Rendszeres talaj- illetve talajvízszennyezők lebontásában résztvevő anaerob mikrobaközösségek vizsgálata

Mészáros Éva
Témavezető: Márialigeti Károly

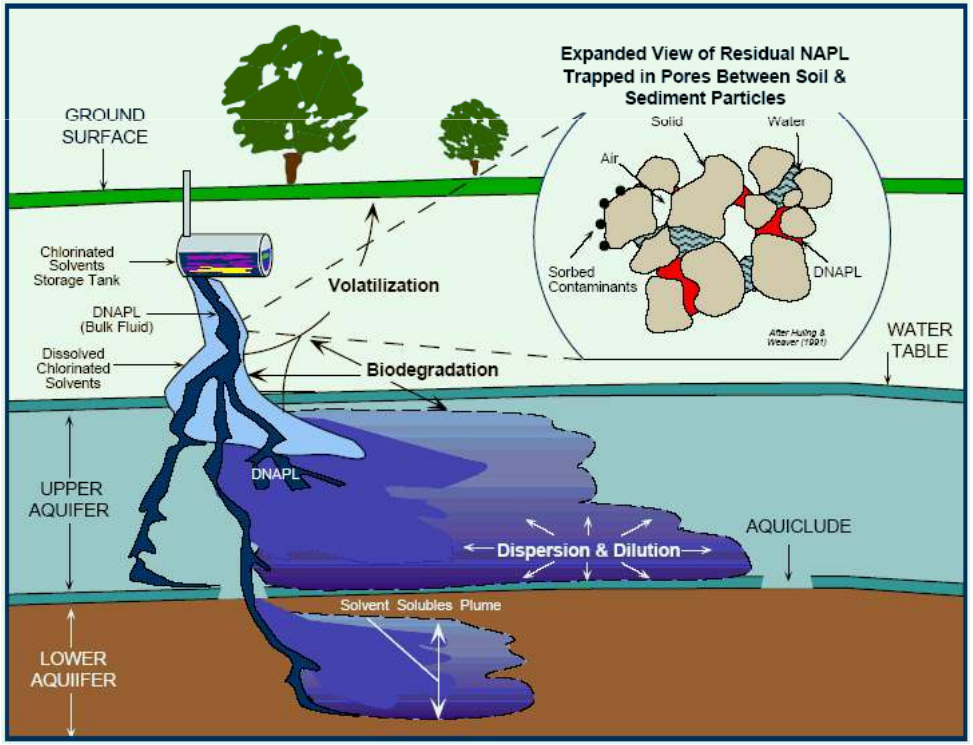
Környezettudományi Doktori Iskola

2009. június 8.

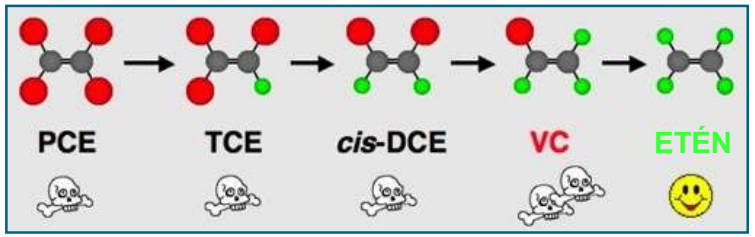
BEVEZETÉS

PCE/TCE szennyezés:

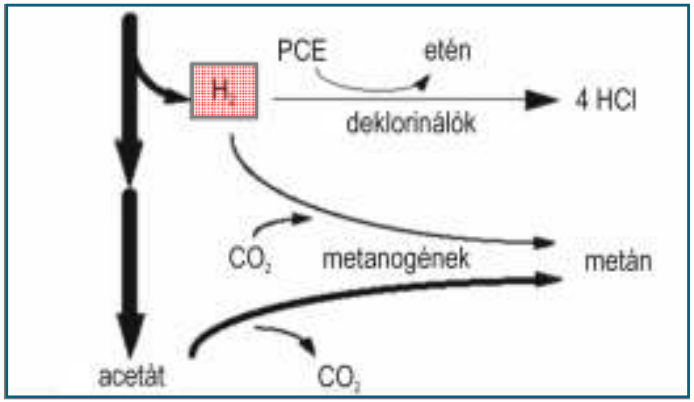
- nagy toxicitás – karcinogén vegyületek
- nehéz és költséges a kármentesítés
- DNAPL vegyületek – csekély vízoldhatóság
- *in situ* bioremediáció - biostimuláció



Reduktív deklorináció



A H_2-ért folytatott „verseny”



