

Mikroorganismen und Klimawandel

Archaeen im globalen Methanzyklus

CORNELIA WELTE

RADBOUD UNIVERSITY, NIJMEGEN, NIEDERLANDE

VAAM-Forschungspreis 2022

Methane is a potent greenhouse gas, contributing considerably to global warming. The emission of methane is governed by the balance of the activity of methanogenic archaea producing methane, and methanotrophic bacteria and archaea oxidizing it. A deeper understanding of the interactions between these microbial groups as well as their physiology and biochemistry will aid in a better comprehension of the global methane cycle and eventually contribute to mitigation of climate change.

DOI: 10.1007/s12268-022-1753-2

© Die Autorin 2022

■ Treibhausgase wie Kohlendioxid, Methan und Lachgas werden in immer größerem Umfang in die Atmosphäre freigesetzt und treiben damit den Klimawandel an. Die Emission von Methan ist dabei im Vergleich zu Kohlendioxid gering, allerdings trägt es durch seine etwa 28fach stärkere Treibhauswirkung insgesamt etwa 16 Prozent zur menschengemachten Erderwärmung bei. Zusätzlich verweilt Methan relativ kurz in der Atmosphäre – gut zwölf Jahre – und ist des-

halb ein attraktives Ziel für die Klimapolitik, da eine Verringerung des Methanausstoßes innerhalb einer geologisch relativ kurzen Zeitspanne zu einer Verringerung des Treibhauseffekts führen könnte.

Methan entsteht in sauerstofffreien Habitaten, wie beispielsweise Mooren und anderen Feuchtgebieten, dem Wiederkäuermagen oder Biogasanlagen durch die Aktivität von methanogenen Archaeen. Sie setzen Essigsäure, Kohlendioxid und Wasserstoff oder

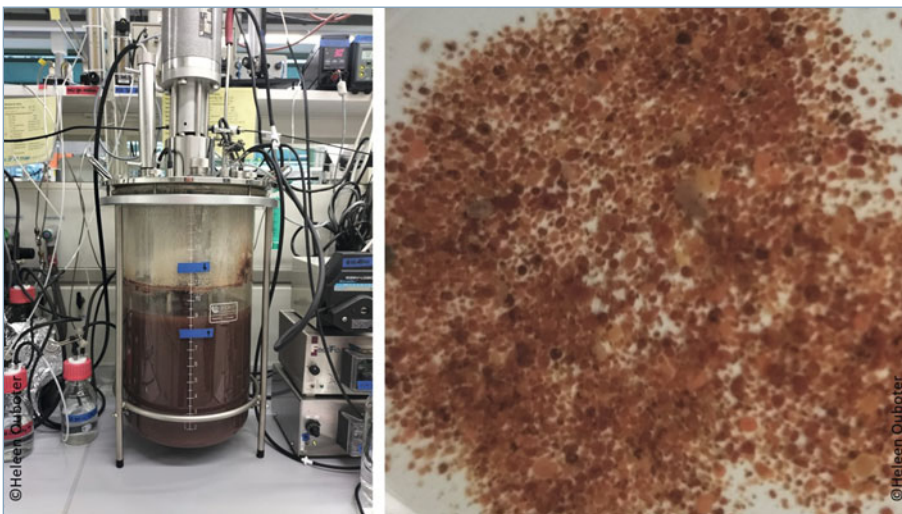
methylierte Verbindungen wie Methanol um. Vor allem in Redox-zonierten Sedimenten wie Reisfeldern, Sümpfen und dem Meeresboden setzen anaerobe und aerobe methanoxidierende (methanotrophe) Mikroorganismen einen Teil dieses Methans noch im Sediment zu Kohlendioxid um.

Aerobe methanotrophe Bakterien sind seit über 100 Jahren bekannt und stehen seitdem im Fokus zahlreicher Studien. Anaerobe methanotrophe Bakterien und Archaeen sind jedoch erst seit etwa 20 Jahren bekannt [1, 2]. Sie werden bisher nur in wenigen Laboren weltweit in Mischkulturen kultiviert, da es noch niemandem gelungen ist, eine Reinkultur dieser anspruchsvollen Mikroorganismen zu erhalten.

