KES TOODAB METAANI

Kolm metaani tekkerada kääritis ja neid kandvad organismid

Taavi Päll

2026-09-29

KOKKUVÕTE

Kaaskiri valgele raamatule *What one digestate sample can tell you*. Kääriti raport nimetab metanogeene perekonna järgi ja ütleb, millist metaani tekkerada igaüks kannab. See ülevaade selgitab kolme rada, milliseid organisme igaüks hõlmab ja mida kirjandus ütleb nende esinemise kohta, et raportis olevate mikroobide nimesid saaks lugeda, mitte ainult otsida.

KOLM SUBSTRAATI, ÜKS JA SAMA VIIMANE SAMM

Iga liiter biometaani on arhede toodetud, ja kõik metanogeenid lõpetavad töö ühtemoodi: koensüüm M külge seotud metüülrühm redutseeritakse metaaniks metüül-koensüüm M reduktaasi abil, mida kodeerib geen *mcrA* (Thauer et al. 2008; Evans et al. 2019). Erinevus on selles, millisest ühendist nad selle viimase sammu jaoks metüülrühma saavad. Substraate on kolm rühma ja neist tulevad kolm rada, mida kääriti raport nimetab: vesinikuga (või formiaadiga) redutseeritud süsihappegaas, atsetaat ning metüülitud ühendid nagu metanool ja metüülamiinid (Liu ja Whitman 2008).

Rajad ei ole omavahel asendatavad ja neid ei kanna samad organismid. Madala ammoniaagisisaldusega reoveesetete kääritite kohta kehtib laias laastus, et umbes kaks kolmandikku metaanist tuleb atsetaadist

ja suurem osa ülejäänust vesinikust ja süsihappegaasist (Demirel ja Scherer 2008). Ammoniaagirikastes põllumajanduslikes reaktorites on tasakaal sageli vastupidine; miks, selgitab allpool olev atsetaadi osa. Kui jaam on stressis, muutuvad iga raja kandjad, ja just seda on DNA tasemel võimalik näha.

mcrA on marker, mille järgi raport otsustab, kas genoom üldse kuulub metanogeenile. Samas, ka anaeroobsed metaani oksüdeerijad kannavad seda geeni, kuid käitavad rada vastupidises suunas, mistõttu loeb mikroobiperekond sama palju kui geen.

VESINIKU RADA

Hüdrogenotroofsed metanogeenid redutseerivad CO_2 vesiniku abil metaaniks ja paljud saavad vesiniku asemel kasutada formiaati. Need on kõige laiemalt levinud metanogeenid ja kuuluvad mitmesse seltsi, nende hulgas *Methanobacteriales* (*Methanobacterium*, *Methanothermobacter*, *Methanobrevibacter*), *Methanomicrobiales* (*Methanoculleus*, *Methanocorpusculum*), *Methanococcales* ja *Methanocellales* (Liu ja Whitman 2008).

Nende roll kääritis on suurem kui nende osa metaanist. Propionaati ja butüraati lagundavad bakterid vabastavad vesinikku ja saavad seda teha ainult seni, kuni vesinik eemaldatakse sama kiiresti, kui see tekib. Hüdrogenotroofid on need, kes selle eemaldavad (Demirel ja Scherer 2008). Kui nad tarbimises maha jäävad, kogunevad lenduvad rasvhapped: seega on tuttava häire esimese märgi taga vesiniku tarbija.

Methanoculleus väärib eraldi mainimist. See perekond esineb sageli ammoniaagirikaste kääritite peamise vesiniku tarbijana, kus tema ammoniaagitaluvus on üks põhjustest, miks ta püsib keskkonnas, kus teised metanogeenid taanduvad (Westerholm, Moestedt, ja Schnürer 2016; Wang, Fotidis, ja Angelidaki 2015), kusjuures *Methanoculleus bourgensis* ongi algselt eraldatud biogaasireaktorist

(Maus et al. 2016). Näidisraportis kannab ta vesiniku rada mõlemas jaamas. BP3 reaktoris, millel põhinevad sügavustestid raportis *What one digestate sample can tell you*, oli ta ainus metanogeen, mille genoom õnnestus kokku panna igal sekveneerimissügavusel vahemikus 2,5 kuni 12 Gb.