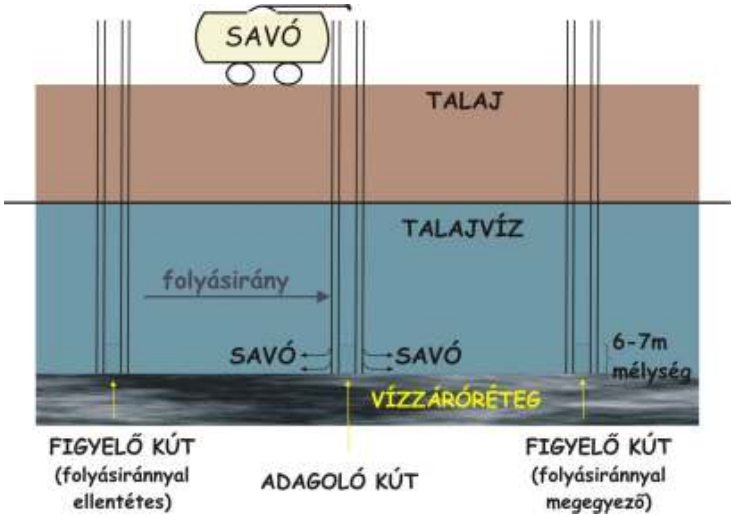
CÉLKITŰZÉSEK

- ✓szennyezett területek mikrobiális közösségének elemzése molekuláris biológiai módszerekkel – *in situ* eredmények
- ✓szennyezőanyagok lebontására képes anaerob szervezetek izolálása
- ✓katabolikus gén vizsgálatok
  - metanogén közösség (*mcrA* gén)
  - szulfátredukáló közösség (*dsrAB* gén)
  - deklorináló közösség (*tceA*, *bvcA* és *vcrA* gén)
- ✓RNS-alapú vizsgálatok
- ✓gátlási kísérletek

ALKALMAZOTT MÓDSZEREK I.

1. laboratóriumi mikrokozmosz kísérletek

2. *in situ* kísérletek



3. klasszikus mikrobiológiai módszerek

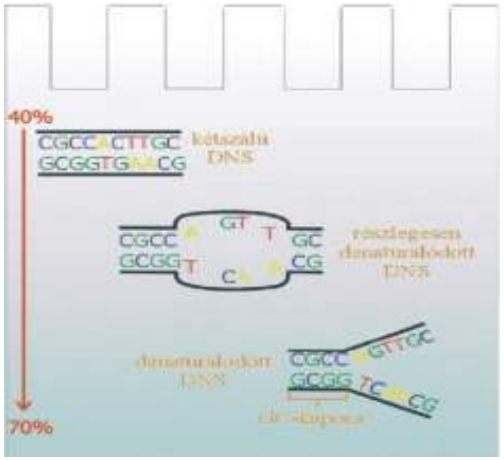
anaerob tenyésztés (Thermo Scientific)

5% CO_2
10% H_2
85% N_2

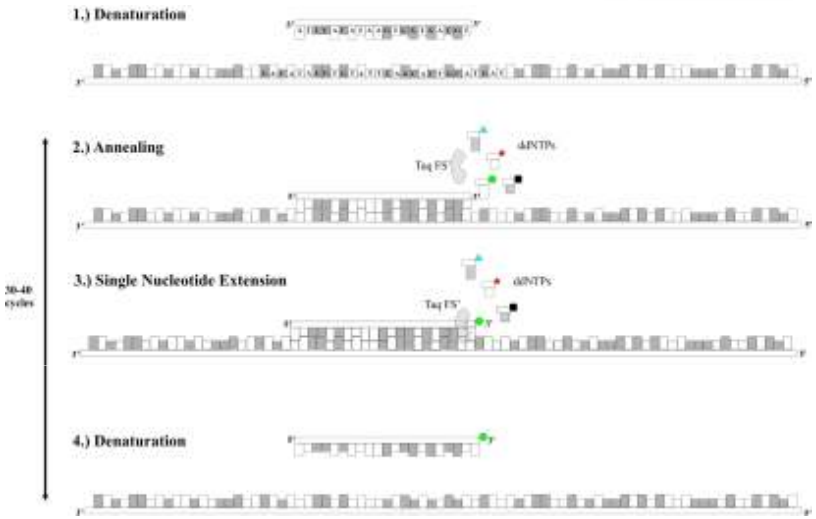
ALKALMAZOTT MÓDSZEREK II.