Anaerobe methanotrophe Bakterien und Archaeen

Inzwischen wurden verschiedene Gruppen von anaeroben, unter Sauerstoffausschluss lebenden, methanoxidierenden Mikroorganismen entdeckt. Am längsten sind hierbei die anaeroben methanotrophen (ANME) Archaeen bekannt, die Methan in Syntrophie mit sulfatreduzierenden Bakterien abbauen und hauptsächlich am Meeresboden leben. An der Radboud-Universität interessieren wir uns vor allem für anaerobe methanotrophe Mikroorganismen, die andere Elektronenakzeptoren verwenden, beispielsweise Nitrat, Nitrit oder Eisen [3]. Anaerobe methanotrophe Mikroorganismen, die diese chemischen Stoffe benötigen, finden sich zwar kaum am Meeresboden, dafür aber in Böden von Küsten, Kanälen, Seen und verschiedenen anderen terrestrischen Feuchtgebieten.

Die bisher identifizierten anaeroben methanotrophen Bakterien gehören zur Gattung *Methylomirabilis* und nutzen ausschließlich Nitrit als Elektronenakzeptor. Dabei reduzieren diese Bakterien Nitrit mit Elektronen aus der Methanoxidation zu Stickstoffmonoxid, das wiederum ein unbekanntes Enzym zu Sauerstoff und Stickstoff umwandelt. Der Sauerstoff wird intrazellulär genutzt, um den ersten Schritt der Methanoxidation durch das



▲ **Abb. 1:** Links: Bioreaktor zur Kultivierung von schwer kultivierbaren anaeroben methanotrophen Archaeen, die in Mischkultur mit verschiedenen Bakterien wachsen. Rechts: Detailansicht der granulierten Biomasse, die sich durch die große Menge an *c*-Typ-Cytochromen in den anaeroben methanotrophen Archaeen rot färbt.

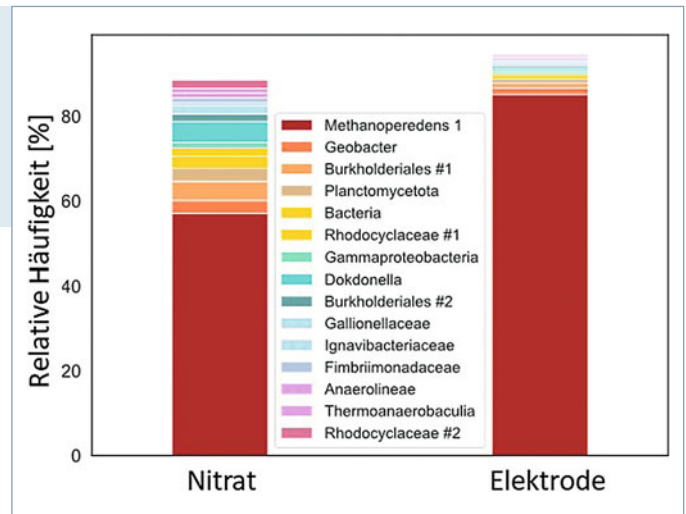
► **Abb. 2:** Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft im Bioreaktor (links, mit Nitrat als Elektronenakzeptor) und im bioelektrochemischen System (rechts, mit Elektrode als Elektronenakzeptor). Die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft ist ausgedrückt als *coverage* von Metagenom-assemblierten Genomen (MAGs). Nicht dargestellt sind MAGs, die weniger als ein Prozent der mikrobiellen Gemeinschaft ausmachen.

Enzym Methan-Monooxygenase zu katalysieren. Alle anderen bekannten anaeroben methanotrophen Mikroorganismen sind Archaeen, die keine Methan-Monooxygenase besitzen, und stattdessen das Schlüsselenzym der Methanogenese, Methyl-CoM-Reduktase, in seiner umgekehrten Reaktionsrichtung zur Aktivierung des Methanmoleküls einsetzen. Uns ist es gelungen, anaerobe methanotrophe Archaeen in Bioreaktoren zu kultivieren, die dort Methan mit Nitrat umsetzen und dafür neuartige Stoffwechselwege verwenden [4].

