



Analiza metagenomiczna genu 16S rDNA wykorzystująca sekwencjonowanie nowej generacji w ocenie składu konsorcjum bakterii występującej w masie fermentacyjnej

Metagenomic analysis based on 16S rDNA gene using next generation sequencing in the evaluation of the consortium bacteria composition in fermentation mass

MAGDALENA FRAC, AGATA GRUTA, KAROLINA OSZUST, NINA BILIŃSKA-WIELGUS, KRZYSZTOF ZIEMIŃSKI

¹Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk

²Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka

WSTĘP I CEL BADAŃ

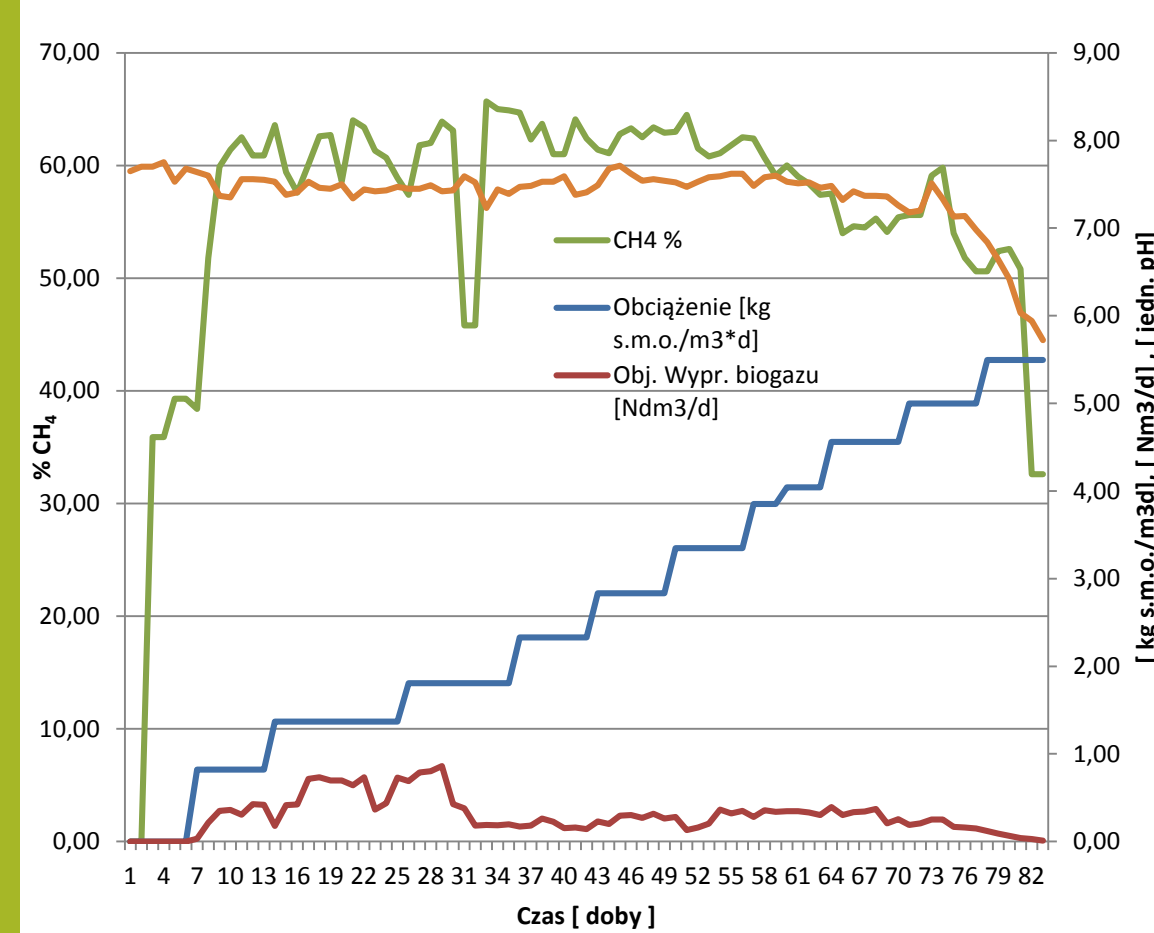
Jednym z elementów wpływających na wydajność biogazu są mikroorganizmy, dlatego badania składu konsorcjum mikroorganizmów w masie poddawanej procesowi beztlenowej degradacji są istotne.