4. molekuláris mikrobiológiai módszerek

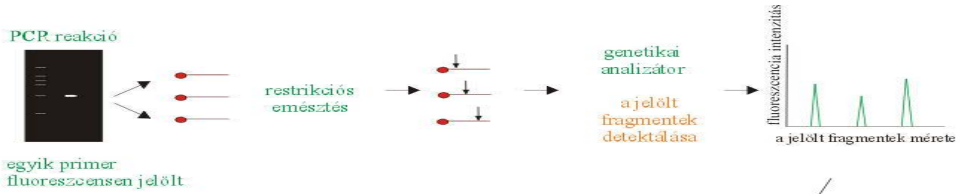
DGGE

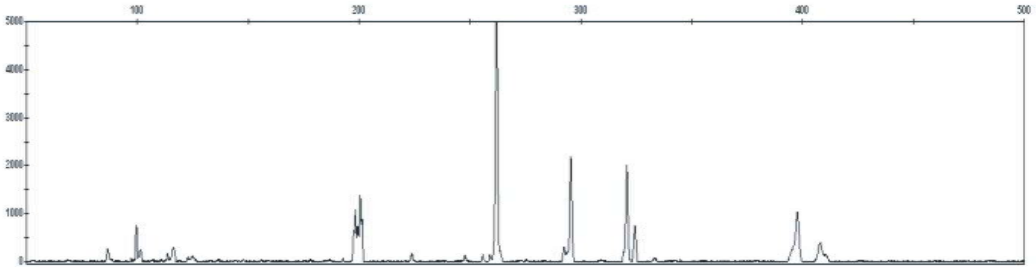


SNuPE

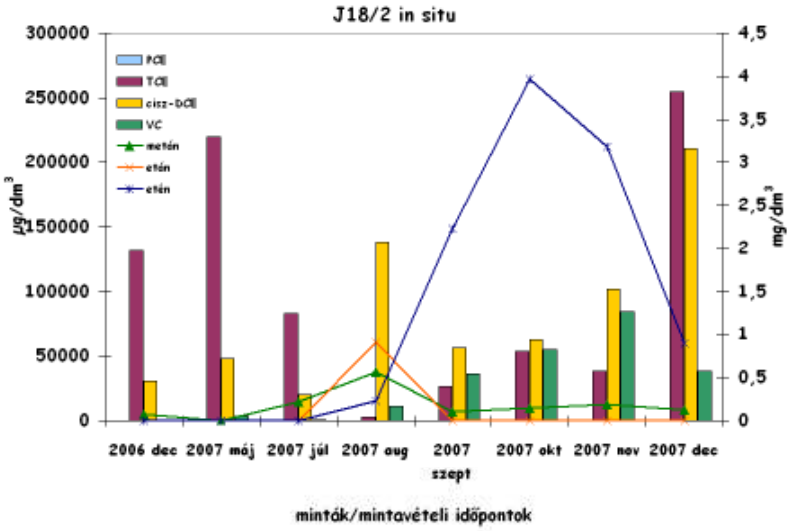


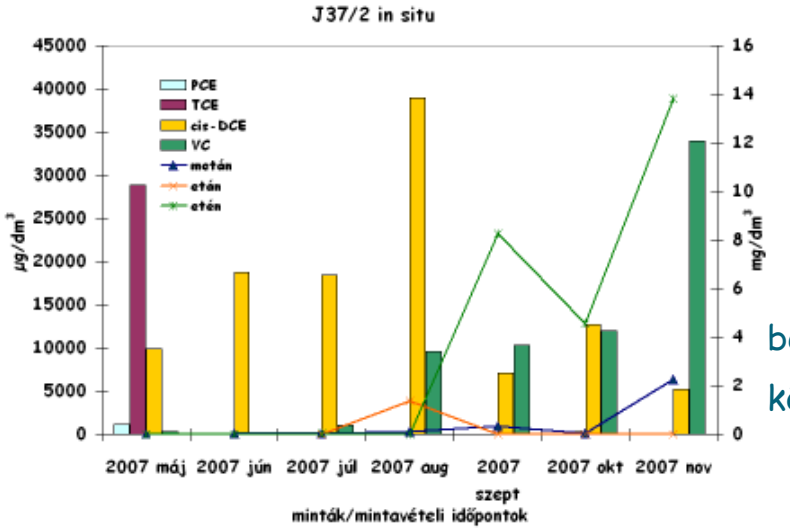
T-RFLP

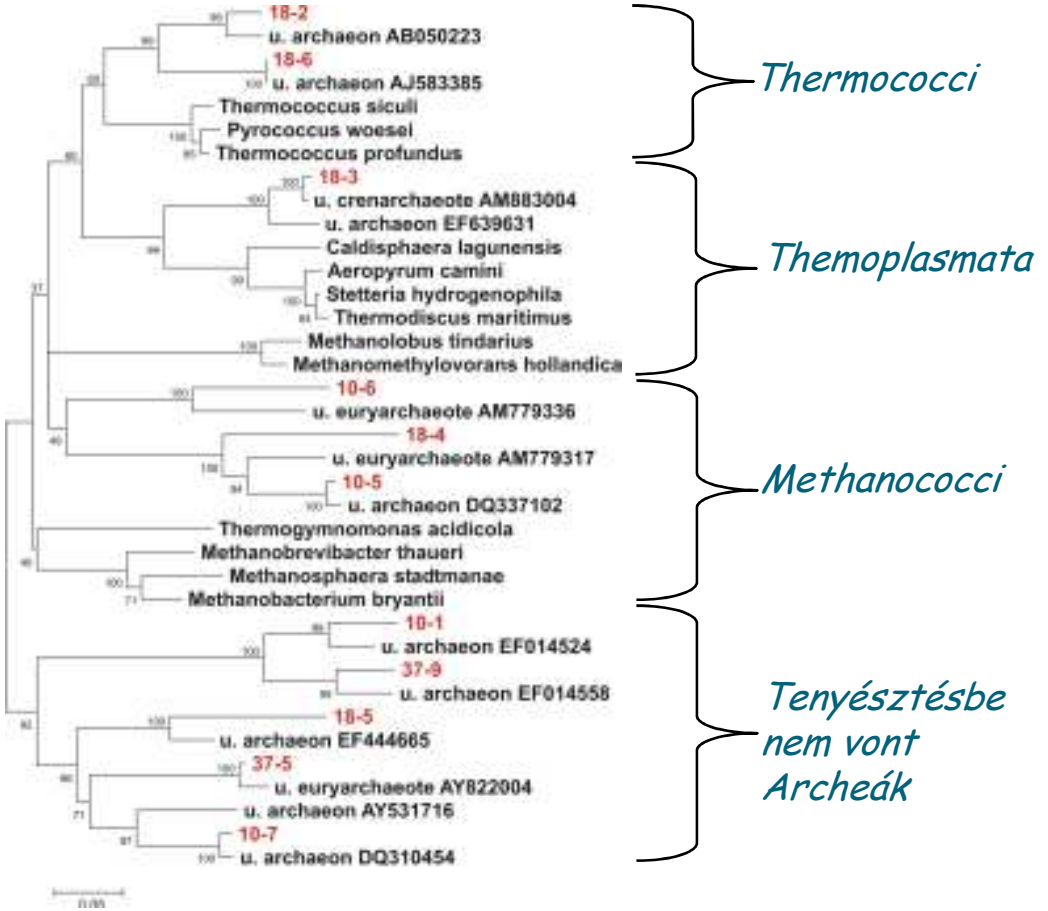




IN SITU EREDMÉNYEK







beadagolt szubsztrát < degradációs hatékonyság > Archea diverzitás

