

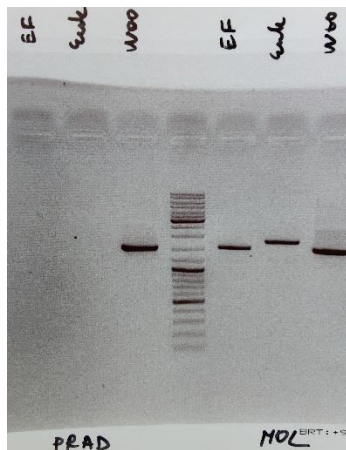
2025 m. kovo 3 d.

Mokslinio tyrimo „Bakterijų identifikavimas probiotiniame gėrime“ ataskaita

Užsakovas tyrimui pateikė du mėginius: pirminį mišinį, kuris yra naudojamas visų jų gaminamų produktų tolimesnėje fermentacijoje (toliau ataskaitoje vadinamas PRAD), bei galutinį produktą - moliūgų skonio „Fermentuotas probiotinis enzymų koncentratas“ (toliau ataskaitoje vadinamas MOL). Šio darbo tikslas buvo genetiniais metodais įvertinti šių mėginių mikrobiologinę sudėtį.

Mėginiuose esančios mikroorganizmų ląstelės buvo surinktos centrifuguojant (15 ml PRAD ir 50 ml MOL).

Po centrifugavimo, iš gautų nuosėdų buvo išskirta suminė DNR. Siekiant išsiaiškinti, ar tiriamuose mėginiuose buvo tik bakterijų, ar ir mielių bei grybelių, gauta DNR buvo pagausinta PGR būdu, naudojant 16S (woo) bei 18S rRNR (EF ir Euk) genams specifines pradmenų poras.



1 pav. PGR produktų elektroforetinė analizė 1 % agarozės gelyje.

PRAD atveju PGR produktas susidarė tik 16S atveju, o MOL produktas buvo stebimas visuose trijuose variantuose (1 pav.). Iš to galima daryti išvadą, kad PRAD mėginyje buvo tik bakterijos, o MOL – be bakterijų buvo ir mielių arba grybelių.

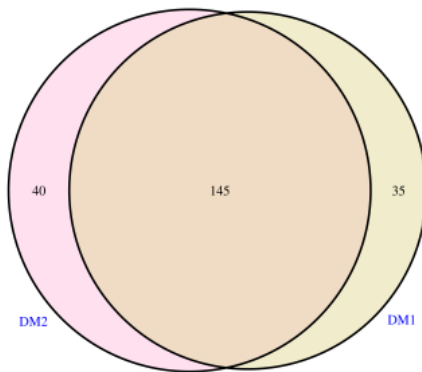
Siekiant įdentifikuoti visus mėginiuose esančius mikroorganizmus, toliau suminė DNR buvo tirama Azenta Life Sciences kompanijoje.

Svarbu pabrėžti, kad naudojamas metodas nėra skirtas tiksliam kiekybiniam mikroorganizmų įvertinimui mėginiuose, tačiau jei konkrečių bakterijų mėginyje daugiau, iš jų DNR išskiriame daugiau, ir polimerazė nuo jos susintetins daugiau, sekoskaitos duomenyse šias bakterijas taip pat turėtumėme aptikti dažniau.

Naudodami PRAD (Azentos ataskaitoje DM1) ir MOL (Azentos ataskaitoje DM2) mėginius jie PGR būdu padaugino 16S rRNR genų variabilius regionus, atliko sekoskaitą Illumina MiSeq įrankiu, bei atliko bioinformatinę analizę.

Atlikus DM1 ir DM2 sekoskaitos duomenų bioinformatinę analizę, buvo išskirta 220 skirtingų OTU (**O**perational **t**axonomic **u**nit, t. y. grupės, turinčios panašų 16S rDNR markerių rinkinį) ir palygino tiriamus mėginius tarpusavyje (1 lentelė).

