



Povzetek projekta Po kreativni poti do znanja 2017 – 2020, 1. odpiranje, za namen objave in predstavitve na spletni strani sklada

1. Polni naslov projekta: Mikroorganizmi petole in solinskega blata iz Sečoveljskih solin

- V katero področje na prvi klasifikacijski ravni KLASIUS-P se uvršča projekt glede na vsebinsko zasnovo (neustrezno področje izbršite):

4 - Naravoslovje, matematika in računalništvo

2. V sodelovanju z: (navede se univerza oz. samostojni visokošolski zavod, ki je prijavitelj projekta in članica, ki je nosilka projekta ter partner/ja – podjetje/ji oz. organizacija, ki je/sta bilo/i vključeno/i v projekt)

___Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo ter Soline, pridelava soli d.o.o. in Nacionalni inštitut za biologijo___

3. Besedilo:

- Opredelite problem, ki se je razreševal tekom izvajanja projekta

Soline d.o.o. proizvajajo sol po postopku, ki je v osnovi nespremenjen že več sto let. Izhlapevanje vode poteka v odprtih bazenih izključno zaradi sončnega segrevanja, s tem pa se koncentracija soli v vodi veča do stopnje, ko se začne kristalizacija. Dno kristalizacijskih bazenov je treba na začetku sezone vsako leto na novo pripraviti, da se utrdi, kar olajša končno zbiranje soli in preprečuje mešanje blata s soljo. Dna teh bazenov so prekrita s tako imenovano petolo, to je nekaj milimetrov debela strjena plast mineraliziranih mikroorganizmov. Konec marca ali v prvi polovici aprila solinarji petolo premažejo s plastjo solinskega blata, kar imenujejo 'konciranje'. Velja prepričanje, da solinsko blato deluje kot nekakšno gnojilo, mikroorganizmi pa so že prisotni v petoli in bi z dodatkom blata začeli ponovno rasti. Razvijejo se v zeleno preprogo, ta pa z odlaganjem mineralnih snovi postopno zatrdi v pohodno plast, ki ločuje blato od soli. Staro prakso, da za premaz solinarskega dna uporabljajo blato iz bližine kristalizacijskih bazenov ('zrelo blato'), postopno nadomeščajo z bolj enostavnim postopkom zajema blata iz kanalov, ki so neposredno povezana z morjem. Petola se vseeno razvije in je po mineralni sestavi enaka kot pri uporabi 'zrelega blata', ni pa jasno, ali je razlika v mikrobnih sestavi obeh blat. Razlika v sestavi bi lahko srednjeročno vplivala na stabilnost petole in na procese, ki se dogajajo v kristalizacijskih bazenih, vključno s sestavo mikroflora v procesu koncentriranja morske vode. Natančneje bi bilo treba torej razumeti, kako konciranje vpliva na lastnosti petole in na pridelavo soli, hkrati pa raziskati morebitne dodatne možnosti uporabe solinskega blata.

- Opišite potek reševanja problema oz. kratek povzetek projekta

Delo je bilo zasnovano dokaj na široko in je vključevalo mikrobiološke, kemijske in molekularnobiološke pristope, pri delu pa je sodelovalo 7 študentov 4 študijskih programov in 4 mentorji s 3 ustanov, kar kaže na njegovo interdisciplinarnost.

Po preučitvi objav s področja biologije in kemije solin ter postopkov pridobivanja soli smo izvedli več vzorčenj na solinah, zbrani material pa analizirali v laboratoriju. Uporabljali smo kemijske, biokemijske, mikrobiološke in molekularnobiološke metode, opažanja v solinah pa so nas vodila tudi na področje biologije žuželk, saj smo ugotovili, da lahko pomembno vplivajo na lastnosti petole.

Na robu kristalizacijskih bazenov in drugod na področju solin smo opazovali prisotnost alg in mikroorganizmov, ki bi lahko predstavljali osnovo za izolacijo zanimivih biološko aktivnih molekul.

Preizkusili in optimizirali smo postopek izolacije DNA iz vzorcev solinskega blata in petole. DNA smo analizirali glede razgrajenosti in primernosti za izvedbo reakcije PCR, s katero smo pomnožili odseke DNA, ki bi v nadaljevanju omogočali prepoznavanje mikroorganizmov. Ugotovili smo, da so naravni vzorci iz solin dokaj agresivni do DNA in da lahko po izolaciji pričakujemo predvsem DNA živih organizmov, saj bi se DNA iz odmrlih hitro razgradila.