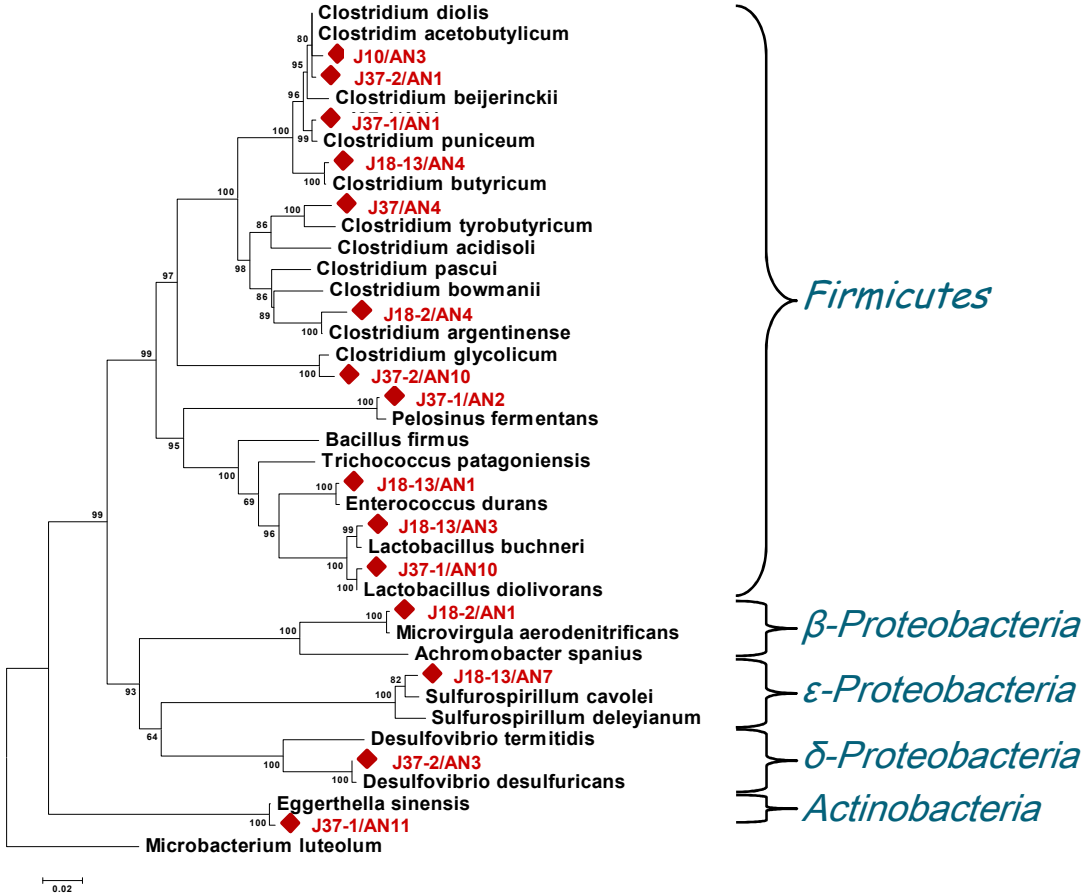
könnyen bontható szubsztrát ⟶
többszöri, kis mennyiségű beadagolás

TENYÉSZTÉSI EREDMÉNYEK

Clostridium sp.: obligát anaerob, fermentáló szervezetek, CH-eket felhasználva szerves savakat, alkoholokat állítanak elő, PCE szennyezett talajvízben ⇉ PCE → c-DCE

Sulforospirillum sp.: alifás CH-ek bontása dehalogenáz enzimrendszer segítségével

