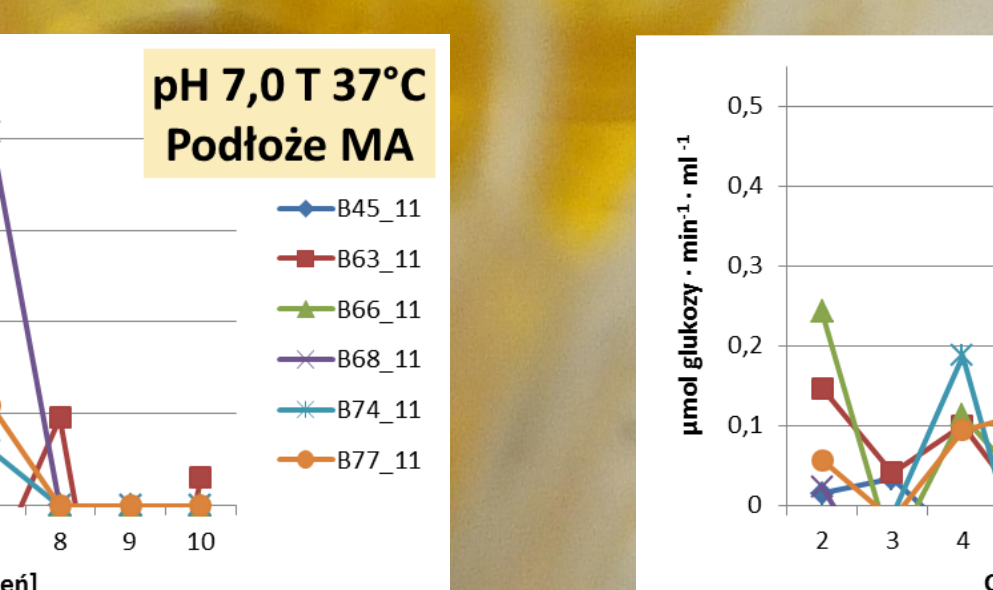
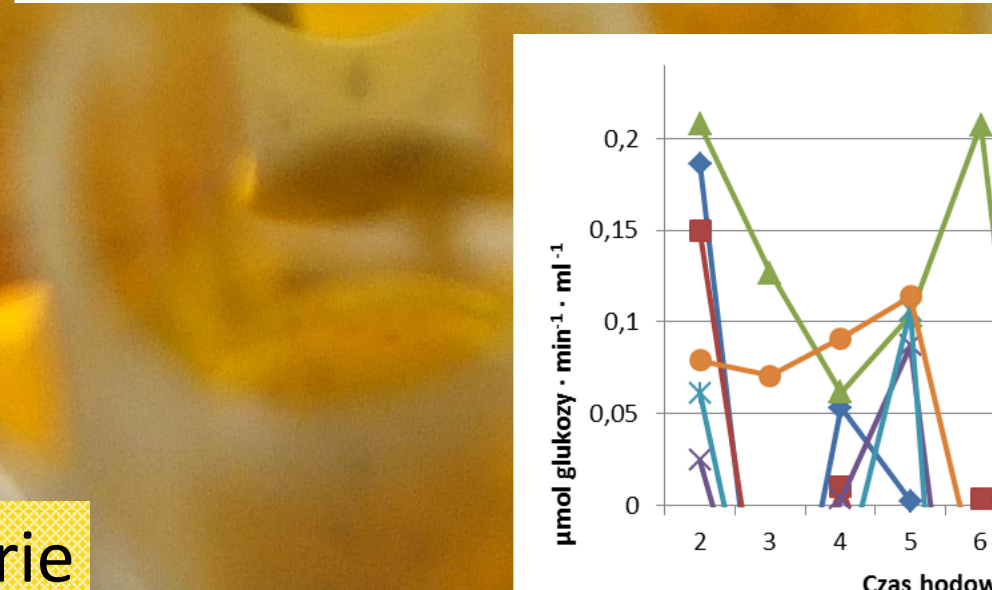
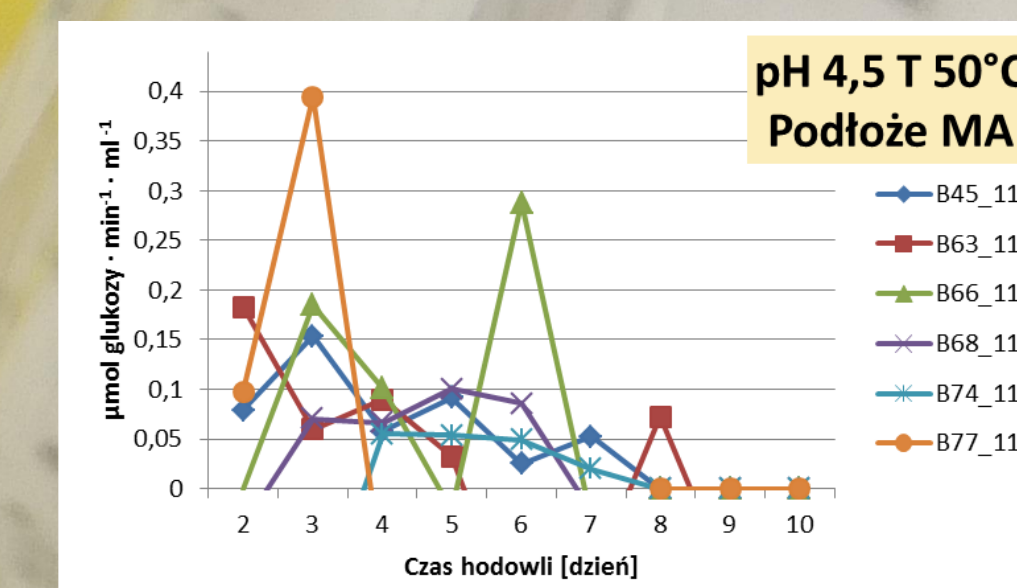
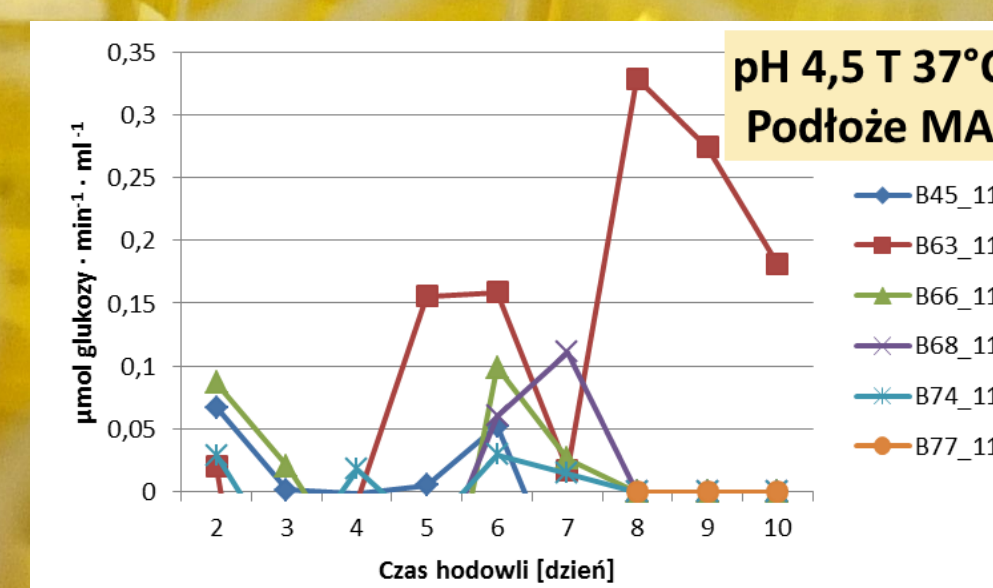
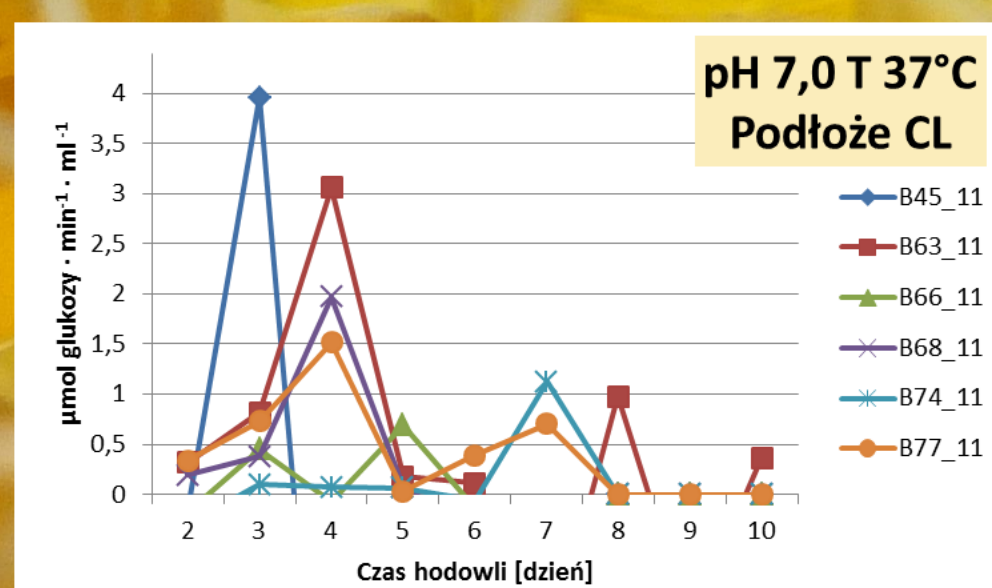
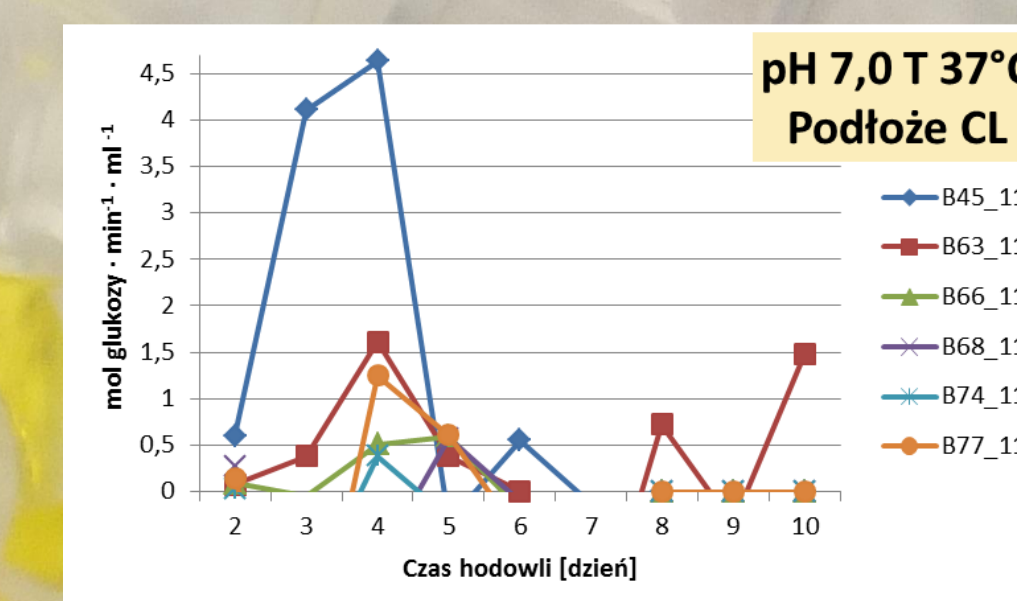
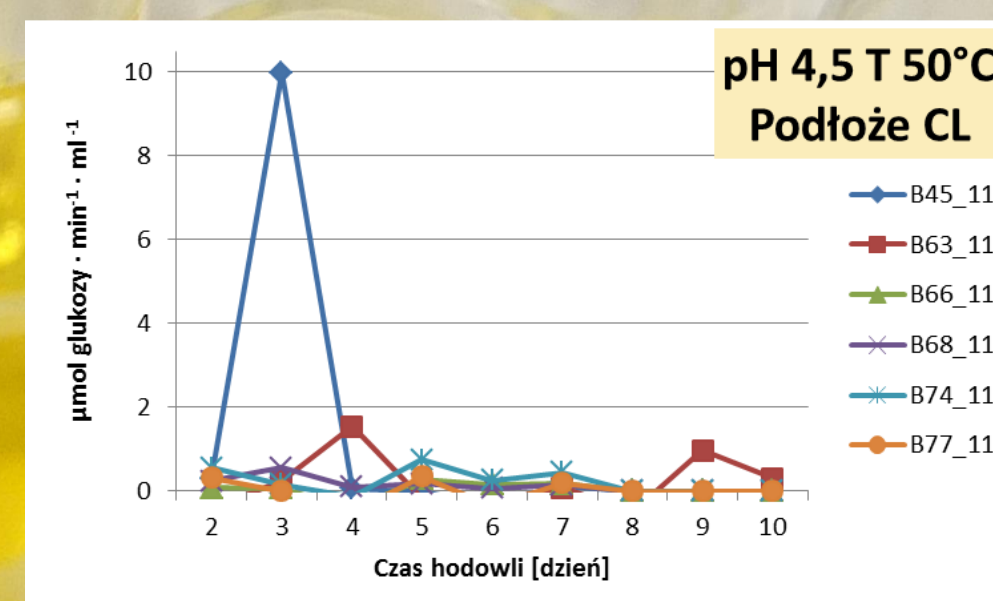
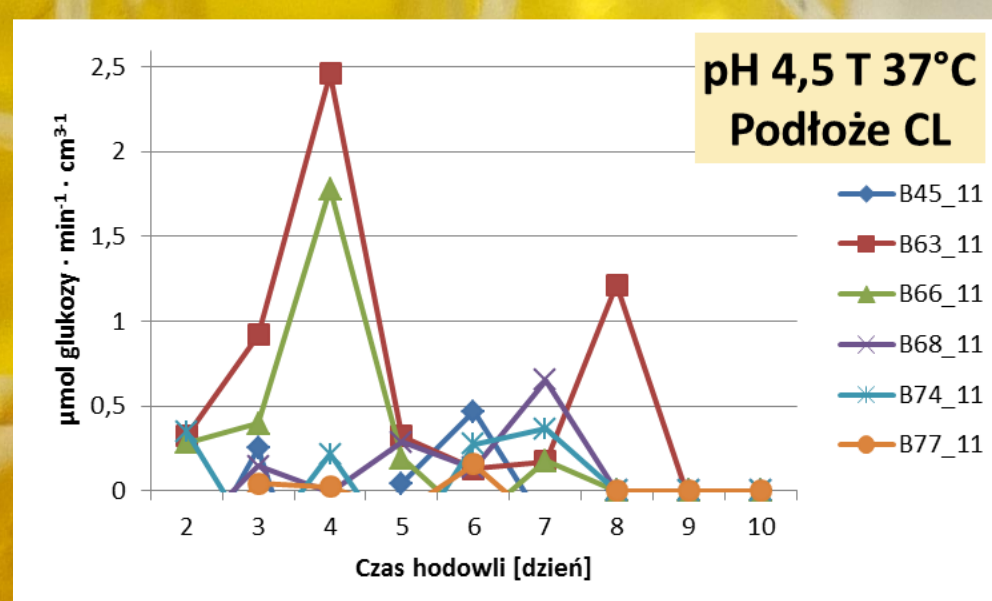
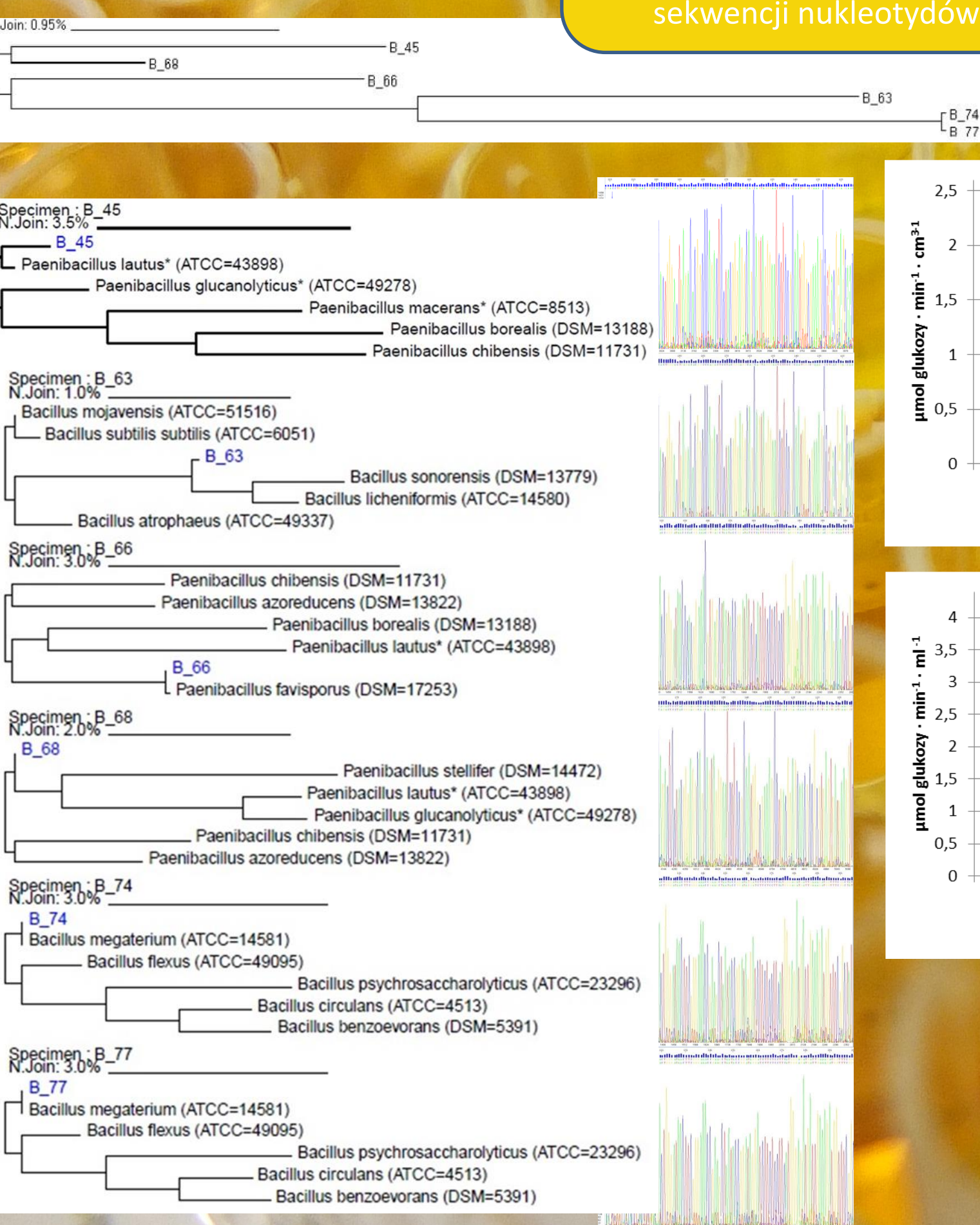
Aby zwiększyć efektywność procesu fermentacji beztlenowej konieczne jest odpowiednie przygotowanie substratów, poprzez ich wstępną obróbkę, której celem jest zwiększenie dostępności składników dla mikroorganizmów przeprowadzających