

Charakterisierung der methanotrophen Lebensgemeinschaften im Reisfeld- und Waldboden

Thilo Henckel, Marburg

► Die mikrobielle Methanoxidation ist entscheidend für den globalen Methanhaushalt. Methanoxidierende Bakterien (Methanotrophe) vermindern die Freisetzung des Treibhausgases Methan (CH_4) aus wasser-gesättigten, anoxischen Böden in die Atmosphäre. Außerdem sind sie für die Aufnahme von atmosphärischem CH_4 in oxischen Böden verantwortlich, dem einzigen terrestrischen Verbrauchsort für das Treibhausgas.

Der Prozess der Methanoxidation in Böden ist gut untersucht, doch war über die dafür verantwortliche mikrobielle Lebensgemeinschaft bisher nur wenig bekannt. Im Rahmen der Dissertation gelang es, die Populationsstruktur, Diversität und Funktion der methanotrophen Lebensgemeinschaft in einem italienischen Reisfeldboden und einem sauren Waldboden zu identifizieren und deren Veränderungen durch Umwelteinflüsse zu charakterisieren.

Die methanotrophen Lebensgemeinschaften wurden durch PCR und denaturierende Gradienten-Gel-Elektrophorese (DGGE) analysiert. Dafür wurden DNA-Primer verwendet, mit denen drei Zielregionen innerhalb des Gens der 16S-rRNA amplifiziert wurden. Zwei weitere DNA-Primer amplifizierten funktionelle Gene, Untereinheiten der partikulären Methan-Monooxygenase (pMMO) *pmoA* und der Methanol-Dehydrogenase (MDH) *mxoF*, beides Schlüsselenzyme der Methanoxidation.

Die anhand der DGGE-Bandenmuster dargestellte Populationsstruktur lieferte in Verbindung mit Sequenzanalysen der einzelnen DGGE-Banden ein detailliertes Bild der vorhandenen methanotrophen Lebensgemeinschaft. Radioaktive Markierungsexperimente und anschließende Analyse der Phospholipide (PLFA) zeigten, in welchem Ausmaß die verschiedenen Typen der methanoxidierenden Bakterien an der CH_4 -Oxidation aktiv beteiligt waren und ermöglichten die Quantifizierung der methanotrophen Biomasse.

Die methanotrophe Lebensgemeinschaft im Reisfeldboden bestand aus Populationen, die am nächsten mit *Methylobacter* sp. und *Methylococcus* sp. (Typ I) und *Methylosinus* sp. und *Methylocystis* sp. (Typ II) verwandt sind. Die Struktur dieser Lebensgemeinschaft zeigte eine hohe Dynamik, wenn die Bedingungen (CH_4 , O_2 , Feuchtigkeit) im Boden verändert wurden, beispielsweise durch

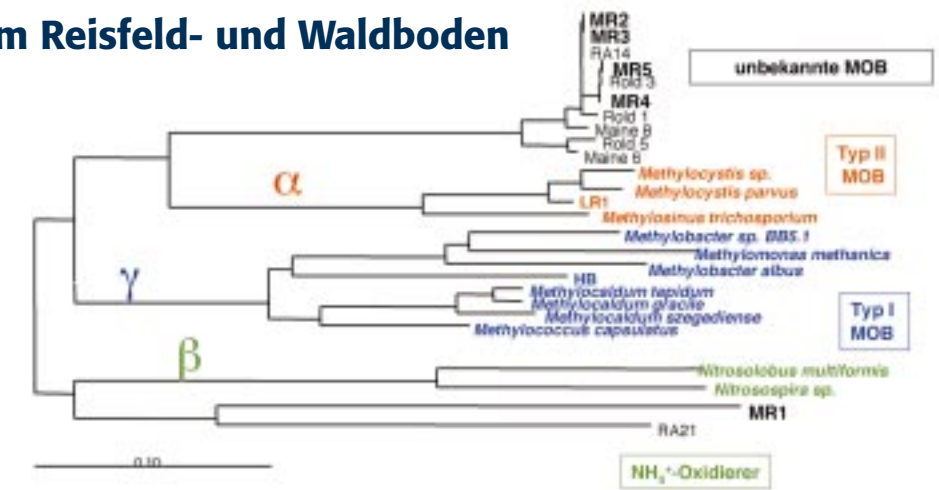


Abb. 1: Das Dendrogramm zeigt die Verwandtschaft der im Waldboden vorhandenen Methanoxidierer im Verhältnis zu bekannten Vertretern methanotropher α -, γ -Proteobakterien und Ammoniumoxidierern (β -Proteobakterien). Phylogenetische Analyse auf Basis der Aminosäuresequenzen von *pmoA/amoA*.