Badania obejmowały określenie wpływu zróżnicowanego czasu retencji (a tym samym różnego obciążenia reaktorów substancją organiczną) na przebieg metanogenezy i skład konsorcjum mikroorganizmów uczestniczących w tym procesie.

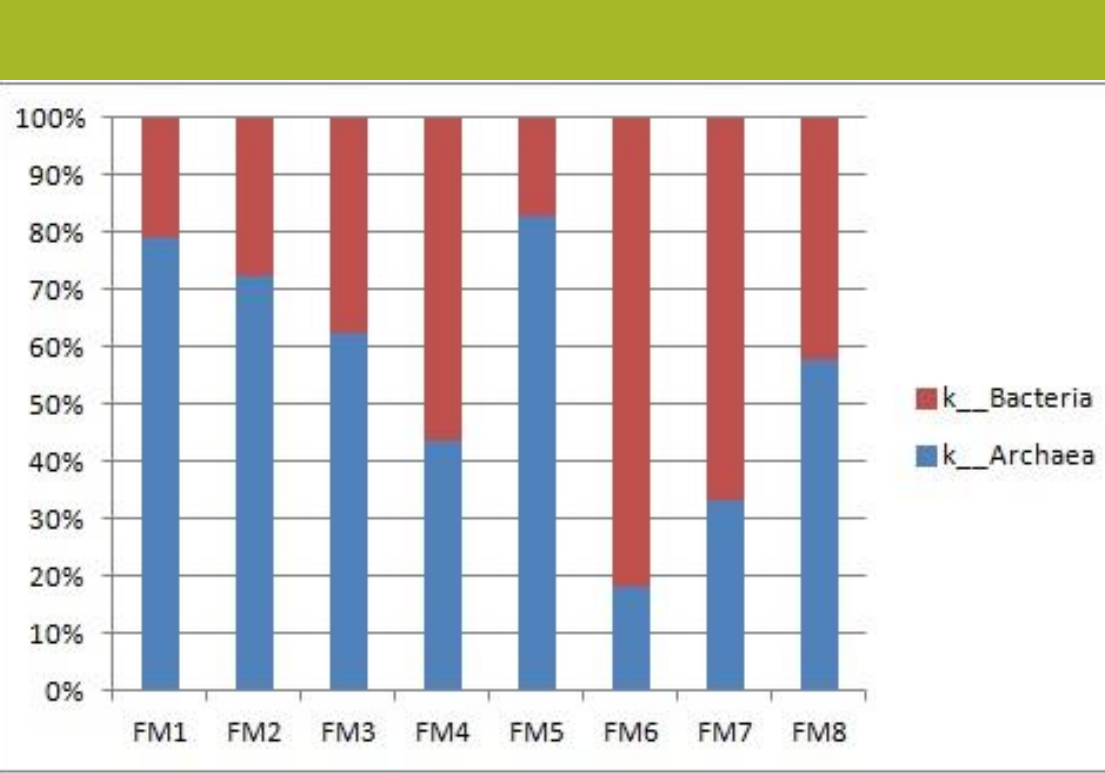
MATERIAŁ I METODY

Fermentację prowadzono w reaktorach o objętości 2 dm³ w temperaturze 37°C. Skład konsorcjum mikroorganizmów określono z wykorzystaniem sekwencjonowania nowej generacji (MiSeq, Illumina) na podstawie genu 16S rDNA. W poszczególnych fazach prowadzenia procesu zidentyfikowano bakterie z rodzajów: *Methanosaeta*, *Methanosarcina*, *Methanosphaera*, *Methanobacterium* oraz *Syntrophomonas* i grupę pozostałych mikroorganizmów (ok. 1%).