Kultivierung von „Unkultivierbaren“

Nur ein kleiner Teil der mikrobiellen Vielfalt lässt sich mit wenig Aufwand auf festen oder

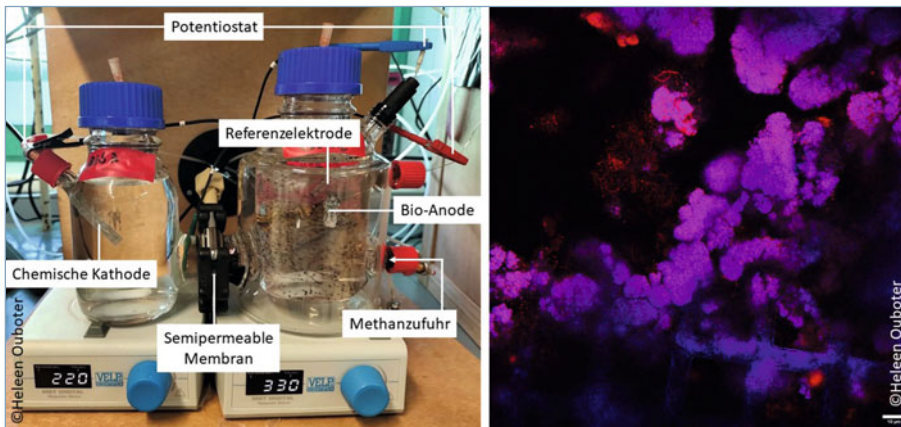
in flüssigen Medien kultivieren. Der weitaus größere Teil der Mikroorganismen aus der Umwelt ist bislang nur aus Sequenzierungsstudien bekannt. Obwohl anaerobe methanotrophe Archaeen bislang nicht in Reinkultur erhalten werden konnten, bietet die Anreicherung in und Analyse von Mischkulturen einen ersten Zwischenschritt zur näheren Charakterisierung dieser ökologisch wichtigen Gruppe von Mikroorganismen. Bioreaktoren (**Abb. 1**) bieten hierbei viele Vorteile gegen-



über Batchkulturen, wie beispielsweise ständige Mediumzufuhr während Biomasse zurückgehalten wird, guten Gas-Flüssigkeits-Austausch sowie konstante Wachstumsbedingungen. Zeitgleich können im Labormaßstab (1–10 Liter) größere Mengen an Biomasse kultiviert und für Experimente verwendet werden.

Hier steht eine Anzeige.

 Springer



▲ **Abb. 3:** Links: Bioelektrochemisches System zur Kultivierung von anaeroben methanotropen Archaeen, um Strom aus Methan zu gewinnen. Mittels eines Potentiostaten wird eine definierte Spannung zwischen der Bio-Anode, die mit methanotropen Archaeen besiedelt ist, und der chemischen Kathode hergestellt. Der Anodenkammer wird neben Medium auch Methan als mikrobielles Substrat zugefügt. Die Anode ist von der Kathodenkammer durch eine semipermeable Membran getrennt. Rechts: Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie-Aufnahme einer Gold-Bioanode, die mit anaeroben methanotropen Archaeen (lila) und Bakterien (rot) besiedelt ist (Maßstabskala 10 µm).

In unseren Bioreaktoren leben anaerobe methanotrophe Archaeen der Gattung *Methanoperedens* und machen dort etwa die Hälfte aller Mikroorganismen aus (**Abb. 2**). Mithilfe dieser Kulturen ist es uns beispielsweise gelungen, die Proteinkomplexe dieser Archaeen in einer Komplexstudie zu untersuchen [5], sodass wir Hypothesen zum Energiestoffwechsel, die wir in Genom- und Transkriptomstudien aufgestellt hatten [4], direkt überprüfen konnten, beispielsweise zur Zusammensetzung der Nitratreduktase und anderen bioenergetischer Proteinkomplexe.