ATSETAADI RADA

Atsetaati lõhustavad ainult kaks metanogeenide rühma: *Methanosarcina* ja *Methanotrichaceae*: *Methanothrix* (varem *Methanosaeta*) ja *Methanocrinis*, kuhu kuulub nüüd endine *Methanothrix harundinacea*, kääritite organism, ning uus aluselist keskkonda eelistav liik (Smith ja Ingram-Smith 2007; Khomyakova et al. 2023). Kuna atsetaadirada kannab nii vähe perekondi, ütleb see, milline neist seda konkreetses reaktoris kannab, reaktori kohta üsna palju.

Methanothrix on spetsialist. Ta kasutab ainult atsetaati, kasvab aeglaselt ja toimib väga madalal atsetaadi kontsentratsioonil, mida *Methanosarcina* kasutada ei suuda (Jetten, Stams, ja Zehnder 1992; Smith ja Ingram-Smith 2007). Ta on edukas stabiilses, hästi toidetud reaktoris, kus atsetaat kunagi ei kogune. *Methanosarcina* on generalist. Ta vajab rohkem atsetaati, kasvab kiiremini, saab kasutada metüülühendeid ja enamik liike ka vesinikku ning talub kõrget atsetaadi- ja ammoniaagisisaldust ning soolsust märksa paremini, mis on talle toonud raske koormusega biometaanitootmise metanogeeni nimetuse (De Vrieze et al. 2012; Oren 2014). Tööstuslike kääritite uuringus puudus *Methanothrix* reaktoritest, kus ammoniaagi ja lenduvate rasvhapete sisaldus oli kõrge, ning neis domineeris *Methanosarcina* (Karakashev, Batstone, ja Angelidaki 2005).

Mitu *Methanosarcina* sugulast (*Methanolobus*, *Methanococcoides*, *Methanomethylovorans*) kannavad suurt osa samast masinavärgist, kuid atsetaadil ei kasva. Seetõttu omistab raport atsetaadi raja perekonna järgi, mitte ainult geenide põhjal.

Just sellel eristusel näidisraport põhinebki. Jaam A kannab oma atsetaadi rada liigil *Methanothrix soehngenii*, mis moodustab 3,7 % kaardistatud lugemitest: arvukas, tõhus ja ammoniaagitundlik. Jaamas B toimib atsetaadi rada liigil *Methanosarcina flavescens*, ja seda 0,49 % kaardistatud lugemite juures: vähene, kuid perekonnast, mis talub seda, mis jaama A oma peataks.

KUI ATSETAAT LÄHEB RINGIGA

Kõrge ammoniaagisisalduse korral on atsetaadi lõhustajad pärsitud, kuid atsetaat ei hakka lihtsalt kogunema. Süntroofsed bakterid oksüdeerivad selle vesinikuks ja CO_2-ks ning hüdrogenotroofsed metanogeenid muudavad need metaaniks (Schnürer ja Nordberg 2008; Westerholm, Moestedt, ja Schnürer 2016). Metaan tuleb endiselt atsetaadist, kuid vesiniku raja kaudu, ja koostöö sõltub sellest, et vesiniku sisaldus püsiks madal, mistõttu on see aeglasem ja vähem andestav kui atsetaadi otsene lõhustamine (Westerholm, Moestedt, ja Schnürer 2016).

Kooslus, mille atsetaadi rada on õhuke ja mille metanogeenid on valdavalt *Methanoculleus*, sobib seega kokku reaktoriga, mis töötab sel viisil.

METÜÜLI RADA

Metülotroofsed metanogeenid toodavad metaani metanoolist, metüülamiinidest ja metüülitud sulfiididest (Söllinger ja Urich 2019). Kääritis pärinevad need söödast: metanool pektiini demetüülimisest, metüülamiinid koliini, betaiini ja sarnaste ühendite lagunemisest (Söllinger ja Urich 2019). Tavaliselt on selle raja osa metaanist väike,

kuid seda kandvad organismid on mitmekesisemad kui kummagi teise raja puhul.