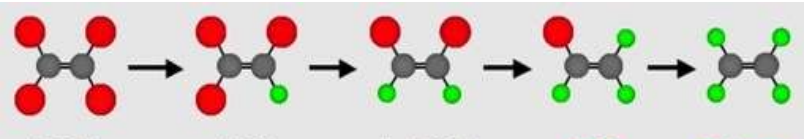
Desulfovibrio sp.: szulfátredukáló szervezetek, a szulfát koncentráció függvényében – kompetíció az e^--donorért, egyes törzsek képesek dehalogénezésre

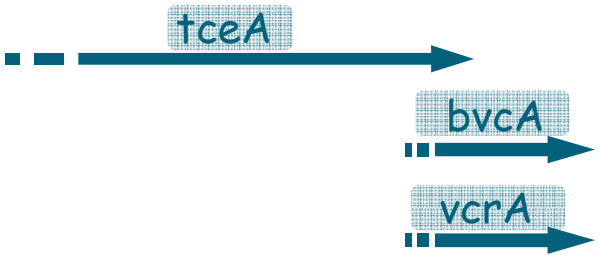


- ✓ szulfát redukáló szervezetek – kompetíció
- ✓ fermentáló szervezetek – adalékanyag bontás
- ✓ deklorináló szervezetek – szennyezőanyag bontás
- metanogén szervezetek

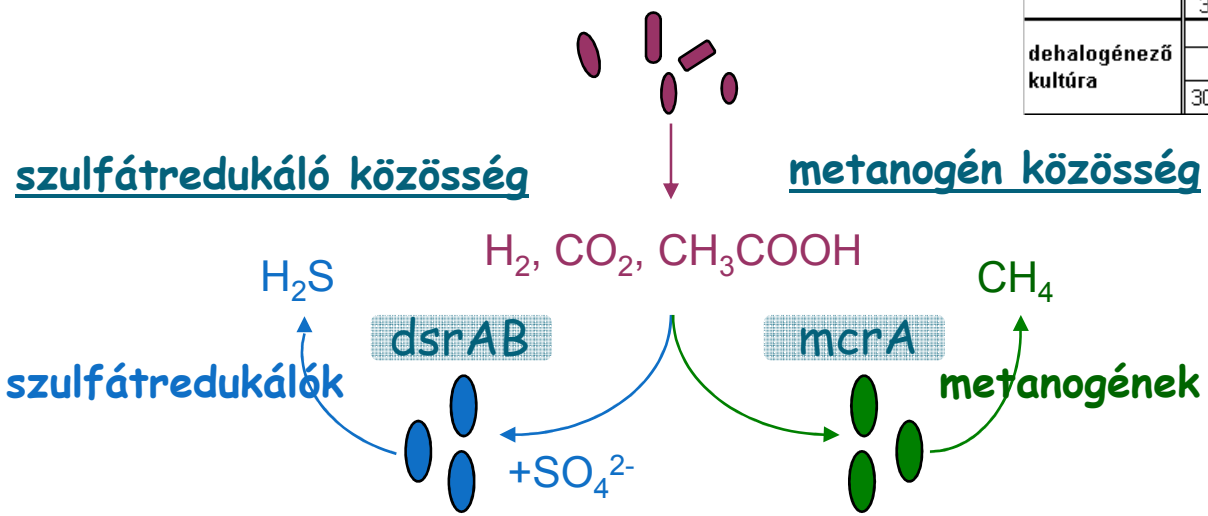
KATABOLIKUS GÉN VIZSGÁLATOK

deklorináló közösség





	minták	e⁻-donor ill. akceptor	DHC teszt	tceA	bvcA	vcrA
környezeti minták	1241	1,2-diklóetilén	+	-	-	+
	3051		+	-	-	+
	BVV3062		+	-	-	-
	150-7		+	-	-	+
	150-4		+	-	-	-
mezokozmosz (wetland)	430. day					
	befolyó		+	-	+	-
	AB (6-49 cm)		+	-	+	+
	CD (94-139 cm)		+	-	+	+
	kifolyó		+	-	+	+
	550. day					
	befolyó		+	-	-	-
	A/B (6-49 cm)		+	-	-	-
	C/D (94-139 cm)		+	-	-	-
	kifolyó		+	-	-	+
mikrokozmosz	588/589-3.7	lactate, VC	+	-	+	+
	588/589-3.6	lactate, t-DCE	+	-	-	+
	5261-5.2	lactate, VC	+	-	-	+
	3051-5.2	lactate, VC	+	-	+	+
dehalogénező kultúra	3051.3	lactate, VC	+	-	-	+
	3051.2	H_2, acetate, VC	+	-	-	+
	3051-2.2.1	H_2, acetate, PCE	+	-	-	+



dsrAB gén:

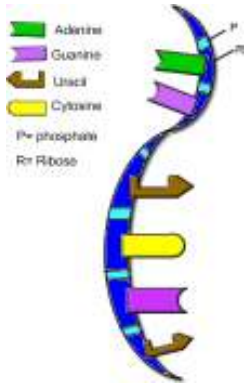
primerek
tiszta törzs tesztek

mcrA gén:

primerek
adatbázis

RNS-ALAPÚ VIZSGÁLATOK

Beadagolt elektron akceptor:



vinil-klorid

1. sorozat

tetraklóretén

2. sorozat

triklóretén

3. sorozat

cisz-diklóretén

4. sorozat

(kevert dehalogénező kultúrák)

↓

RNS – izolálás

↓

specifikus pre-SNuPE polimeráz láncreakció

↓

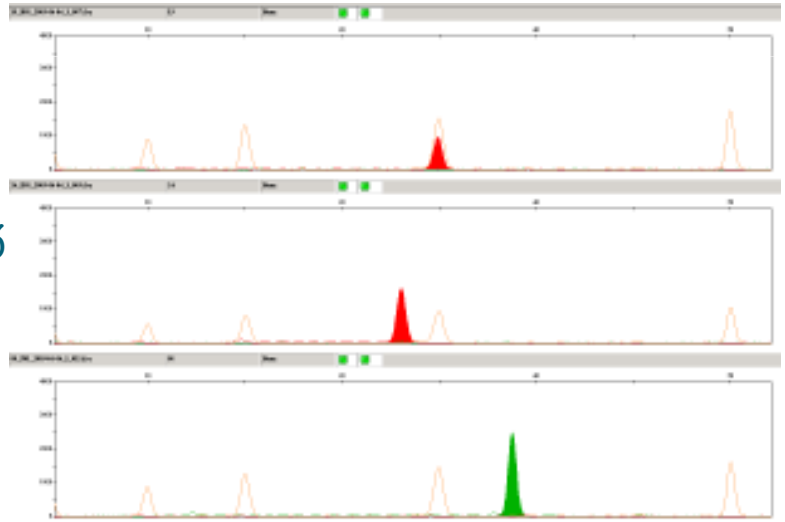
SNuPE

↓

a kapott eredmények összevetése a dehalogenáz adatbázis adataival

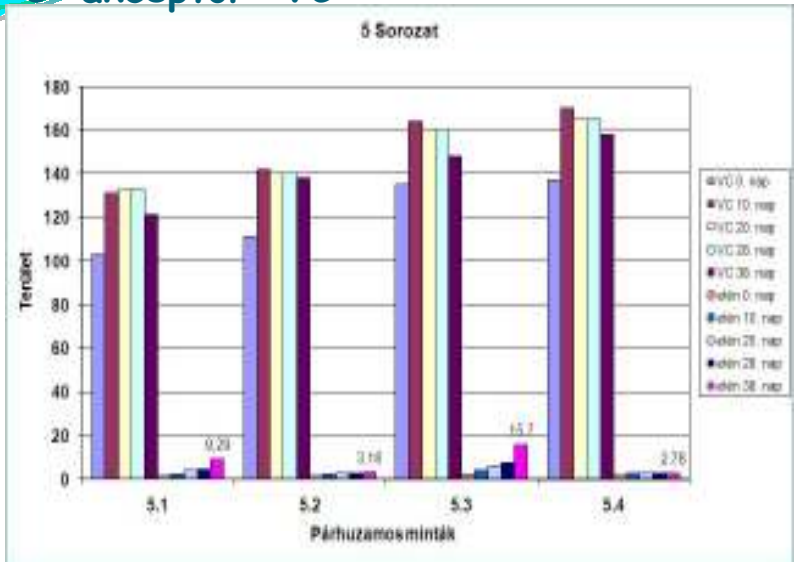
↓

annak a kérdésnek a megválaszolása, hogy a különböző akceptorok hatására melyik feltételezhető dehalogenáz aktiválódik