Iš Veno diagramos matome, kad didžioji dalis bakterijų abiejuose mėginiuose persidengia, t.y. sutampa (2 pav.), DM1 buvo aptikta 35, o DM2 – 40 unikalių OTU.



2 pav. Veno diagrama vaizduojanti OTU pasiskirstymą DM1 ir DM2 grupėse.

Analizė parodė, kad abiejuose mėginiuose absoliučiai dominavo *Lactobacillus* genties bakterijos: *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus zeae* bei dar didelė dalis laktobakterijų, kurių šiuo bioinformatinės analizės įrankiu nepavyko priskirti konkrečiai rūšiai (žr. 3 ir 4 pav.).

Mėginiuose taip pat buvo aptikta ir *Rhodobacter*, *Roseiflexus*, *Bacillus*, *Staphylococcus* bei *Acetobacter* genčių atstovų. Lyginant su laktobacilomis, kitų bakterijų mėginiuose buvo ženkliai mažiau (aptikta 150000 laktobaciloms giminingų sekų, o kitų dažnesnių bakterijų maždaug 200-400).

Visų šių išvardintų bakterijų genčių (kurių buvo aptikta ženklesni kiekiai) OTU panašus skaičius buvo aptiktas ir DM1, ir DM2. OTU10 atvejis išskirtinis – buvo stebimas ženklus *Oenococcus oeni* bakterijų kiekio sumažėjimas, ar net išnykimas, lyginant PRAD ir MOL mėginius tarpusavyje (žr. 3 pav.).

AZENTA NGS DATA REPORT

OTU_ID	DM1	DM2	taxonomy
OTU1	170,373	11,403	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae
OTU10	6,619	14	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Leuconostocaceae;g__Oenococcus;s__
OTU100	20	17	k__Bacteria;p__Bacteroidetes;c__[Saprospirae];o__[Saprospirales];f__Chitinophagaceae;g__s__
OTU101	5	7	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhodospirillales;f__Rhodospirillaceae;g__
OTU102	1	0	k__Bacteria
OTU103	4	1	k__Bacteria;p__Bacteroidetes;c__Sphingobacteriia;o__Sphingobacteriales;f__g__s__
OTU104	16	17	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Comamonadaceae;g__
OTU105	2	0	k__Bacteria;p__Chloroflexi;c__Anaerolineae;o__Caldilineales;f__Caldilineaceae;g__Caldilinea;s__
OTU106	6	4	k__Bacteria;p__Nitrospirae;c__Nitrospira;o__Nitrospirales;f__Nitrospiraceae;g__Nitrospira;s__
OTU107	50	54	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhodobacterales;f__Rhodobacteraceae
OTU108	2	0	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonada
OTU109	16	6	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae
OTU11	13	11	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rickettsiales;f__mitochondria
OTU110	3	9	k__Bacteria;p__Chloroflexi;c__Chloroflexi;o__Chloroflexales;f__Chloroflexaceae
OTU111	3	0	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae
OTU112	164	188	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Bacillales;f__Staphylococcaceae;g__Staphylococcus;s__au
OTU113	6	6	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Sphingomonadales;f__Sphingomonada
OTU114	17	2	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae
OTU115	3	0	k__Bacteria
OTU116	3	0	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales
OTU117	9	0	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae
OTU118	12	15	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rickettsiales;f__mitochondria
OTU119	3	0	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Legionellales;f__g__s__
OTU12	16	9	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rickettsiales;f__mitochondria
OTU120	5	4	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonada
OTU121	3	0	k__Bacteria
OTU122	54	77	k__Bacteria;p__Chloroflexi;c__Anaerolineae;o__Caldilineales;f__Caldilineaceae;g__s__
OTU123	16	1	k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Bifidobacteriales;f__Bifidobacteriaceae;g__s__
OTU124	4	0	k__Bacteria;p__Bacteroidetes;c__Flavobacteriia;o__Flavobacteriales;f__Flavobacteriaceae;g__Flavi
OTU125	5	4	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae
OTU126	3	0	k__Bacteria;p__Acidobacteria;c__[Chloracidobacteria];o__RB41;f__Ellin6075;g__s__
OTU127	2	0	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Deltaproteobacteria;o__Myxococcales
OTU128	3	0	k__Bacteria
OTU129	14	4	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Pseudomonad
OTU13	20	0	k__Bacteria
OTU130	101	69	k__Bacteria;p__Bacteroidetes;c__[Saprospirae];o__[Saprospirales];f__Saprospiraceae;g__s__
OTU131	4	6	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhodospirillales;f__Rhodospirillaceae;g__
OTU132	3	0	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Deltaproteobacteria;o__Bdellovibrionales;f__Bdellovibrionaceae
OTU133	27	10	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae
OTU134	4	0	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Phyllobacteriaceae
OTU135	14	16	k__Bacteria;p__Chlorobi;c__SJA-28;o__f__g__s__
OTU136	24	26	k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Acidimicrobiia;o__Acidimicrobiales;f__Microthrixaceae;g__Cand
OTU137	2	0	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Bradyrhizobiaceae;g__Br
OTU138	51	35	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Clostridiaceae;g__SMB53;s__
OTU139	4	2	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rickettsiales;f__mitochondria