Außerdem trägt die Untersuchung von Mischkulturen dazu bei, das natürliche Habitat auf vereinfachte Weise im Labor widerzuspiegeln: So beobachteten wir in Bioreaktorkulturen bereits vielfache Interaktionen mit anderen Mikroorganismen, die mit anaeroben methanotropen Archaeen vergesellschaftet sind und haben dabei beispielsweise bisher unkultivierte Bakterien beschrieben, die im Stickstoffzyklus eine Rolle spielen [6].

Die vielfältigen Interaktionen von Mikroorganismen in Mischkulturen imitieren das natürliche Habitat und ermöglichen damit interessante mikrobiell-ökologische Studien. Doch die Stoffwechselflexibilität von anaeroben methanotropen Archaeen kann durch die vielen parallel ablaufenden Reaktionen der verschiedenen Mitglieder der mikrobiellen Gemeinschaft schlecht untersucht werden. Daher ist es erforderlich, neue Kultivierungsmethoden für diese Organismengruppe zu entwickeln, die Nitrat durch

ein biologisch weniger verwertbares Ko-Substrat ersetzen und so die Komplexität der Mischkultur herabsetzen.

Mikrobielle Stromproduktion aus Methan

Bioelektrochemische Systeme kombinieren mikrobiologische und elektrochemische Prozesse, um beispielsweise Wasserstoff, *high value*-Chemikalien oder Elektrizität herzustellen. Dabei wird eine der beiden Elektroden mit Mikroorganismen besiedelt, die entweder Strom generieren oder Strom zur Synthese von Wasserstoff oder Chemikalien einsetzen. Uns ist es gelungen, anaerobe methanotrophe Archaeen in solchen Systemen (**Abb. 2** und **3**) zu kultivieren und so Strom aus Methan zu erzeugen [7]: ein vielversprechendes Ergebnis mit möglicher biotechnologischer Anwendung in der Zukunft, um Biogas in Strom umzuwandeln.

Im bioelektrochemischen System wird dabei der Elektronenakzeptor Nitrat durch eine Elektrode ersetzt, bei der eine Spannung angelegt ist, sodass die methanotropen Archaeen die Elektronen aus der Methanoxidation auf die Elektrode übertragen können und dabei Strom generieren. Dies hat den Vorteil, dass die methanotropen Archaeen neben Kohlendioxid aus der Methanoxidation keinerlei andere Stoffwechselprodukte (wie Ammonium oder Nitrit) freisetzen, sodass es weniger Interaktionsmöglichkeiten mit anderen Mikroorganismen gibt. Erste weiterführende Experimente zeigen bereits, dass eine mehr-

wöchige Kultivierung der anaeroben methanotropen Archaeen in bioelektrochemischen Systemen zu einer selektiven Anreicherung dieser Organismengruppe auf der Elektrode führt – ein vielversprechendes Ergebnis auf dem Weg zur Kultivierung der Unkultivierbaren (**Abb. 3**).

Archaeen im globalen Methanzklus und in der Biotechnologie

Obwohl schon ein großer Schatz an Wissen über die Menge und den Mechanismus von Methanemissionen besteht, hält die Methan-Mikrobiologie noch viele Geheimnisse bereit. Im Zentrum unserer Forschung steht die Entdeckung und Charakterisierung von neuen methanbildenden [8] und methanabbauenden Archaeen.