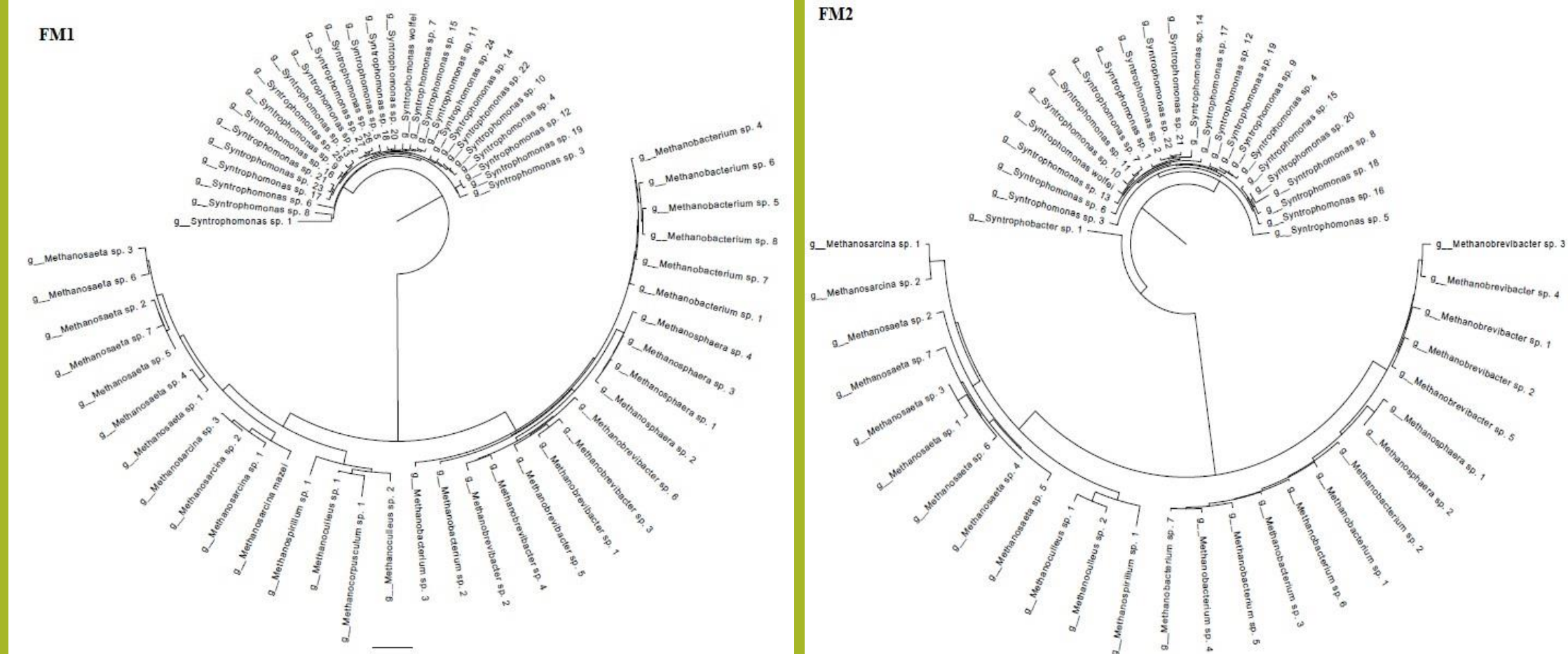
Rys. 1. Wpływ obciążenia fermentora na wydajność i skład biogazu podczas fermentacji ciągłej