Drainage und Düngung.^[1] Methanoxidierer vom Typ II waren im Reisfeldboden in der Regel häufiger und verbreiteter als solche vom Typ I, insbesondere bei den im gefluteten Reisfeldboden vorherrschenden hohen CH_4 -Mischungsverhältnissen. Methanotrophe des Typ I zeigten dagegen unter niedrigen CH_4 -Mischungsverhältnissen (z.B. nach Drainage) sehr hohe Aktivität und bildeten dann auch mehr Biomasse als Typ II. In bepflanzten Reismikrokosmen stimulierte die Zugabe von NH_4^+ Methanotrophe vom Typ I stärker als Typ II.^[2]

Unter Umweltbedingungen, die eine CH_4 -Oxidation nicht zuließen, waren Typ I-Methanotrophe kaum oder nicht nachweisbar, während die Diversität von Typ II-Methanotrophen konstant blieb, da diese offensichtlich unter schlechten Bedingungen besser überleben konnten. Bereits bei geringer O_2 - und CH_4 -Verfügbarkeit bildete sich jedoch innerhalb weniger Tage eine sehr aktive, je nach Umweltbedingungen verschieden ausgeprägte Lebensgemeinschaft an Typ I-Methanotrophen aus. Die Lebensgemeinschaft der Typ II-Bakterien blieb auch unter veränderten Umweltbedingungen weitgehend unverändert.

Im Gegensatz zum Reisfeldboden wurde im sauren Waldboden nur CH_4 aus der Atmosphäre oxidiert. Methanotrophe Populationen wurden über das *pmoA*-Gen nur in Bodenschichten nachgewiesen, in denen auch atmosphärisches CH_4 oxidiert wurde. Die *pmoA*-Sequenzen dieser Populationen waren nur entfernt mit *pmoA*-Sequenzen bekannter Typ II-Methanoxidierer verwandt.^[3] Die detektierten Populationen stellen wahrscheinlich eine neue Gruppe

methanotropher Bakterien dar, möglicherweise mit der Fähigkeit zur Oxidation von atmosphärischem CH_4 . Dieses Ergebnis zeigte zusätzlich, dass mit den angewandten Methoden bislang unbekannte Methanoxidierer nachgewiesen werden können.

Kontakt: thilo_henckel@web.de

Literatur

- [1] Henckel, T., Roslev, P., and Conrad, R. (2000) Effects of O_2 and CH_4 on presence and activity of the indigenous methanotrophic community in rice field soil. *Environmental Microbiology*, 2, 666-679.
- [2] Bodelier, P. L. E., Roslev, P., Henckel, T., and Frenzel, P. (2000) Stimulation by ammonium-based fertilisers of methane oxidation in soil around rice roots. *Nature*, 403, pp. 421-424.
- [3] Henckel, T., Jäckel, U., Schnell, S., and Conrad, R. (2000) Molecular analyses of novel methanotrophic communities in forest soil that oxidize atmospheric methane. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, pp. 1801-1808.



Thilo Hans Eckhardt Henckel

(Jahrgang 1970) studierte an der Georg-August-Universität Göttingen, Hauptfach Mikrobiologie. Die Diplomarbeit fertigte er 1996 am Max-Planck-

Institut für terrestrische Mikrobiologie in Marburg unter Anleitung von Prof. Ralf Conrad an („Mikrobielle Produktion von Stickoxiden und Oxidation von Methan in belüfteten Reisfeldböden“), wo er anschließend promovierte („Charakterisierung der methanotrophen Lebensgemeinschaften im Reisfeld- und Waldboden“). Seit September 2000 ist er Laborleiter bei der Dade Behring GmbH in Marburg.