Aquatische Mikrobiome und ihre Bedeutung für die Wasserqualität

Tillmann Lüders

Zusammenfassung

Aquatische Mikrobiome leisten entscheidende Beiträge zur Regulierung der Süßwasserqualität, indem sie Nährstoffe umsetzen und Schadstoffe abbauen. Für unsere Trinkwasserversorgung und auch als Ressource ist insbesondere das Grundwasser von erheblicher Bedeutung. Die systematische Erforschung des Grundwassers als mikrobielles Habitat hat erst vor wenigen Jahren begonnen. Für aktuelle Probleme der Trinkwasserversorgung, wie z. B. die zunehmende Nitratbelastung und die Ausbreitung von Mikroschadstoffen, bietet ein besseres mikrobiologisches Prozessverständnis wichtige Lösungsansätze. Auch an stark mit Kohlenwasserstoffen belasteten Altlasten-Standorten hat die Umweltmikrobiologie überraschende neue Einblicke in die Steuerung von Abbauprozessen und die daran beteiligten anaeroben Mikrobiome ermöglicht. So können z. B. Kabelbakterien Redoxprozesse am Rand von Schadstofffahnen über »long-distance electron transfer« räumlich entkoppeln und so zentrale Reaktionslimitierungen umgehen. Zudem untersuchen wir seit einigen Jahren massive Biofilme im Stollen einer ehemaligen Jodheilquelle. Hier zeigt sich, dass auch der oberflächennahe terrestrische Untergrund – analog zu den heißen Schloten der Tiefsee – rein auf mikrobieller Autotrophie basierende und überraschend komplexe Lebensgemeinschaften aufweisen kann. Zusammenfassend wird die außerordentliche Bedeutung des Verständnisses aquatischer Mikrobiome für den vorsorgenden Schutz und die nachhaltige Nutzung unserer Grund- und Trinkwasserressourcen dargelegt.

Summary

Aquatic microbiomes and their importance for water quality

Aquatic microbiomes make vital contributions to the regulation of freshwater quality, by cycling of nutrients and degradation of pollutants. In particular, groundwater is of considerable importance for our drinking water supply and also as resource. The systematic investigation of groundwater systems as a microbial habitat, however, has only recently been initiated. A better understanding of these microbiomes may provide solutions for current problems in our drinking water supply, such as increasing pollution with nitrate and the spread of micropollutants. Even at sites highly contaminated with hydrocarbons, environmental microbiology has provided surprising new insights into the control of degradation processes and anaerobic microbiomes. As an example, cable bacteria can spatially uncouple redox processes at the fringes of contaminant plumes via long-distance electron transfer, and thus alleviate central reactivity limitations. We are also currently investigating massive biofilms discovered in the cavern of a former medicinal iodine spring. This revealed that even the shallow terrestrial subsurface – analogous to the hot chimneys of the deep sea – can host biosphere-independent and surprisingly diverse microbiomes, purely based on microbial autotrophy. In summary, the extraordinary importance of understanding aquatic micorbiomes for the protection and sustainable use of our ground and drinking water resources is highlighted.

✉ Priv.-Doz. Dr. Tillmann Lüders, Helmholtz Zentrum München, Institut für Grundwasserökologie, Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg; tillmann.lueders@helmholtz-muenchen.de. Ab April 2019: Universität Bayreuth, Lehrstuhl für Ökologische Mikrobiologie, Dr.-Hans-Frisch-Straße 1–3, 95440 Bayreuth.

Rundgespräche Forum Ökologie, Bd. 47 »Die unbekannte Welt der Mikrobiome«, S. 45–56.
© 2019 Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München – ISSN 2366–2875 – ISBN 978–3–89937–239–7

Einführung

Aquatische Mikrobiome sind von entscheidender Bedeutung für die Qualität unserer Süßwasserressourcen. Sie regulieren im terrestrischen Wasserkreislauf die Umsetzung von Kohlenstoff- und Stickstoffeinträgen, bauen Schadstoffe ab und sind auch für die hygienische Wasserqualität entscheidend. Gleichzeitig aber haben uns die Entwicklungen der molekularen mikrobiellen Ökologie über die letzten Jahre gezeigt, dass wir noch weit davon entfernt sind, alle Mikroben, die wir in aquatischen Habitaten nachweisen können, in ihrer Physiologie und Funktion tatsächlich zu verstehen. Man spricht hier auch von der »Dunklen Materie« der Umweltmikrobiologie (»microbial dark matter«, Rinke et al. 2013). Ein solches Verständnis ist aber eine wichtige Grundlage für die Erhaltung ökosystemarer Dienstleistungen sowie für die nachhaltige Nutzung natürlicher Ressourcen. In der Bereitstellung dieses Verständnisses sehe ich eine der wichtigsten Herausforderungen der umweltmikrobiologischen Forschung unserer Zeit.