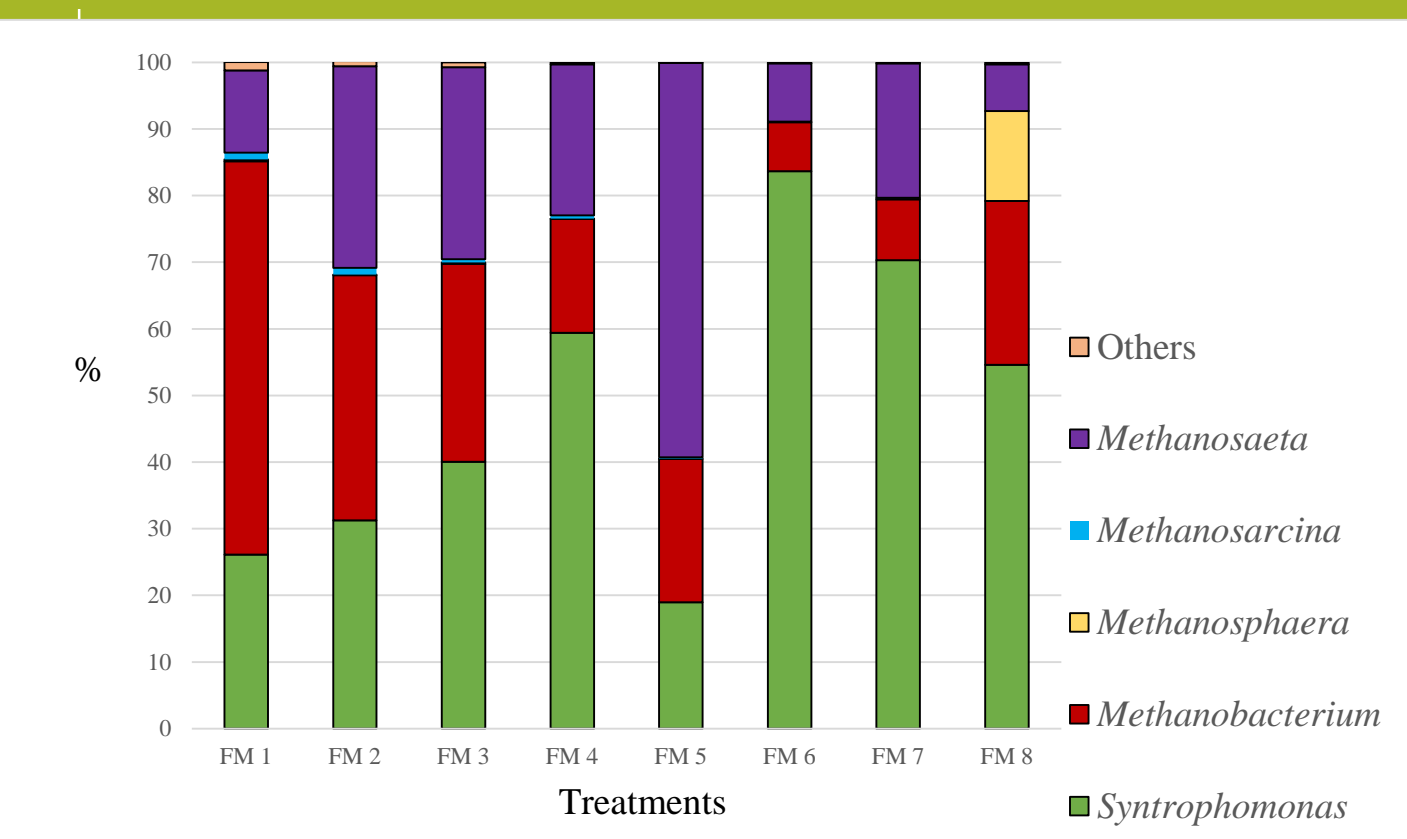
Rys. 2. Występowanie bakterii i Archaea w masie fermentacyjnej na podstawie SNG