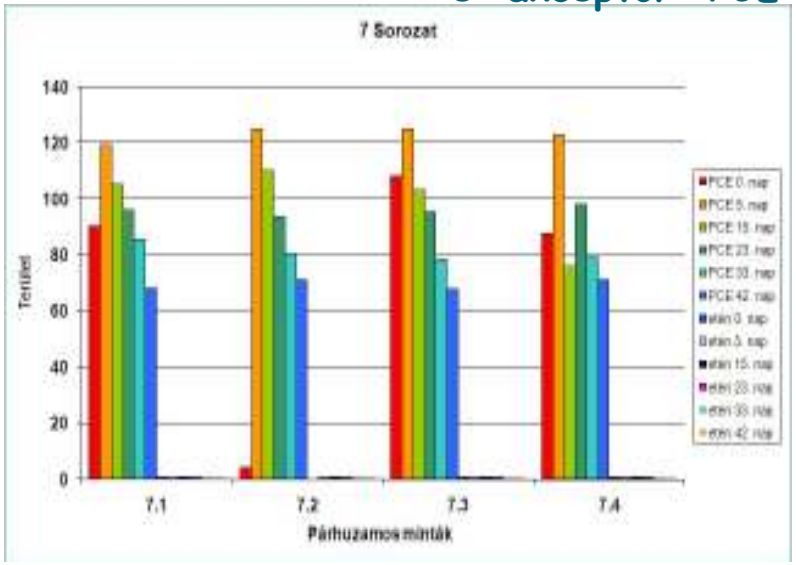
GÁTLÁSI KÍSÉRLETEK

e⁻ akceptor: VC

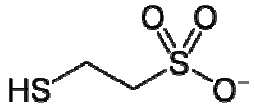


kevert dehalogénező kultúra

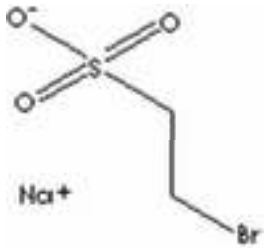
e⁻ akceptor: PCE



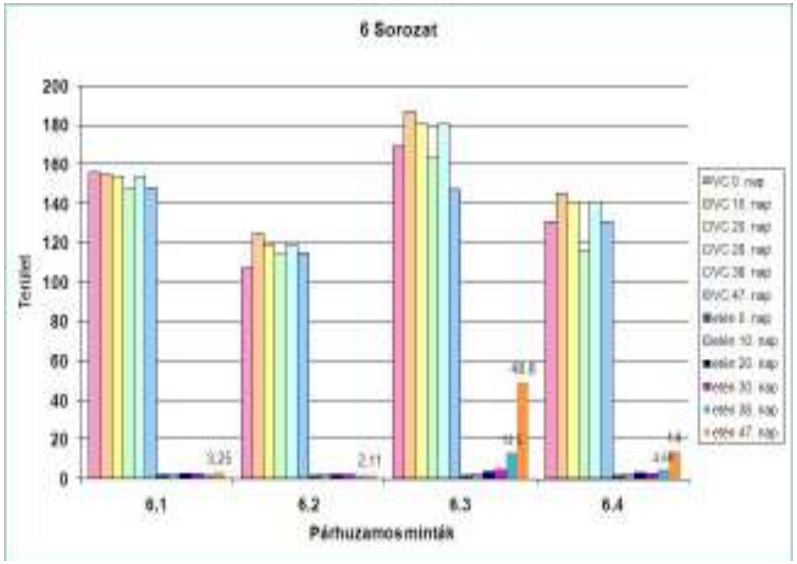
Dehalococcoides ethenogenes 195



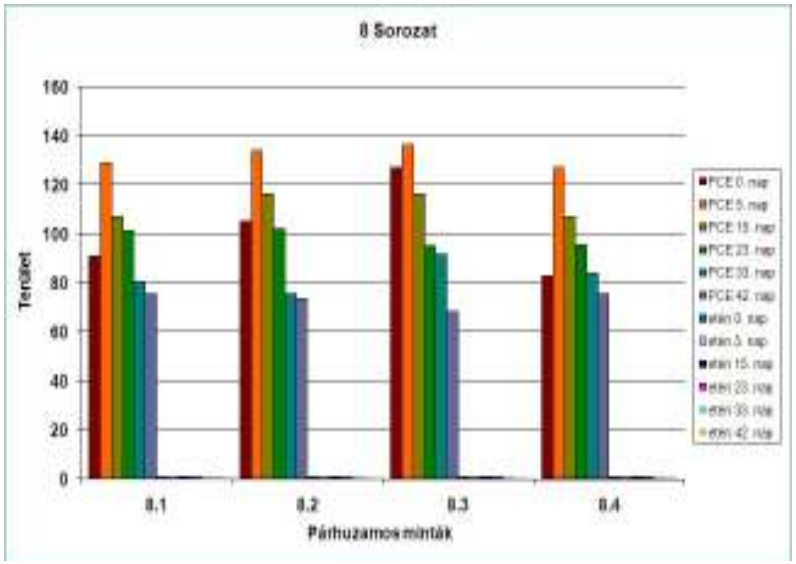
Coenzim M



BES
(2mM koncentráció)



kevert dehalogénező kultúra + BES



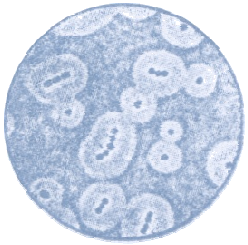
Dehalococcoides ethenogenes 195 + BES

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS TOVÁBBLÉPÉSI LEHETŐSÉGEK

- ✓az *in situ* kísérletek során megállapítottuk, hogy a beadagolt szubsztrát hatására megnőtt a degradációs hatékonyság és lecsökkent az Archea diverzitás
- ✓könnyen bontható adalékanyag esetén, többszöri, kisebb mennyiségű adagolás szükséges
- ✓klasszikus mikrobiológiai módszerekkel olyan törzsek izolálása, amelyek részt vehetnek a klórozott szénhidrogének bontásában ill. befolyásolhatják a folyamatot
- ✓katabolikus génaktivitási vizsgálatok kidolgozása és tesztelése izolátumokon ill. klónokon
- ✓egy új, gyors, multiplex módszer – SNuPE - kidolgozása a dehalogenáz gén vizsgálatára, adatbázis létrehozásával párhuzamosan
- ✓metanogén gátlóanyag tesztelése dehalogénező kultúrákon

- az izolált törzsek szénforrás hasznosítási és biokémiai tesztjeinek elvégzése
- az *mcrA* és a *dsrAB* gén szekvenciák alapján készített filogenetikai fák összevetése a 16S rDNS alapú fákéval
- metanogén (bontó)kultúra tesztelése BES adagolással – összefüggésben a katabolikus gén-aktivitással

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS



ELTE Mikrobiológiai Tanszék

Márialigeti Károly
Révész Sára
Varga Karolina
A Tanszék Munkatársai

HELMHOLTZ
CENTRE FOR
ENVIRONMENTAL
RESEARCH – UFZ

Nikolausz Marcell
Gwenael Imfeld
Ivonne Nijenhuis

Köszönöm a figyelmet!