Ker postopkov v solinah nismo mogli spremljati vsakodnevno, smo petolo in solinsko blato preučevali makro- in mikroskopsko v laboratoriju, kjer so mikroorganizmi rasli v simuliranih pogojih. S tem smo lahko zasledovali proces ozelenitve petole in škodljivo delovanje ličink žuželk, ki se pojavljajo v solinah. Na osnovi značilnih makroskopskih lastnosti in analiz mitohondrijske DNA smo uspeli ugotoviti, kateri skupini žuželk pripadajo solinske mušice, katerih ličinke so razgrajevale petolo.

S kompleksno kemijsko analizo smo iskali razlike v sestavi petol in blat za premaz, pri tem pa smo uporabljali naprave v partnerski organizaciji (Nacionalni inštitut za biologijo – Morska biološka postaja).

Iz petole smo poskusili izolirati mikroorganizem, ki predstavlja osnovo za mineralizacijo, cianobakterijo *Coleofasciculus chthonoplastes*, kar bi omogočilo njeno natančnejše preučevanje tudi po zaključku projekta.

Solinsko blato smo uporabili za preizkus protimikrobnega delovanja na dve vrsti bakterij in eno vrsto kvasovk in z določitvijo čistine okrog mesta nanosa blata ugotavljali, ali ima blato kakšne doslej neznane učinke.

Za lažjo izolacijo mikroorganizmov iz heterogenih okoljskih vzorcev smo preverili delovanje izbranih antibiotikov, predvsem glede delovanja na večinsko cianobakterijo, ki sestavlja petolo.

- Navedite in opišite rezultate projekta ter njihov doprinos k družbeni koristnosti

Ključni rezultati so:

- Mikrobna sestava petole se s časom spreminja. Poznavanje raznolikosti sestave je pomembno za natančnejše analize združbe in bi lahko pripomoglo k optimizaciji procesov v solinah.

- Kristalizacijski bazeni in področje Sečoveljskih solin so bogato nahajališče različnih mikroorganizmov, med katerimi so pomembne cianobakterije in alge. Ti mikroorganizmi bi lahko predstavljali nov vir surovin oz. molekul z visoko dodano vrednostjo.

- Izolacija DNA iz solinskega blata in petole je možna, izolirana DNA pa predstavlja predvsem DNA iz trenutno živečih organizmov, ne pa iz odmrlih. Iz izolirane DNA je mogoče pomnožiti odseke, ki so pomembni za oceno heterogenosti združb in za morebitno filogenetsko klasifikacijo. To pomeni, da bi v nadaljnjih raziskavah lahko heterogenost živih populacij določili le na podlagi DNA.

- Blato za konciranje zavira razvoj ličink dvokrilcev, ki so prisotni v solinskih bazenih pred konciranjem. To v veliki meri razloži pomen konciranja, kar doslej ni bilo ustrezno razloženo.

- Ličinke trzač se pojavljajo v nepremazani petoli v izredno visokem številu in so zaradi objedanja cianobakterij sposobne uničiti strukturo petole. Podatek je pomemben za morebitno prilagajanje postopkov priprave bazenov v solinah.

- Nepremazana petola postane bistveno bolj krhka in manj primerna za proizvodnjo soli kot premazana, pri čemer v prvi sezoni vir blata za trdnost petole ni pomemben. Ta rezultat potrjuje nujnost uporabe klasičnih postopkov pri pridobivanju soli.

- Kemijska sestava solinskega blata in petole se v teku solinarske sezone spreminja in je povezana z delovanjem mikroorganizmov. Potrdili smo predhodne rezultate in pomen kemijskih analiz za celovito razumevanje postopkov v solinah.

- Solinsko blato ne zavira rasti in razmnoževanja bakterij *Escherichia coli* niti *Streptococcus epidermidis*, zavira pa kvasovke *Candida albicans*. S tem se odpirajo dodatne možnosti uporabe solinskega blata z medicinskimi aplikacijami.

4. Priloge:

- Slikovno gradivo: Priložite vsaj dve sliki npr. sliko končnega produkta, sliko študentov pri delu na projektu, sliko s sestankov ipd. Pri pošiljanju slik bodite pozorni, v kolikor gre za končni produkt, da bo zadoščeno zahtevam glede informiranja in obveščanja (ustrezni logotipi itd.).