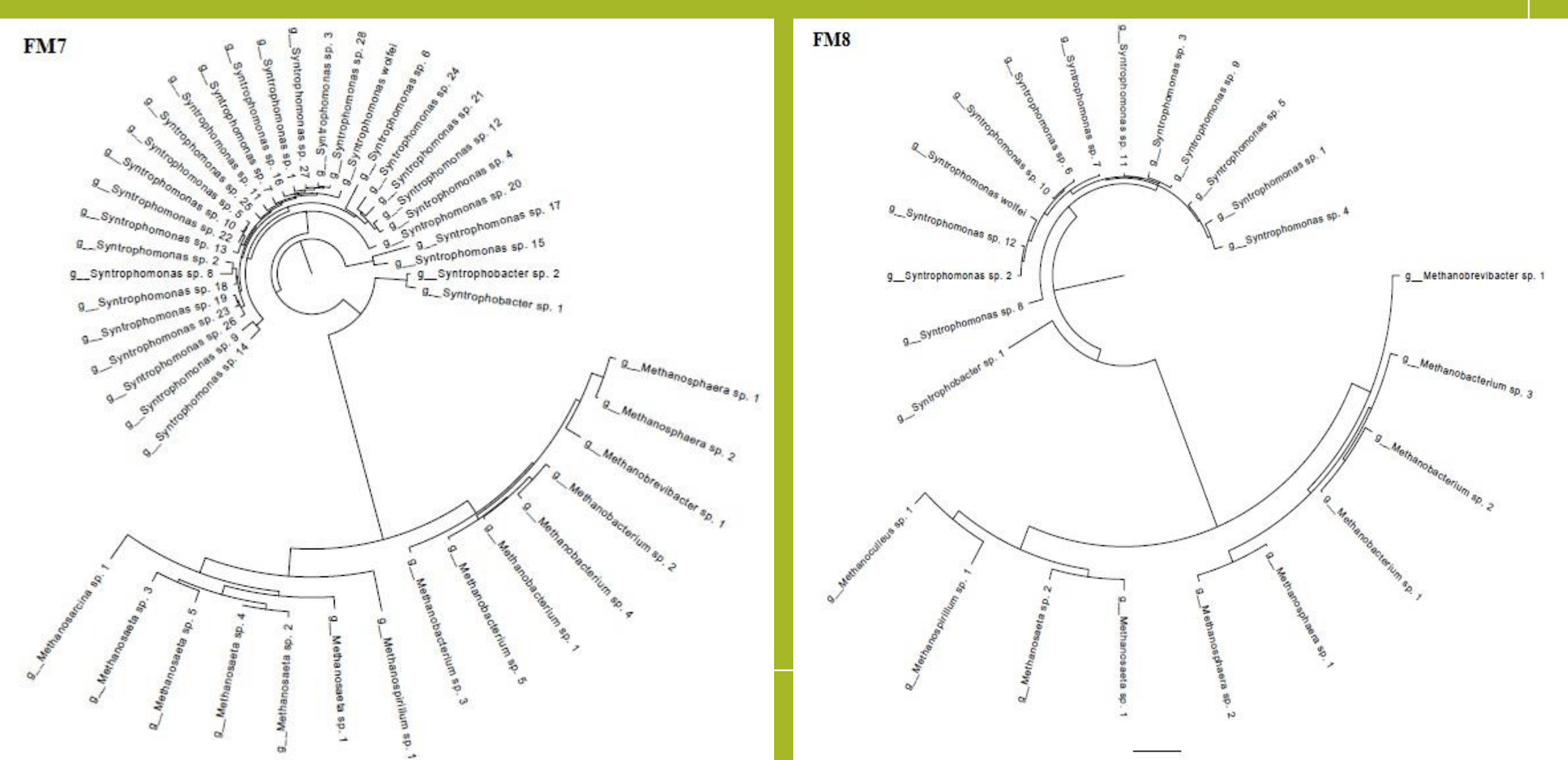
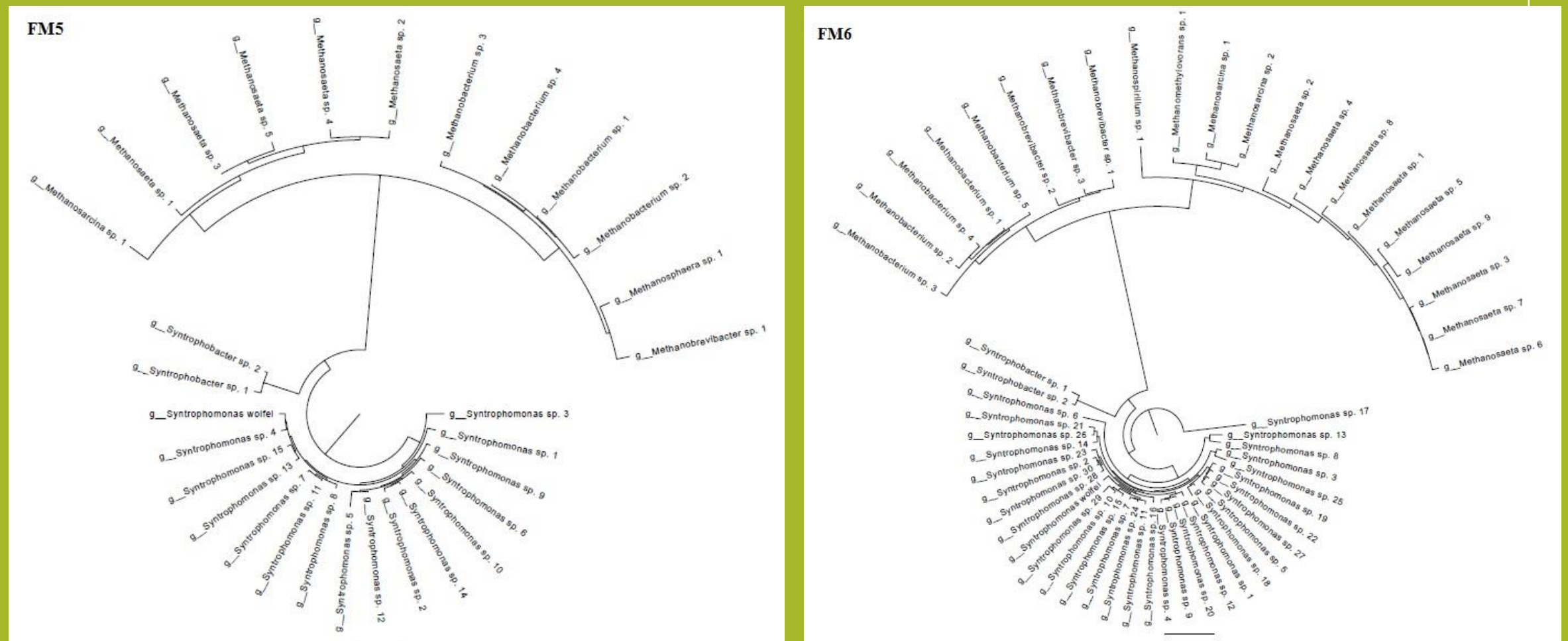
