

ANVENDELSE AF BAKTERIELLE GENTEST I FORBINDELSE MED BIOREMEDIERING AF JORD- OG GRUNDVANDSFORURENING

**KETIL BERNT SØRENSEN, HANS BENGTSSON,
LENE KRAGH KRISTENSEN, AARON MARC
SAUNDERS**

PERSPEKTIVER FOR GENTESTS I BIOREMEDIERINGSPROJEKTER

Gentestning er uafhængig af dyrkning - giver et mere præcist indblik i de tilstedeværende mikroorganismer

Gentestning viser antallet af gener med bestemt funktion/egenskab i miljøprøver. Dette kan omregnes til antal bakterier

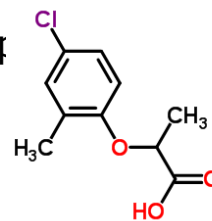
Gentestning kan være redskab til

- Dokumentation af naturlig biologisk nedbrydning på forurenede site
- Screening/kortlægning af de nyttige bakterier på sitet
- Monitering af effekter i forbindelse med remedieringstiltag (kommer der flere eller færre af de ønskede bakterier)
- Monitering af eventuelle tilsatte bakterier

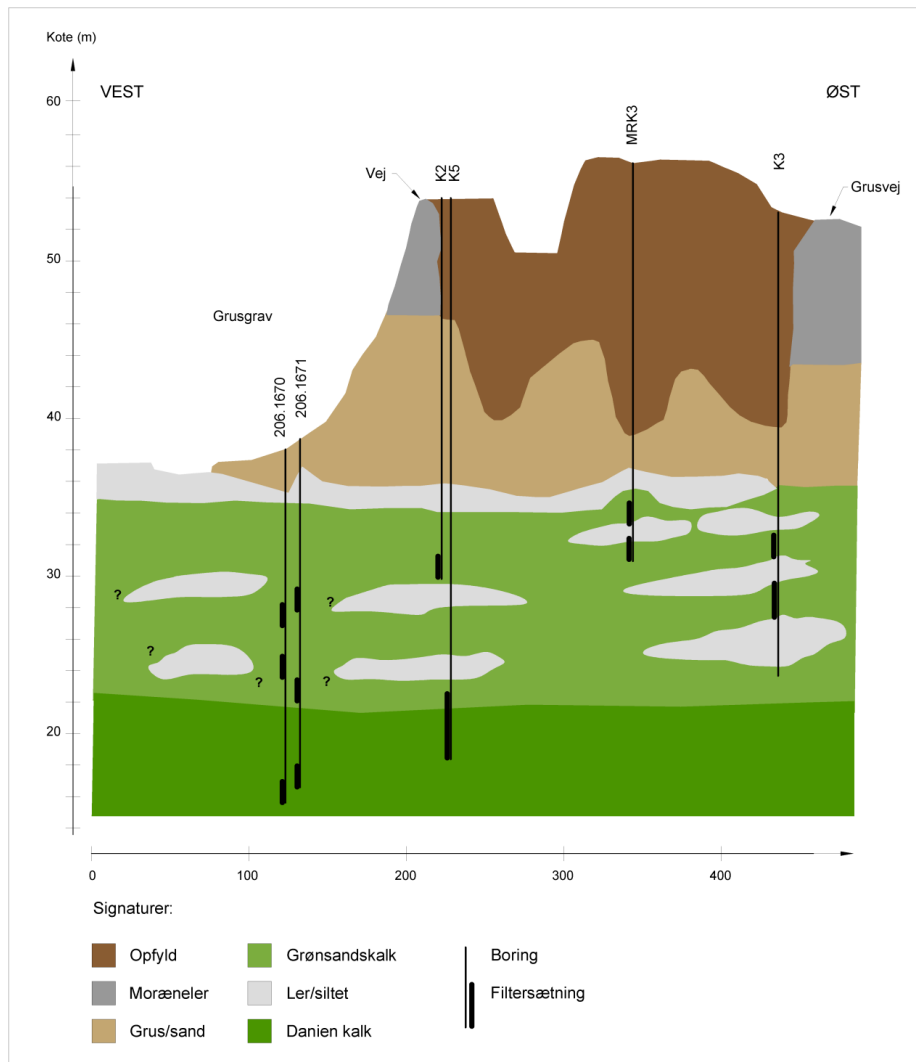
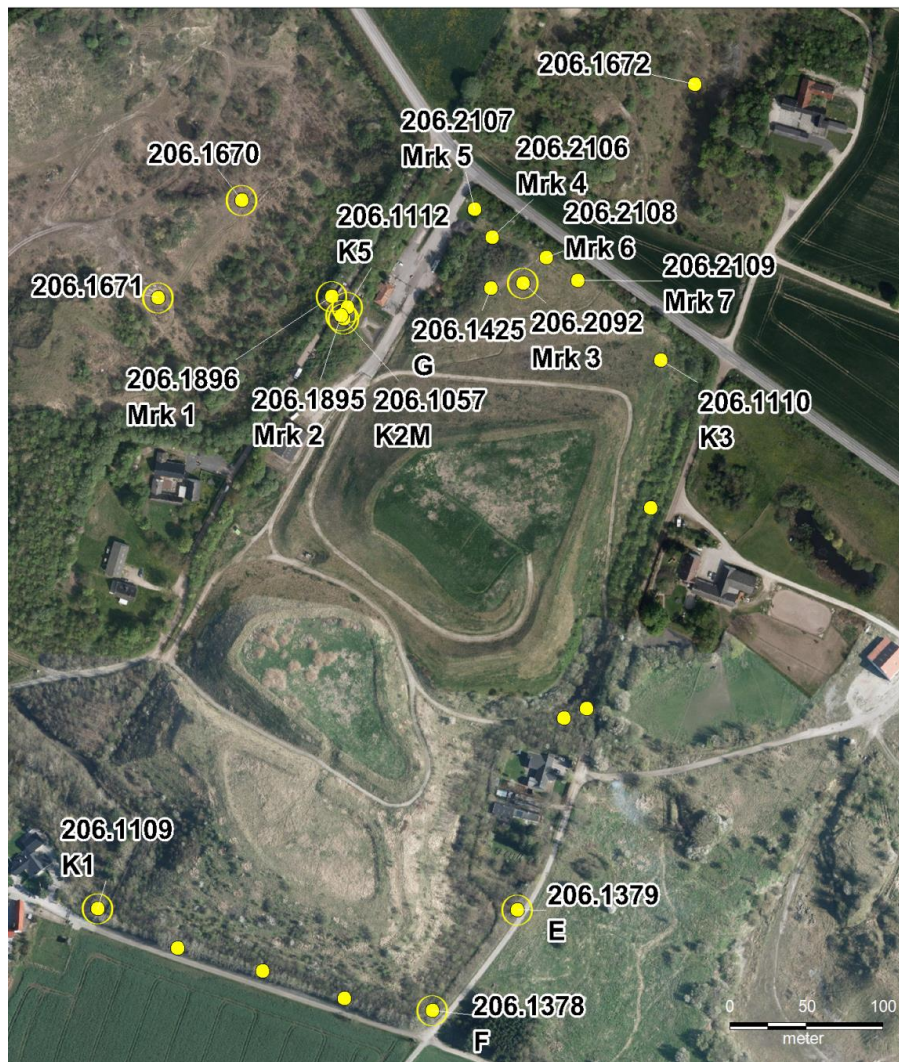
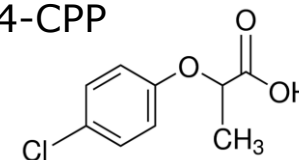
Gentests kan laves for en del forskellige typer af forureninger

HEDELAND DEPONI

Mechlorpropr



4-CPP



SPØRGSMÅL

Er der naturligt forekommende bakterier i jorden på Hedeland Deponi, der kan nedbryde phenoxysyrerne?

I så fald, hvor er de og kan de stimuleres?

