

Određivanje mikrobne populacije kiselog tijesta iz Bugarske metagenomskim metodama pomoću triju komercijalnih alata za ekstrakciju DNA

SAŽETAK

Pozadina istraživanja. Kiselo tijesto predstavlja spontano oblikovan složeni ekosustav različitih bakterija mliječno-kiselog vrenja i kvasaca koji stvaranjem specifičnih metabolita određuju kakvoću pekarskih proizvoda. Za kreiranje i kontroliranu pripremu kiselog tijesta sa željenim nutritivnim značajkama, neophodno je razumjeti raznolikost mliječno-kiselih bakterija.

Ekperimentalni pristup. Sekvenciranjem nove generacije V1-V3 hipervarijabilnih regija 16S rRNA gena ispitali smo mikrobnu zajednicu kiselog tijesta proizvedenog od cjelovitih žitarica vrste *Triticum monococcum*, porijeklom iz jugozapadne Bugarske. Odabir metode ekstrakcije DNA je ključni korak za dobivanje točnih rezultata sekvenciranja, budući da ona može bitno utjecati na ispitanu mikrobnu zajednicu. Stoga smo odabrali tri komercijalna alata za izolaciju DNA i ispitali njihov učinak na bakterijsku raznolikost.

Rezultati i zaključci. Pomoću sva tri alata izdvojen je bakterijski DNA materijal koji je zadovoljio kontrolu kvalitete, te je uspješno sekvenciran na platformi Illumina MiSeq. Rezultati dobiveni različitim DNA protokolima pokazali su razlike u profilima mikrobnih zajednica. Alfa-indeksi raznolikosti (ACE, Chao1, Shannon, i Simpson) također su bili različiti za svaku skupinu. Usprkos tome, opažena je izražena dominacija bakterija koljena Firmicutes, razreda Bacilli, reda Lactobacillales, i to najviše porodice Lactobacillaceae, roda *Lactobacillus* (relativna zastupljenost od 63,11-82,28 %) i porodice Leuconostocaceae, roda *Weissella* (relativna zastupljenost od 3,67-36,31 %). Dvije dominantne vrste koje su identificirane u sva tri DNA izolata bile su *Lactiplantibacillus plantarum*, čija je relativna zastupljenost bila 16,15-31,24 % i *Levilactobacillus brevis*, čija je relativna zastupljenost bila 6,21-16,29 %.

Novina i znanstveni doprinos. Dobiveni rezultati daju uvid u taksonomski sastav bakterijske populacije kiselog tijesta porijeklom iz Bugarske. Imajući na umu da je kiselo tijesto zahtjevna podloga za izolaciju DNA, te da ne postoji standardizirani protokol za njegovu obradu, svrha je ove pilot studije bila dati mali doprinos uspostavljanju i validaciji budućih protokola, koji će omogućiti preciznu evaluaciju specifične mikrobne populacije kiselih tijesta.

Ključne riječi: kiselo tijesto; postupci ekstrakcije DNA; V1-V3 16S rRNA; sekvenciranje novih generacija; metagenomika; mikrobna populacija