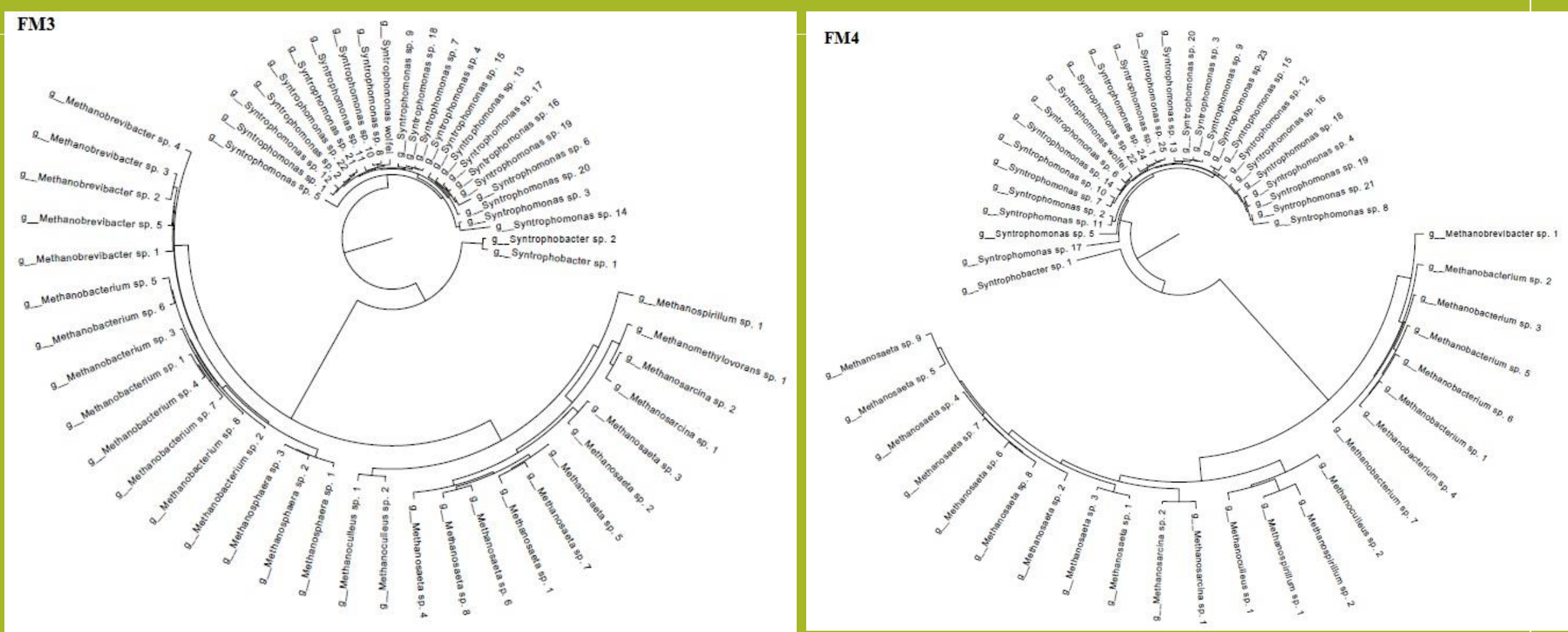
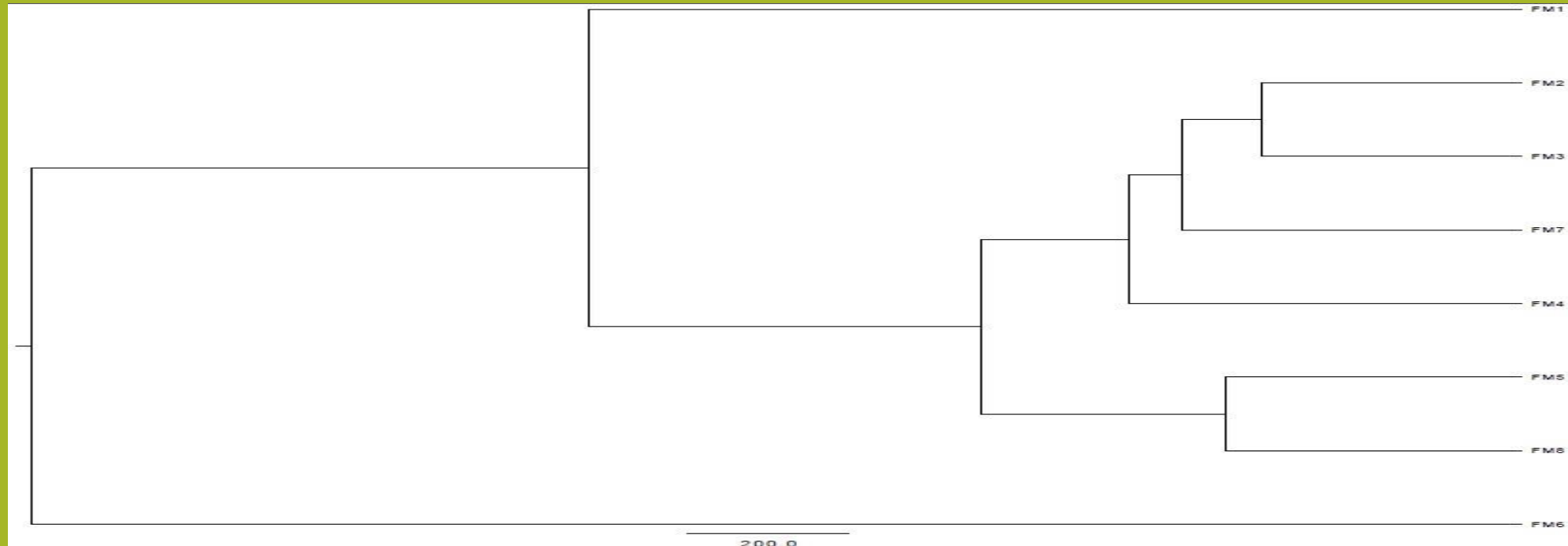
Rys. 5. Drzewa filogenetyczne na podstawie sekwencji genu 16S rDNA uzyskanych poszczególnych etapach procesu fermentacji metanowej