INDLEDENDE SCREENING AF BAKTERIER PÅ SITET

Prøver af grundvand fra 11 brønde blev analyseret ved hjælp af qPCR og NGS. Følgende parametre blev målt:

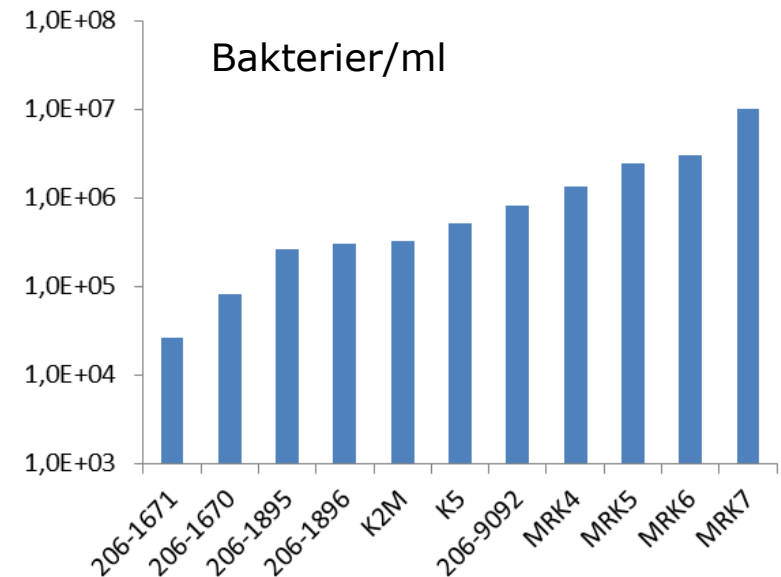
- Det totale antal af bakterier
- Detaljeret identificering (til slægtsniveau) af de fundne bakterier
- Giver et første indblik i diversiteten og antallet af bakterier

INDLEDENDE SCREENING – RESULTATER

Bakterier blev kvantificeret og identificeret vand fra forskellige brønde

Vandte indeholdt $3,3 \times 10^3$ – $1,0 \times 10^7$ bakterier/ml

774 forskellige slægter af bakterier blev fundet.



INDLEDENDE SCREENING – RESULTATER

Egenskaber af nogle af de hyppige slægter

Slægt	Beskrivelse
<i>Paucibacter</i>	Tilhører ordenen <i>Burkholderiales</i> , formentlig aerob
<i>Rhodoferax</i>	Betaprot., fototrof/aerob/fermenterende/Fe-red. Har været sat i forbindelse med phenoxysyrenedbrydning
<i>Curvibacter</i>	Tilhører familien <i>Comamonadaceae</i> , formentlig aerob
<i>Acidivorax</i>	Tilhører familien <i>Comamonadaceae</i> , formentlig aerob/denitrifiserende
<i>Sideroxydans</i>	Beta-prot., <i>Gallionellaceae</i> , muligvis Fe-oksiderende
<i>Desulfocapsa</i>	Deltaprot., anaerob, reducerer sulfater til sulfid eller er svovl disproportionerende
<i>Hydrogenophaga</i>	H ₂ -oxiderende, aerob

INDLEDENDE SCREENING - KONKLUSIONER

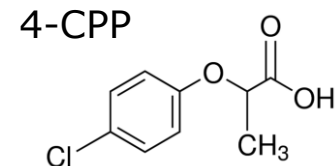
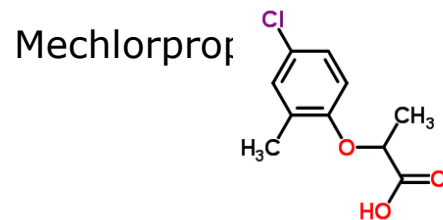
Den mikrobiologiske kortlægning indikerede at ilttilgængeligheden varierer i grundvandet.

Slægterne *Rhodoferax*, *Variovorax*, *Sphingomonas*, *Delftia*, og *Burkholderia* vides at have potentiale for phenoxysyrenedbrydning

- Men kan de rent faktisk nedbryde phenoxysyrer?
- Har bakterierne de gener der sætter dem i stand til at nedbryde phenoxysyrer?