Kahte tüüpi tasub eristada. Mõned *Methanosarcinales* lõhustavad metüülühendeid iseseisvalt, nende hulgas *Methanosarcina* ise ning ainult metüülühenditel kasvavad *Methanolobus*, *Methanococcoides* ja *Methanomethylovorans* (Oren 2014). Teised redutseerivad metüülrühmi vesiniku abil ega saa metaani muul viisil toota: *Methanomassiliicoccales* (Lang et al. 2015), *Methanosphaera* (Fricke et al. 2006), *Methanofastidiosa* (Nobu et al. 2016) ja *Verstraetearchaeota* (Vanwonterghem et al. 2016). Need mikroobid tarbivad vesinikku, kuid ei suuda CO_2 redutseerida, nii et raport loetleb nad metüüli raja all; vesiniku pärast konkureerivad nad siiski hüdrogenotroofidega. *Methanogranum*, mis kannab näidisraporti jaamas A metüüli rada, kuulub seltsi *Methanomassiliicoccales*.

Metüülamiinide kasutamine sõltub pürrolüsiinist, aminohappest, mida kodeerib koodon, mis tavaliselt tähendab „stopp“. Geenide ennustamise tarkvara, mis seal peatub, lõikab geeni kaheks, ja see on üks põhjus, miks meie analüüs ennustab geenid ise.

KUIDAS RAPORTI NIMESID LUGEDA

PEREKOND	RADA	MIDA SEE TAVALISELT TÄHENDAB
Methanothrix	atsetaat	stabiilne reaktor, vähe atsetaati; ammoniaagitundlik
Methanocrinis	atsetaat	endine *Methanothrix harundinacea*; kääritite atsetaadispetsialist
Methanosarcina	atsetaat, metüül, enamik liike vesinik	talub atsetaati, ammoniaaki ja soola; kasvab kiiresti
Methanoculleus	vesinik	sage ammoniaagirikastes reaktorites; atsetaadi oksüdeerijate partner
Methanobacterium, *Methanothermobacter*	vesinik	vesiniku tarbijad; viimane termofiilne
Methanocorpusculum, *Methanospirillum*	vesinik	vesiniku tarbijad
Methanomassiliicoccales (nt *Methanogranum*)	metüül, vesinikuga	metüülühendid söödas

Tabel 1: Metanogeenid, keda kääriti raport tõenäoliselt nimetab, iga perekonna rada ja selle esinemise tavapärane tõlgendus. Suundumused, mitte reeglid.

Üks nimi otsustab harva midagi. Oluline on kombineerida infot: milline perekond iga rada kannab, kui palju seda on ja kas rada toetub ühele genoomile või mitmele. Reaktor, mille atsetaadi rada toetub ühele ammoniaagitundlikule genoomile, on teistsuguses olukorras kui see, kus rada kannab tolerantne perekond, isegi kui mõlemad toodavad täna sama palju gaasi.

KIRJANDUS

De Vrieze, Jo, Tom Hennebel, Nico Boon, ja Willy Verstraete. 2012. „Methanosarcina: The rediscovered methanogen for heavy duty biomethanation“. *Bioresource Technology* 112: 1–9. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.079.

Demirel, Burak, ja Paul Scherer. 2008. „The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review“. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 7 (2): 173–90. https://doi.org/10.1007/s11157-008-9131-1.

Evans, Paul N., Joel A. Boyd, Andy O. Leu, Ben J. Woodcroft, Donovan H. Parks, Philip Hugenholtz, ja Gene W. Tyson. 2019. „An evolving view of methane metabolism in the Archaea“. *Nature Reviews Microbiology* 17 (4): 219–32. https://doi.org/10.1038/s41579-018-0136-7.

Fricke, W. F., H. Seedorf, A. Henne, M. Krüer, H. Liesegang, R. Hedderich, G. Gottschalk, ja R. K. Thauer. 2006. „The genome sequence of *Methanosphaera stadtmanae* reveals why this human intestinal archaeon is restricted to methanol and H2 for methane formation and ATP synthesis“. *Journal of Bacteriology* 188 (2): 642–58. https://doi.org/10.1128/JB.188.2.642-658.2006.

Jetten, M. S. M., A. J. M. Stams, ja A. J. B. Zehnder. 1992. „Methanogenesis from acetate: a comparison of the acetate metabolism in *Methanothrix soehngenii* and *Methanosarcina* spp.“ *FEMS Microbiology Reviews* 8 (3-4): 181–98. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb04987.x.