Grundwasser als wichtige Süßwasserressource

Süßwasserressourcen werden in unserer Gesellschaft vorrangig als Oberflächengewässer, Flüsse und Seen wahrgenommen. Auch der sog. urbane Wasserkreislauf, von der Trinkwasserversorgung bis hin zur Abwasserbehandlung, ist oft ein wichtiges Thema, sowohl in der Forschung hier in München als auch in der Öffentlichkeit. Die quantitativ bedeutsamste Komponente des terrestrischen Wasserkreislaufs ist jedoch das Grundwasser.

Betrachten wir die globale Verteilung des Wassers, überrascht es zunächst nicht, dass bei weitem der größte Anteil (> 96 %) als Salzwasser in den Ozeanen vorliegt (Abb. 1). Nur ca. 2,5 % des globalen Wassers sind Süßwasser und davon sind wiederum $^2/_3$ dauerhaft festgelegt in polarem Eis und Gletschern. Weitere 30 % davon sind Grundwasser und nur 1,2 % des globalen Süßwassers findet sich an der Oberfläche in Flüssen und Seen (Shiklomanov 1993). Das Grundwasser stellt also mit > 96 % des nicht gefrorenen Süßwassers mit Abstand die bedeutsamste, tatsächlich zur Verfügung stehende Süßwasserressource dar.

Die Nutzung des Grundwassers ist vor allem für unsere Trinkwasserversorgung bedeutsam. Auch in Deutschland werden ca. 70 % des Trinkwassers direkt oder indirekt aus dem Grundwasser gewonnen, in Bayern sind es sogar > 90 % (UBA 2010). Der Zugang zu gutem Trinkwasser ist eine entscheidende Voraussetzung für die Gesundheit des Menschen. Die WHO schätzt, dass global bis zu 5 Millionen Menschen pro Jahr durch mangelnden Zugang zu sicherem Trinkwasser sterben (WHO 2018). Dabei handelt es sich in vielen Entwicklungsländern vorrangig um hygienische Wasserprobleme, aber auch die chemische Wasserverschmutzung kann hier eine Rolle spielen. Eines der Hauptziele der UN Millennium Development Goals ist die Halbierung dieser Zahlen in unserer Dekade (Prüss-Üstün & Corvalán 2006).

Aber nicht nur in Entwicklungsländern, auch in der sog. westlichen Welt ist unser Grund- und Trinkwasser zunehmend Belastungen ausgesetzt. Verursacht durch die steigende Umweltverschmutzung, die geänderte Landnutzung, das Bevölkerungswachstum oder auch den Klimawandel kommt es zu veränderten Stoffeinträgen in das Grundwasser. Nach einer dänischen Studie müssen z. B. wegen zunehmender Nitrat- und Pestizidbelastung immer mehr, vornehmlich flache Trinkwasserbrunnen geschlossen werden (Stockmarr & Thomsen 2006). Dies ist ein Problem, mit dem wir uns auch hier in Deutschland in den nächsten Jahren intensiv werden auseinandersetzen müssen; hier brauchen wir neue Lösungsansätze für die aktuellen und für zukünftige Probleme der Trinkwasserversorgung.

Mikrobielle Redoxprozesse im Grundwasser

Das Grundwasser ist aber nicht nur eine abiotische Ressource, sondern auch ein belebtes Ökosystem (Griebler & Lueders 2009). Im Gegensatz zu den meisten anderen Ökosystemen ist Grundwasser vorrangig durch Mikroorganismen besiedelt, andere Lebewesen wie Nematoden oder Krebstierchen finden sich nur in geringer Dichte. Im Grundwasser können je nach Standort zwischen wenigen 1000 und mehreren 100 Mio. Mikroorganismen pro mL Wasser enthalten sein (Griebler & Lueders 2009). Die Biodiversität dieser Mikrobiome ist erheblich und es lassen sich noch keine gesicherten Aussagen zur Ge-