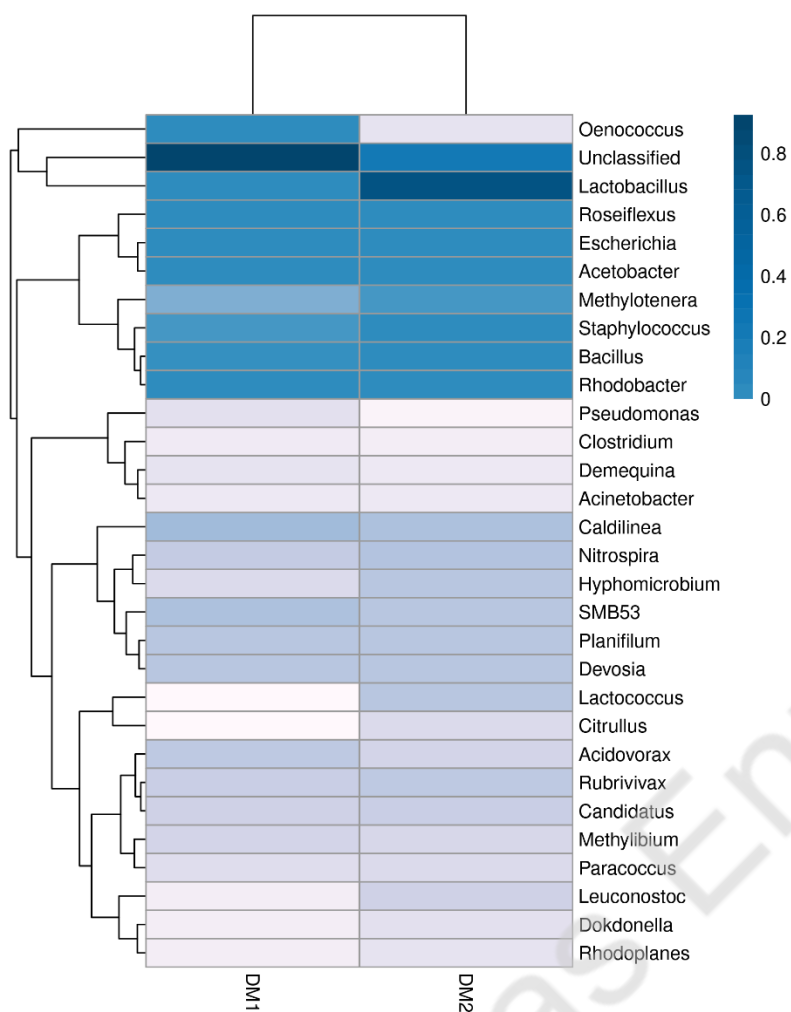
OTU_ID	DM1	DM2	taxonomy
OTU14	2	4	k_Bacteria
OTU140	37	34	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Thermoactinomyetaceae;g_Planifilum;s__
OTU141	18	19	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae
OTU142	12	5	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;f_Moraxellaceae
OTU143	17	0	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU144	4	0	k_Bacteria;p_Bacteroidetes
OTU145	3	0	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria
OTU146	0	3	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria
OTU147	0	3	k_Bacteria
OTU148	0	16	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU149	26	28	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g__
OTU15	3	424	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus;s_b
OTU150	1	80	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus;s_z
OTU151	0	32	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Streptococcaceae;g_Lactococcus;s__
OTU152	0	3	k_Bacteria
OTU153	0	3	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria
OTU154	0	3	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_Oscillospira;s__
OTU155	0	3	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU156	0	15	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae
OTU157	0	22	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriac
OTU158	21	36	k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales;f_Nitrospiraceae;g_Nitrospira;s__
OTU159	2	49	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU16	2	1,604	k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Chloroplast;o_Streptophyta;f_g_s__
OTU160	0	3	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria
OTU161	5	10	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g__
OTU162	1	87	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU163	12	15	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae
OTU164	6	4	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Nitrosomonadales;f_Nitrosomonadace
OTU165	0	106	k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Chloroplast;o_Streptophyta;f_g_s__
OTU166	1	7	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Roseburia
OTU167	4	7	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae;g_Zc
OTU168	46	285	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU169	0	30	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus;s__
OTU17	407	404	k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Chloroflexi;o_Roseiflexales;f_Roseiflexaceae;g_Roseiflexus;s__
OTU170	0	3	Unclassified
OTU171	0	3	k_Bacteria
OTU172	0	21	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU173	0	3	Unclassified
OTU174	0	4	k_Bacteria
OTU175	7	9	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales;f_Bifidobacteriaceae;g_Bif
OTU176	0	3	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU177	0	77	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus;s_z
OTU178	8	11	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Alteromonadales;f_125ds10;g_s__
OTU179	5	7	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales
OTU18	11	0	k_Bacteria
OTU180	6	187	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU181	1	6	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacteriales;f_Caulobacteraceae;g