OPFØLGENDE MÅLINGER - FORMÅL

- Lede efter specifikke gener der sætter bakterier i stand til at nedbryde phenoxysyrerne MCPP og 4-CPP.
- Ved at kvantificere disse gener, estimere hvorvidt der foregår en væsentlig naturlig nedbrydning i jorden under Hedeland Deponi.



OPFØLGENDE MÅLINGER - METODER

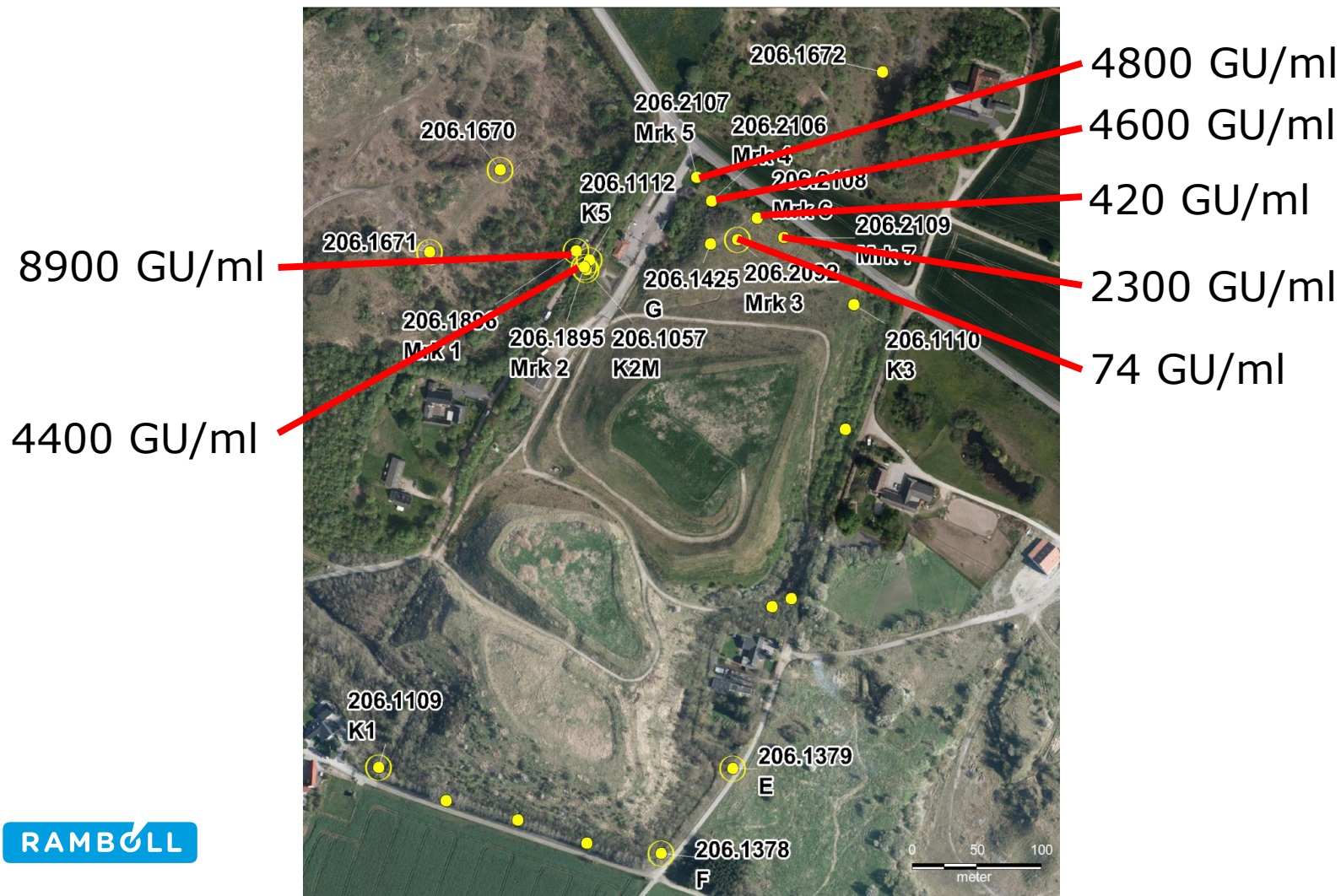
Der blev taget jordprøver fra 2 boringer foretaget tæt på brøndene MRK-3 og MRK-7, samt grundvandsprøver fra 10 udvalgte brønde.