Rys. 3. Zróżnicowanie bakterii metanogennych w masie fermentacyjnej na podstawie SNG



Rys. 4. Drzewo filogenetyczne (UPGAMA) na podstawie sekwencji genu 16S rDNA uzyskanych w różnych etapach procesu fermentacji metanowej



Tab. 1. Rodzaje i gatunki metanogenów zasiedlających masę fermentacyjną (SNG)

Genus/species	Samples															
	FM1	FM2	FM3	FM4	FM5	FM6	FM7	FM8								
<i>Methanobacterium</i> ; s_ (n=10)	8	2656	7	923	8	1029	7	631	4	304	5	458	5	251	3	396
<i>Methanobrevibacter</i> ; s_ (n=6)	6	24	5	8	5	6	1	1	1	3	4	1	1	1	1	1
<i>Methanococcus</i> ; s_ (n=1)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Methanoculleus</i> ; s_ (n=3)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>Methanomethylorans</i> ; s_ (n=1)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Methanosaeta</i> ; s_ (n=15)	7	545	7	753	8	959	9	841	5	820	9	536	5	511	2	103
<i>Methanosarcina</i> ; s_ (n=3)	3	44	2	19	2	19	2	18	1	3	2	2	1	1	1	1
<i>Methanosarcina</i> ; s_mazei	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Methanosphaera</i> ; s_ (n=4)	4	11	2	2	3	6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	195
<i>Methanospirillum</i> ; s_ (n=3)	1	2	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Syntrophobacter</i> ; s_ (n=2)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Syntrophomonas</i> ; s_ (n=46)	27	866	22	650	22	1202	25	1929	15	216	30	4452	28	1524	12	505
<i>Syntrophomonas</i> ; s_wolfei	1	3	1	1	1	5	1	19	1	1	1	65	1	19	1	3
Total number of individuals	61	50	55	50	50	30	54	46	24	24	24	24	24	24	24	24
Total number of reads	4155	2360	3234	3448	1361	5530	2330	1206								

PODSUMOWANIE

Badania wykazały, że stosunkowo wysoką wydajność biogazu wydzieloną z 1 dm³ objętości komory można uzyskać przy niskim obciążeniu komory substancją organiczną 2,83 kg s.m.o. m⁻³ d⁻¹ oraz wynikającym z tego czasem retencji wynoszącym 39 d, czemu towarzyszyło występowanie bakterii metanogennych głównie z rodzaju *Methanosaeta* (59%) oraz *Methanobacterium* (21%).