OTU_ID	DM1	DM2	taxonomy
OTU182	0	4	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria
OTU183	8	10	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae
OTU184	0	5	k_Bacteria
OTU185	26	30	k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Caldilineales;f_Caldilineaceae
OTU186	3	44	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales
OTU187	0	14	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales
OTU188	14	57	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae
OTU189	9	14	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_L
OTU19	2	5	k_Bacteria
OTU190	2	4	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Xanthomonada
OTU191	2	4	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_L
OTU192	0	3	k_Bacteria
OTU193	4	6	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_[Chloracidobacteria];o_RB41;f_Ellin6075;g_s_
OTU194	0	6	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobia;o_Acidimicrobiales;f_g_s_
OTU195	116	1,983	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU196	4	188	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU197	0	27	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales
OTU198	0	3	k_Bacteria
OTU199	0	3	k_Bacteria
OTU2	475	534	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria
OTU20	229	227	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae
OTU200	18	19	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae
OTU201	0	4	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU202	0	9	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria;g_Carica
OTU203	23	19	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales
OTU204	0	3	k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Chloroflexi;o_[Roseiflexales];f_[Kouleothrixaceae]
OTU205	0	3	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus;s_z
OTU206	0	15	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriac
OTU207	1	9	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Streptococcaceae;g_Streptococcus;s_
OTU208	4	8	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales
OTU209	4	4	k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Thermomicrobia;o_JG30-KF-CM45;f_g_s_
OTU21	14	0	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Leuconostocaceae;g_Oenococcus;s_
OTU210	25	17	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_[Saprospirae];o_[Saprospirales];f_Saprospiraceae;g_s_
OTU211	0	6	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae
OTU212	5	7	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_L
OTU213	0	4	k_Bacteria
OTU214	1	6	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria
OTU215	8	16	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Xanthomonada
OTU216	2	5	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Rhodospirillaceae;g
OTU217	12	11	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;f_Moraxellaceae
OTU218	16	16	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_HOC36;f_g_s_
OTU219	0	4	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae
OTU22	75	67	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Intrasporangiaceae
OTU220	0	4	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus;s_z
OTU23	218	214	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus;s_
OTU24	59	53	k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Caldilineales;f_Caldilineaceae;g_Caldilinea;s_
OTU25	206	75	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Acetobacteraceae;g