Prøverne blev analyseret ved hjælp af qPCR. Følgende parametre blev målt:

- Det totale antal af bakterier
- Antallet af phenoxysyrenedbrydende bakterier med *tfdA* genet
- Antallet af phenoxysyrenedbrydende bakterier med *cadA* genet
- Antallet af phenoxysyrenedbrydende bakterier med *rdpA* genet
- Antallet af phenoxysyrenedbrydende bakterier med *sdpA* genet

OPFØLGENDE MÅLINGER - RESULTATER

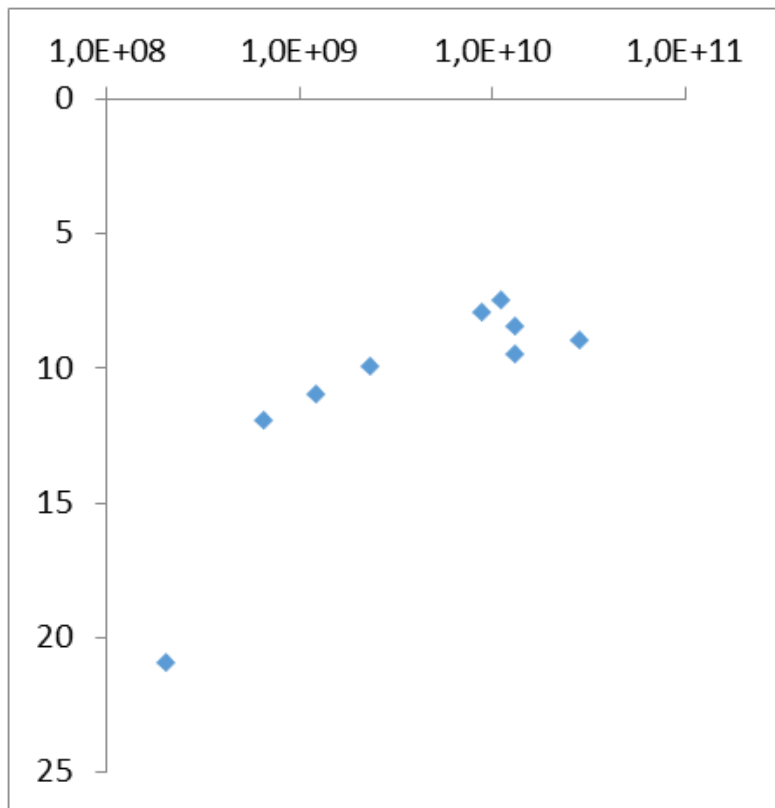
cadA-gener i 7 af 10 vandprøver



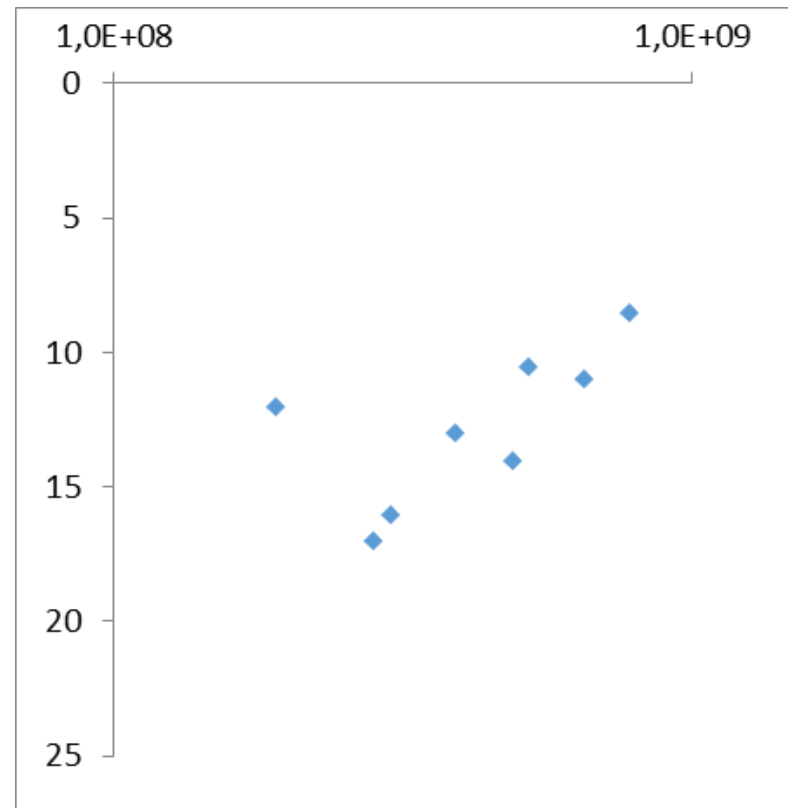
OPFØLGENDE MÅLINGER - RESULTATER

Totalt antal bakterier i jordprofiler (GU/g jord)

MRK-7



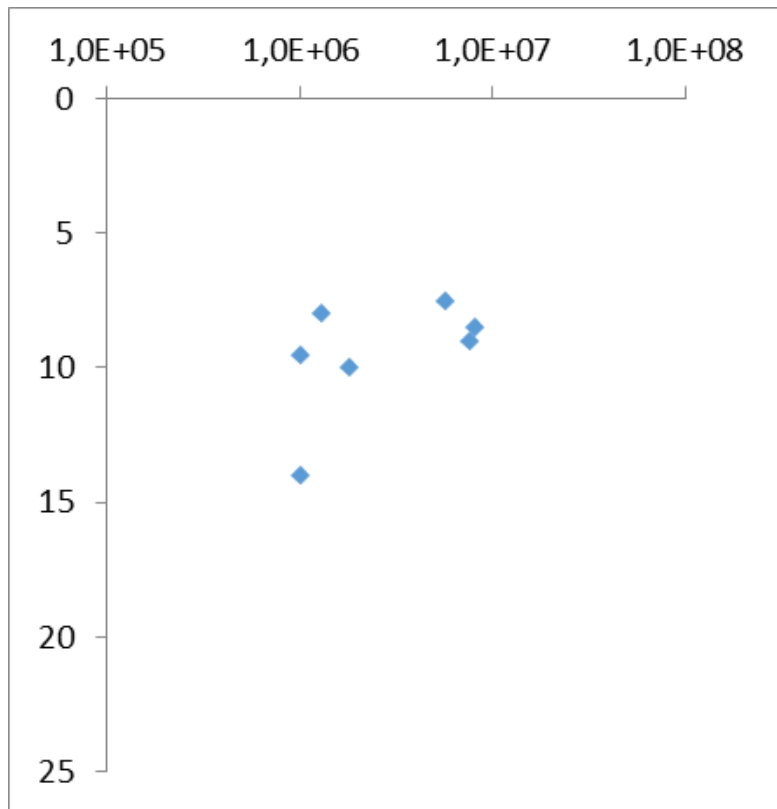
MRK-3



OPFØLGENDE MÅLINGER - RESULTATER

cadA-gener i jordprofiler (GU/g jord)