PUBLIKÁCIÓS LISTA

Sára Révész, Rita Sipos, Anikó Kende, Tamás Rikker, Csaba Romsics, **Éva Mészáros**, Anita Mohr, András Táncsics, Károly Márialigeti (2006): Bacterial community changes in TCE biodegradation detected in microcosm experiments, International Biodeterioration & Biodegradation 58 (2006) 239-247

Gwenaël Imfeld, Cristian Estop Aragonés, Ingo Fetzer, **Éva Mészáros**, Simone Zeiger, Ivonne Nijenhuis, Marcell Nikolausz, Sylvain Delerce and Hans H. Richnow (2009): Characterization of microbial communities in a constructed model wetland treating 1,2-dichloroethenes contaminated ground water, FEMS Microbiology Ecology – *elküldve bírálatra*

Éva Mészáros, Marcell Nikolausz, Ivonne Nijenhuis, Gwenaël Imfeld, Károly Márialigeti and Hans H. Richnow (2009): Diversity of *Dehalococcoides* sp. and its reductive dehalogenases in environmental model- and laboratory systems - *előkészületben*

KONFERENCIA RÉSZVÉTEL

Sára Révész, Anikó Kende, Tamás Rikker, Csaba Romsics, **Éva Mészáros**, Anita Mohr, András Táncsics, Károly Márialigeti: Microbial community changes at TCE biodegradation in microcosms experiments. AXIOM-Virtual Institute Spring School Microbial Activity at Biogeochemical Gradients, Leipzig, Germany, 3-6 April 2006 (poszter)

Csaba Romsics, Sára Révész, **Éva Mészáros**, Anita Mohr, Tamás Rikker, Anikó Kende, Károly Márialigeti (2006): Prokaryote diversity of TCE contaminated sites in Hungary. ISEB/ESEB/JSEB 2006 International Conference on Environmental Biotechnology, Leipzig, Germany, 9-13 July 2006 (poszter)

Sára Révész, Csaba Romsics, **Éva Mészáros,** Anita Mohr, Tamás Rikker, Anikó Kende, Károly Márialigeti (2006): Microbial community analysis of TCE contaminated sites and technology improvement for enhanced bioremediation. ISEB/ESEB/JSEB 2006 International Conference on Environmental Biotechnology, Leipzig, Germany, 9-13 July 2006 (előadás)

Éva Mészáros, Sára Révész, Csaba Romsics, Dóra Benesóczki, Anikó Kende, Tamás Rikker, Károly Márialigeti (2006): Archaea community changes at TCE biodegradation in microcosm experiments. 11th International Symposium on Microbial Ecology – ISME-11 The Hidden Powers – Microbial Communities in Action, Vienna, Austria, 20-25. August 2006 (poszter)

Anita Mohr, Sára Révész, **Éva Mészáros**, Tamás Rikker, Anikó Kende, Károly Márialigeti (2006): Characterization of dehalogenating bacterial communities via microcosm experiments. Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology, Keszthely, Hungary, 18-20 Oktober 2006 (poszter)

KONFERENCIA RÉSZVÉTEL

Éva Mészáros, Sára Révész, Csaba Romsics, Dóra Benesóczki, Anikó Kende, Tamás Rikker, Károly Márialigeti (2006): Archaea community changes at TCE biodegradation in microcosm experiments. Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology, Keszthely, Hungary, 18-20 Oktober 2006 (előadás)

Ákos Tóth, Anita Mohr, **Éva Mészáros**, Csaba Romsics, Tamás Rikker, Károly Márialigeti, Sára Révész (2007): Microbial community analysis of tce contaminated sites and technology improvement for enhanced bioremediation. 15th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Budapest, Hungary, 18-20 July 2007 (poszter)

Karolina Varga, **Éva Mészáros**, Anita Mohr, Csaba Romsics, Tamás Rikker, Károly Márialigeti, Sára Révész (2007): Prokaryote diversity of tce contaminated sites in Hungary. 15th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Budapest, Hungary, 18-20 July 2007 (poszter)

Éva Mészáros, Karolina Varga, Anita Mohr, Tamás Rikker, Sára Révész and Károly Márialigeti (2009): Microbial Community analysis of in-situ bioremediation TCE contaminated sites in Hungary. BAGECO 10, Bacterial Genetics and Ecology – Coexisting on a Changing Planet, 15–19 Juni 2009, Uppsala, Sweden (poszter)