Neben ihrer ökologischen Relevanz sind diese Mikroorganismen auch für biotechnologische Anwendungen interessant, beispielsweise in der Abwasserreinigung, bei der Methan sowohl produziert wird als auch wieder aus den Abwasserströmen entfernt werden soll – anaerobe methanotrophe Archaeen könnten sogar Methan und Nitrat gleichzeitig aus dem Abwasser entfernen. Die Stromproduktion aus Methan wurde bereits im vorherigen Absatz diskutiert. Zudem kann die Stoffwechselaktivität von methanotropen Archaeen zur Mobilisierung oder Entgiftung von Schwermetallen führen [9] und somit – abhängig von der Identität des Schwermetalls und den physikalisch-chemischen Parametern am Standort – entweder zur Entgiftung oder zur Verunreinigung eines Ökosystems beitragen. Mit unserer Forschung möchten wir, im Zusammenspiel aus grundlagenwissenschaftlichen und anwendungsbezogenen Fragestellungen, zur Lösung von ökologisch-gesellschaftlichen Problemen wie Klimawandel und Umweltverschmutzung beitragen.

Danksagung

Ich bedanke mich bei allen Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe sowie meinen Kolleg:innen aus dem Department of Microbiology der Radboud University. Neben ihrem großen Einsatz in Forschung und Lehre bin ich froh, Teil eines Arbeitsumfelds zu sein, das Diversität, Teamspirit und Work-Life-Balance ermöglicht und fördert. Darüber hinaus bedanke ich mich bei meinen Mentor:innen, die mich in meiner Karriere unterstützt haben, sowie der niederländischen Forschungsgemeinschaft NWO für die finanzielle Förderung unserer Arbeit. ■

Literatur

- [1] Boetius A, Ravenschlag K, Schubert CJ et al. (2000) A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane. *Nature* 407: 623–626
- [2] Raghoebarsing AA, Pol A, van de Pas-Schoonen KT et al. (2006) A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification. *Nature* 440: 918–921
- [3] Welte CU, Rasigraf O, Vaksmaa A et al. (2016) Nitrate and nitrite dependent anaerobic oxidation of methane. *Environ Microbiol Rep* 8: 941–955
- [4] Arshad A, Speth DR, de Graaf RM et al. (2015) A metagenomics-based metabolic model of nitrate-dependent anaerobic oxidation of methane by Methanoperedens-like archaea. *Front Microbiol* 6: 1423
- [5] Berger S, Cabrera-Orefice A, Jetten MSM et al. (2021) Complexome profiling provides new insights into protein complexes of ANME-2d methanotrophic archaea. *BBA Bioenergetics* 1862: 148308
- [6] Arshad A, Dalcin Martins P, Frank J et al. (2017) Mimicking microbial interactions under nitrate reducing conditions in an anoxic bioreactor: enrichment of novel *Nitrospirae* bacteria distantly related to *Thermodesulfobivrio*. *Env Microbiol* 19: 4965–4977
- [7] Ouboter HT, Berben, T, Berger S et al. (2022) Methane-dependent extracellular electron transfer at the bioanode by the anaerobic archaeal methanotroph ‘*Candidatus* Methanoperedens’. *Front Microbiol*, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.820989>
- [8] Kurth JM, Nobu MK, Tamaki H et al. (2021) Methanogenic archaea use a bacteria-like methyltransferase system to demethoxylate aromatic compounds. *ISME J* 15: 3549–3565
- [9] Glodowska M, Welte CU, Kurth JM (2022) Anaerobic methane oxidizing archaea. *Adv Microb Physiol*, in press

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Radboud University, Nijmegen.

Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Dr. Cornelia Welte
Department of Microbiology
Radboud University
Nijmegen
NL-Huygensgebouw, HG 02.337
c.welte@science.ru.nl
www.ru.nl/microbiology/department/people/cornelia-welte-dr

AUTORIN



Cornelia Welte

Jahrgang 1984. 2003–2008 Studium der Biologie an der Universität Bonn, der Universität Lyon I (Frankreich) und der Lunds Universiteit (Schweden). 2008–2011 Doktorarbeit in Mikrobiologie und 2011–2013 Postdoc an der Universität Bonn. 2013–2015 DAAD-Postdoktorandin an der Radboud University (Niederlande). 2015–2020 Assistant Professor (tenure track) an der Radboud University. Seit 2021 Associate Professor an der Radboud University.

Hier steht
eine Anzeige.

 Springer