procesy fermentacyjne. Stosowane metody wstępnego przygotowania surowca, obejmują obróbkę: mechaniczną, termiczną, chemiczną i biologiczną. Metody biologiczne mają szereg zalet, związanych z małym zużyciem energii, brakiem reagentów chemicznych i niewielkimi wymaganiami w odniesieniu do warunków procesu. Jednak konieczne jest poszukiwanie szczepów uzdolnionych do degradacji połączeń celulozowych. Dlatego też w ramach przeprowadzonych badań dokonano molekularnej identyfikacji i oceny uzdolnień celulolitycznych środowiskowych szczepów bakterii, wyodrębnionych z odpadów organicznych (odpadów z przetwórstwa owoców, kiszonki kukurydzianej, wywaru zbożowego), stanowiących potencjalne substraty do fermentacji metanowej.

Identyfikację bakterii przeprowadzono na podstawie analizy konserwatywnego genu kodującego małą podjednostkę rybosomalnego RNA – 16S, przy użyciu 4-kapilarnego analizatora genetycznego i programu MicroSEQ. Oznaczenia aktywności celulolitycznej wykonano (metodą FPU) w płynach pochodzących, w odstępach 24-godzinnych, w temperaturach 37 °C i 50 °C, w kombinacjach z dwoma różnymi wartościami pH 4,5 oraz 7.



$QV = -10 \log_{10}(Pe)$