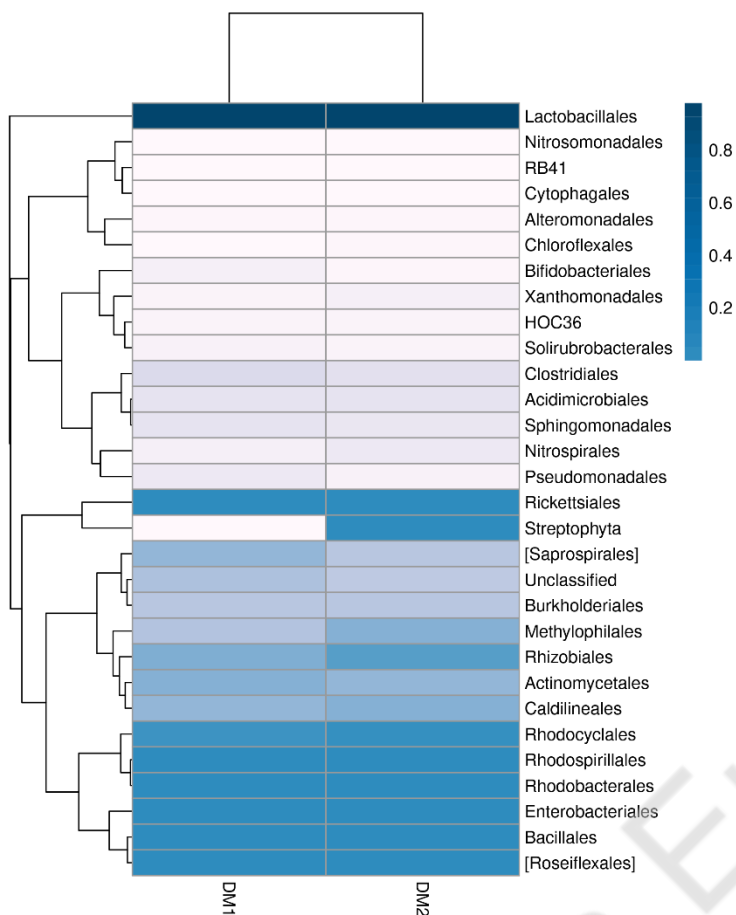
OTU_ID	DM1	DM2	taxonomy
OTU26	111	163	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Methylophilales;f_Methylophilaceae;g_
OTU27	2	7	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria
OTU28	7	7	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_
OTU29	14	3	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae
OTU3	490	465	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria
OTU30	185	232	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus;s_
OTU31	66	77	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae
OTU32	68	1	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU33	19	17	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales
OTU34	23	17	k_Bacteria;p_TM7;c_TM7-1;o_f_g_s_
OTU35	2,850	164	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae
OTU36	4	0	Unclassified
OTU37	274	330	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriac
OTU38	112	110	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae
OTU39	241	310	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriac
OTU4	2,878	55,860	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus;s_z
OTU40	16	17	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales
OTU41	26	20	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU42	2	0	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus;s_d
OTU43	3	0	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria
OTU44	2	20	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus;s_z
OTU45	3	149	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU46	0	6	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae
OTU47	2	10	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU48	3	84	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus;s_
OTU49	0	26	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae
OTU5	5,993	28,702	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales
OTU50	882	32,450	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU51	1	84	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus;s_
OTU52	1	20	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria;g_Citru
OTU53	8	24	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Leuconostocaceae;g_Leuconostoc
OTU54	2	14	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales
OTU55	0	36	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus
OTU56	11	11	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria
OTU57	3	0	k_Bacteria;p_TM6;o_SJA-4;o_S1198;f_g_s_
OTU58	13	7	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Kineosporiaceae;g_s_
OTU59	18	14	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophilia;o_Solirubrobacterales;f_g_s_
OTU6	26	33	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rickettsiales;f_mitochondria
OTU60	426	11	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae
OTU61	79	82	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales
OTU62	6	3	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Kiloniellales;f_g_s_
OTU63	29	23	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_
OTU64	21	14	k_Bacteria;p_TM7;c_TM7-1;o_f_g_s_
OTU65	22	1	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae
OTU66	27	17	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobia;o_Acidimicrobiales;f_g_s_
OTU67	116	131	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Enterococcaceae
OTU68	20	15	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_g_s_