Karakashev, Dimitar, Damien J. Batstone, ja Irini Angelidaki. 2005. „Influence of Environmental Conditions on Methanogenic Compositions in Anaerobic Biogas Reactors“. *Applied and Environmental Microbiology* 71 (1): 331–38. https://doi.org/10.1128/aem.71.1.331-338.2005.

Khomyakova, M. A., A. Y. Merkel, A. I. Slobodkin, ja D. Y. Sorokin. 2023. „Phenotypic and genomic characterization of the first alkaliphilic aceticlastic methanogens and proposal of a novel genus *Methanocrinis* gen. nov. within the family *Methanotrichaceae*“. *Frontiers in Microbiology* 14: 1233691. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1233691.

Lang, Kristina, Jörg Schuldes, Andreas Klingl, Anja Poehlein, Rolf Daniel, ja Andreas Brune. 2015. „New Mode of Energy Metabolism in the Seventh Order of Methanogens as Revealed by Comparative Genome Analysis of ‘Candidatus Methanoplasma termitum’“. Toimetanud M. A. Elliot. *Applied and Environmental Microbiology* 81 (4): 1338–52. https://doi.org/10.1128/aem.03389-14.

Liu, Yuchen, ja William B. Whitman. 2008. „Metabolic, Phylogenetic, and Ecological Diversity of the Methanogenic Archaea“. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1125 (1): 171–89. https://doi.org/10.1196/annals.1419.019.

Maus, Irena, Daniel Wibberg, Anika Winkler, Alfred Pühler, Anna Schnürer, ja Andreas Schlüter. 2016. „Complete Genome Sequence of the Methanogen Methanoculleus bourgensis BA1 Isolated from a Biogas Reactor“. *Genome Announcements* 4 (3). https://doi.org/10.1128/genomea.00568-16.

Nobu, M. K., T. Narihiro, K. Kuroda, R. Mei, ja W.-T. Liu. 2016. „Chasing the elusive *Euryarchaeota* class WSA2: genomes reveal a uniquely fastidious methyl-reducing methanogen“. *The ISME Journal* 10 (10): 2478–87. https://doi.org/10.1038/ismej.2016.33.

Oren, A. 2014. „The Family *Methanosarcinaceae*“. *The Prokaryotes: Other Major Lineages of Bacteria and The Archaea*, 259–81. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-38954-2_408.

Schnürer, A., ja Å. Nordberg. 2008. „Ammonia, a selective agent for methane production by syntrophic acetate oxidation at mesophilic temperature“. *Water Science and Technology* 57 (5): 735–40. https://doi.org/10.2166/wst.2008.097.

Smith, K. S., ja C. Ingram-Smith. 2007. „*Methanosaeta*, the forgotten methanogen?“ *Trends in Microbiology* 15 (4): 150–55. https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.02.002.

Söllinger, Andrea, ja Tim Urich. 2019. „Methylotrophic methanogens everywhere — physiology and ecology of novel players in global methane cycling“. *Biochemical Society Transactions* 47 (6): 1895–1907. https://doi.org/10.1042/bst20180565.

Thauer, Rudolf K., Anne-Kristin Kaster, Henning Seedorf, Wolfgang Buckel, ja Reiner Hedderich. 2008. „Methanogenic archaea: ecologically relevant differences in energy conservation“. *Nature Reviews Microbiology* 6 (8): 579–91. https://doi.org/10.1038/nrmicro1931.

Vanwonterghem, I., P. N. Evans, D. H. Parks, P. D. Jensen, B. J. Woodcroft, P. Hugenholtz, ja G. W. Tyson. 2016. „Methylotrophic methanogenesis discovered in the archaeal phylum *Verstraetearchaeota*“. *Nature Microbiology* 1 (12): 16170. https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.170.

Wang, Han, Ioannis A. Fotidis, ja Irini Angelidaki. 2015. „Ammonia effect on hydrogenotrophic methanogens and syntrophic acetate-oxidizing bacteria“. *FEMS Microbiology Ecology* 91 (11):

fiv130. https://doi.org/10.1093/femsec/fiv130.
Westerholm, Maria, Jan Moestedt, ja Anna Schnürer. 2016. „Biogas production through syntrophic acetate oxidation and deliberate operating strategies for improved digester performance“. *Applied Energy* 179 (oktoober): 124–35. https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.06.061.