Pe – prawdopodobieństwo błędów w dopasowaniu poszczególnych zasad w sekwencji nukleotydów

| Numer szczepu bakterii | QV | Najbliższa sekwencja | % dopasowania sekwencji | Długość sekwencji konsensusowej | Długość sekwencji w bazie danych |
|------------------------|----|----------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| B_45 OW | 36 | <i>Paenibacillus lautus</i> * (ATCC=43898) | 98,92 | 442 | 499 |
| B_63 KK | 30 | <i>Bacillus sonorensis</i> (DSM=13779) | 98,99 | 382 | 497 |
| B_66 KK | 38 | <i>Paenibacillus favisporus</i> (DSM=17253) | 99,91 | 500 | 499 |
| B_68 WZ | 37 | <i>Paenibacillus azoreducens</i> (DSM=13822) | 97,95 | 367 | 499 |
| B_74 OW | 35 | <i>Bacillus megaterium</i> (ATCC=14581) | 100,00 | 492 | 497 |
| B_77 OW | 35 | <i>Bacillus megaterium</i> (ATCC=14581) | 99,99 | 500 | 497 |



Na podstawie analizy molekularnej bakterie zidentyfikowano jako *P. lautus*, *P. favisporus*, *P. azoreducens*, *B. sonorensis*, *B. megaterium* i *B. megaterium*.

Stwierdzono znaczne różnice w aktywności celulolitycznej badanych szczepów w zależności od warunków oznaczenia oraz zastosowanego podłoża indukcyjnego. Spośród badanych szczepów bakteryjnych *P. lautus* wykazał największe aktywności w możliwie krótkim czasie.