OTU_ID	DM1	DM2	taxonomy
OTU69	7	8	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae
OTU7	22	24	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rickettsiales;f__mitochondria
OTU70	5	6	k__Bacteria;p__Bacteroidetes;c__Cytophagia;o__Cytophagales;f__Cytophagaceae;g__Leadbetterel
OTU71	14	12	k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Cellulomonadaceae;g__D
OTU72	61	194	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhodospirillales;f__Acetobacteraceae;g
OTU73	75	86	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Carnobacteriaceae
OTU74	4	1	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Sphingomonadales;f__Sphingomonada
OTU75	2	0	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Pseudomonad
OTU76	5	7	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rickettsiales;f__mitochondria
OTU77	3	0	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rickettsiales;f__mitochondria
OTU78	7	4	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Comamonadaceae;g
OTU79	3	2	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rickettsiales;f__mitochondria
OTU8	1,455	38,052	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae;g__Lactobacillus
OTU80	3	0	k__Bacteria;p__Chloroflexi;c__Anaerolineae;o__Caldilineales;f__Caldilineaceae;g__Caldilinea;s__
OTU81	13	60	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae;g__Lactobacillus;s__z
OTU82	14	26	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Hyphomicrobiaceae;g__l
OTU83	5	2	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Comamonadaceae
OTU84	10	9	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Clostridiaceae;g__Clostridium
OTU85	2	0	k__Bacteria;p__Chlamydiae;c__Chlamydia;o__Chlamydiales;f__Parachlamydiaceae
OTU86	1	1	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rickettsiales;f__mitochondria
OTU87	27	60	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae;g__s__
OTU88	20	2	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae;g__Lactobacillus
OTU89	7	10	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__g__s__
OTU9	186	19,243	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae;g__Lactobacillus
OTU90	16	0	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae;g__Lactobacillus
OTU91	30	34	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Hyphomicrobiaceae;g__l
OTU92	8	0	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pasteurellales;f__g__s__
OTU93	18	22	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Bacilli;o__Lactobacillales
OTU94	20	23	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Sphingomonadales;f__Sphingomonada
OTU95	5	6	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Phyllobacteriaceae
OTU96	3	1	k__Bacteria;p__TM7;c__TM7-3;o__EW055;f__g__s__
OTU97	2	0	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rickettsiales;f__mitochondria
OTU98	3	0	Unclassified
OTU99	3	0	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Sphingomonadales;f__Sphingomonada

1 lentelė. Bendra visų DM1 ir DM2 mėginiuose aptiktų OTU suvestinė



3 pav. TOP30 dažniausiai aptiktų genčių dažnių pasiskirstymas DM1 ir DM2 grupėse (tamsiai mėlyna dažniausia).



4 pav. TOP30 dažniausiai aptiktų eilių dažnių pasiskirstymas DM1 ir DM2 grupėse (tamsiai mėlyna dažniausia).

MOL mėginys analogiškai buvo analizuojamas ir 18S rRNR atžvilgiu. Jame buvo aptikta *Saccharomyces cerevisiae* mielių. Kadangi PRAD mėginyje mielių neaptikome, tai greičiausiai jos į produktą pateko nuo daržovių paviršiaus (ar iš kitų priedų).