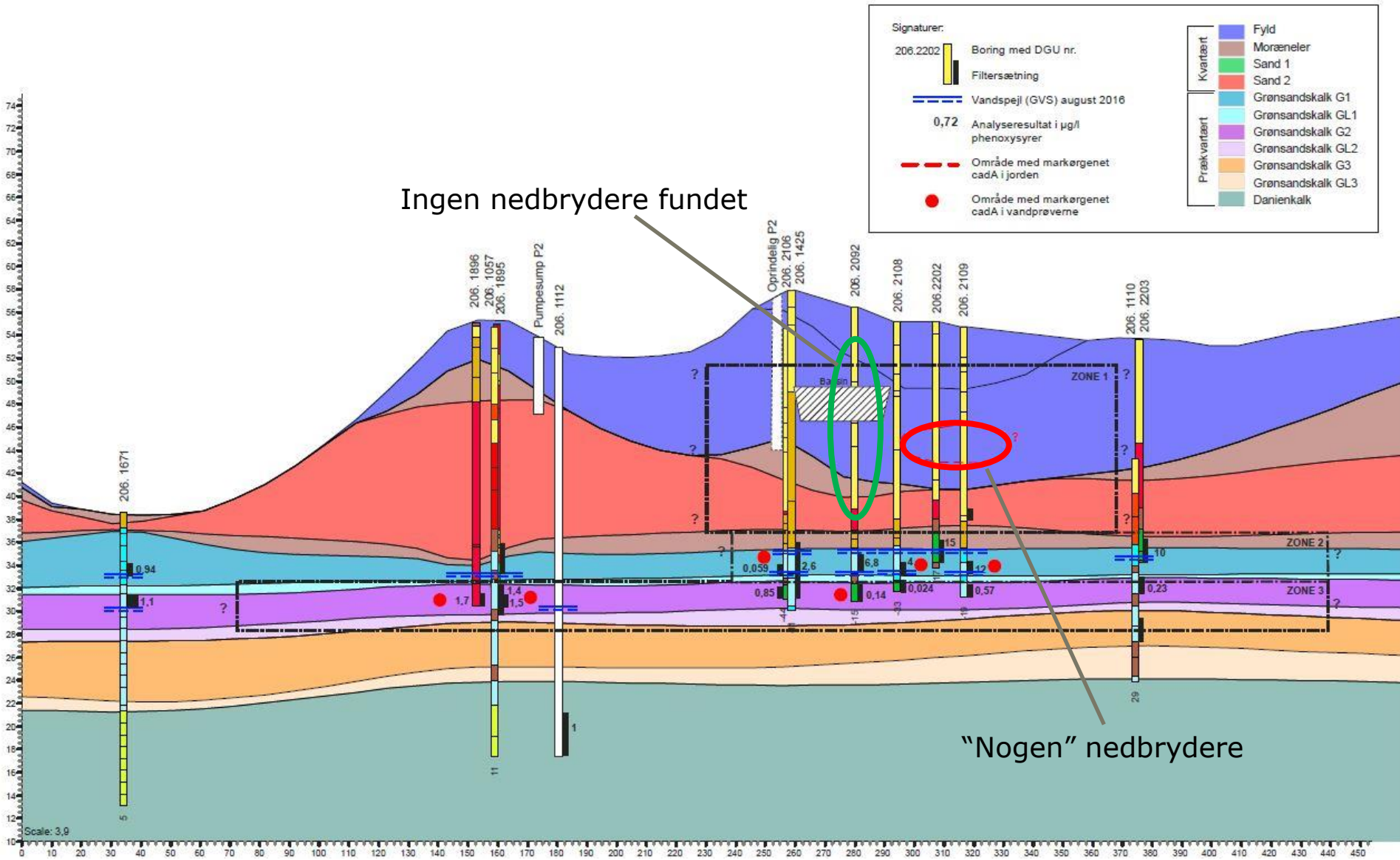
MRK-7



MRK-3

Ingen *cadA*-gener i jordprøver fra MRK-3

PROFILSNIT, VEST-ØST



KONKLUSION

Der foregår formentlig en naturlig nedbrydning af MCPP og 4-CCP i både jorden og grundvandet på Hedeland Deponi.

yderligere undersøgelser er dog nødvendige for at kvantificere den aktuelle nedbrydningsrate samt hvorvidt den naturlige nedbrydning kan stimuleres.

Gentestning kan

- vise tilstedeværelsen af forureningsnedbrydende bakterier
- dokumentere potentialet for bioremediering
- udpege zoner med tilstedeværelse af nyttige bakterier/forurening

TAK FOR OPMÆRKSOMHEDEN

Pathway proposed for dichlorprop degradation in *S. herbicidovorans* MH and for 2,4-D degradation in *R. eutropha* JMP134(pJP4) (30, 39-41).