AZENTA NGS DATA REPORT

OTU_ID	DM3	taxonomy
OTU1	623,868	k__Fungi;p__Ascomycota;c__Saccharomycetes;o__Saccharomycetales;f__Saccharomycetaceae;g__Saccha
OTU10	11	k__Fungi
OTU11	10	k__Fungi
OTU12	24	k__Fungi
OTU13	51	k__Fungi
OTU14	9	k__Fungi
OTU15	9	k__Fungi
OTU16	8	k__Fungi
OTU17	7	k__Fungi
OTU18	21	k__Fungi
OTU19	11	k__Fungi
OTU2	1,501	k__Fungi
OTU20	5	k__Fungi
OTU21	6	k__Fungi
OTU22	4	k__Fungi
OTU23	34	k__Fungi
OTU24	6	k__Fungi
OTU25	4	k__Fungi
OTU26	4	k__Fungi
OTU27	4	k__Fungi
OTU28	15	k__Fungi
OTU29	4	k__Fungi
OTU3	1,319	k__Fungi
OTU30	40	k__Fungi;p__Ascomycota;c__Saccharomycetes;o__Saccharomycetales;f__Pichiaceae;g__Dekkera;s__Dekke
OTU31	7	k__Fungi
OTU32	7	k__Fungi
OTU33	11	k__Fungi
OTU34	7	k__Fungi
OTU35	13	k__Fungi
OTU36	7	k__Fungi;p__Ascomycota;c__Saccharomycetes;o__Saccharomycetales;f__Pichiaceae;g__Pichia
OTU37	15	k__Fungi
OTU38	114	k__Fungi
OTU39	5	k__Fungi
OTU4	639	k__Fungi
OTU40	42	k__Fungi
OTU41	3	k__Fungi
OTU42	3	k__Fungi
OTU43	3	k__Fungi
OTU44	11	k__Fungi
OTU45	3	k__Fungi
OTU46	15	k__Fungi

2 lentelė. Bendra visų DM3 mėginiuose aptiktų OTU suvestinė (čia pateiktas tik pirmas puslapis, kadangi kituose nebuvo reikšmingų duomenų)

Iš PRAD ir MOL mėginių išskirta suminė DNR buvo pagausinta PGR reakcija naudojant 16S rDNR komplementarius pradmenis, amplikono sekoskaita atlikta naudojant Nanopore technologiją, sekoskaitos duomenys buvo apdoroti EDGE bioinformatics įrankį.

2 lentelėje pateikti pirmi 10 dažniausiai pasitaikę variantai. 1 – dažniausias, Žalia spalva pažymėti variantai, kurie abiejuose mėginiuose pateko į pirmą dešimtuką.

	DM1/PRAD	DM2/MOL
1.	<i>Lentilactobacillus parabuchneri</i>	<i>Lentilactobacillus hilgardii</i>
2.	<i>Oenococcus oeni</i>	<i>Schleiferilactobacillus harbinensis</i>
3.	<i>Schleiferilactobacillus harbinensis</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
4.	<i>Lentilactobacillus buchneri</i>	<i>Lentilactobacillus parabuchneri</i>
5.	<i>Lentilactobacillus hilgardii</i>	<i>Lacticaseibacillus zeae</i>
6.	<i>Lentilactobacillus kefir</i>	<i>Lentilactobacillus curieae</i>
7.	<i>Lentilactobacillus curieae</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
8.	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	<i>Liquorilactobacillus nagelii</i>
9.	<i>Acetilactobacillus jinshanensis</i>	<i>Lentilactobacillus buchneri</i>
10.	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>

3 lentelė

Nanopore sekvenavimo duomenys patvirtina, kad užsakovo produkte dominuoja *Lactobacillus* genties bakterijos. Be to dar kartą stebime, kad *Oenococcus oeni* bakterijos fermentacijos metu išnyksta. Greičiausiai joms netinka fermentacijos sąlygos, arba jos yra "nukonkuruojamos" kitų sparčiau besidauginančių bakterijų.