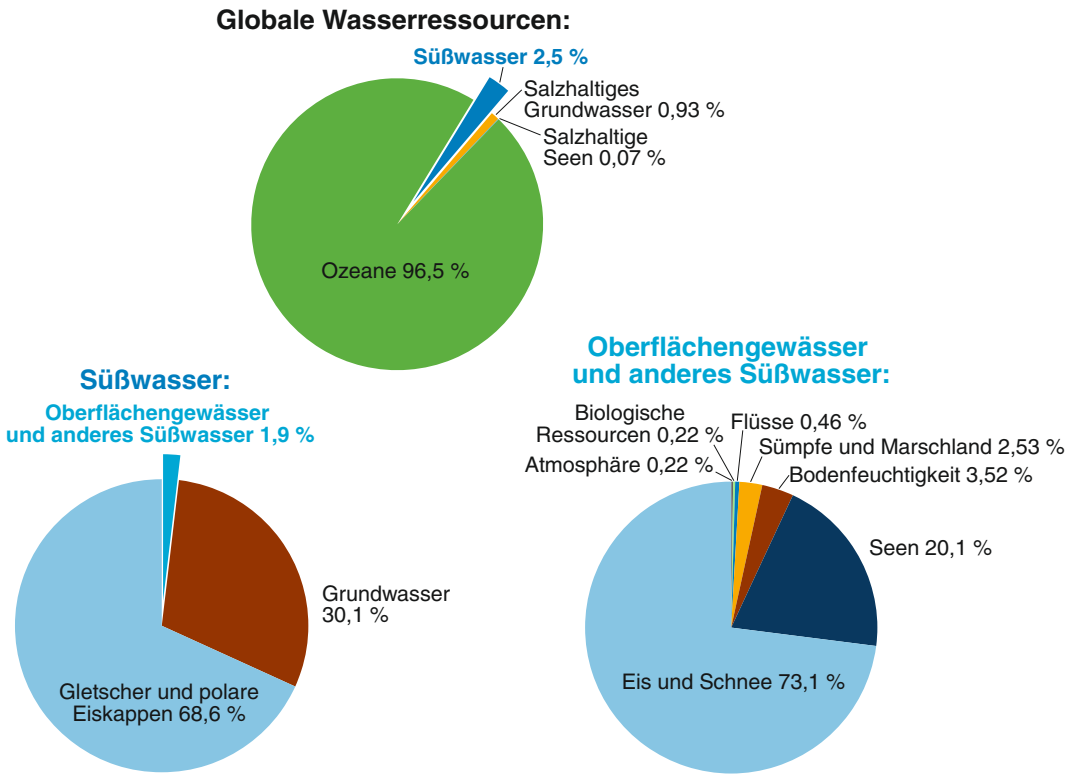

Abb. 1. Globale Verteilung der Wasserressourcen auf der Erde. – Nach Daten aus Shiklomanov (1993).

samtzahl der mikrobiellen Arten im Grundwasser machen. Immer wieder werden völlig neuartige Bakterientaxa im Grundwasser entdeckt, sogar solche mit einem Zelldurchmesser von weniger als 0,2 µm (Luef et al. 2015, Anantharaman et al. 2016).

Die Bakterien und Archaeen im Grundwasser sind es aber, die durch ihre Redoxprozesse die Wasserqualität steuern. Sie katalysieren mit ihrem Stoffwechsel die Umsetzung und den Abbau verschiedener Stoffeinträge und Belastungen, ob diese nun aus der Landwirtschaft, der Industrie oder auch aus urbanen Quellen stammen (Meckenstock et al. 2015). Um diese Prozesse besser zu verstehen, ist es zunächst hilfreich, die daran beteiligten Edukte in grundlegende Redoxschemata einzuordnen. Die zentrale Frage ist dabei, welcher Elektronendonator und welcher Elektronenakzeptor den Energiestoffwechsel eines Organismus antreibt. Im Gegensatz zum Menschen können Mikroorganismen eine große Vielzahl an Substanzen als Elektronendonator bzw. -akzeptor nutzen (Abb. 2). Neben Sauerstoff kann eine Reihe alternativer, anaerober Elektronenakzeptoren veratmet werden, wie z. B. Nitrat, Metalloxide, Sulfat oder Kohlendioxid. Neben reduziertem organischen Kohlenstoff können sie zudem eine Vielzahl reduzierter anorganischer Substanzen als Elektronendonatoren nutzen, wie z. B. Ammonium, Sulfid oder auch Wasserstoffgas. Bedeutsam für die Wasserqualität ist aber vor allem, dass Mikroorganismen auch Wasserschadstoffe in Redoxprozessen nutzen und diese dabei abbauen oder reduzieren können. So können z. B. Kohlenwasserstoffe wie Aromaten und Alkane als Elektronendonatoren oxidiert und damit abgebaut werden. Ähnliches gilt für Mikroschadstoffe wie Pestizide oder auch Arzneimittel, die in Kläranlagen meist nicht eliminiert und daher im Wasserkreislauf zunehmend zum Problem werden. Zu den reduzierbaren Wasserschadstoffen, die von Mikroorganismen als Elektronenakzeptoren genutzt werden können, gehören an erster Stelle das Nitrat, aber auch chlorierte Kohlenwasserstoffe oder Nitroaromaten (Abb. 2).

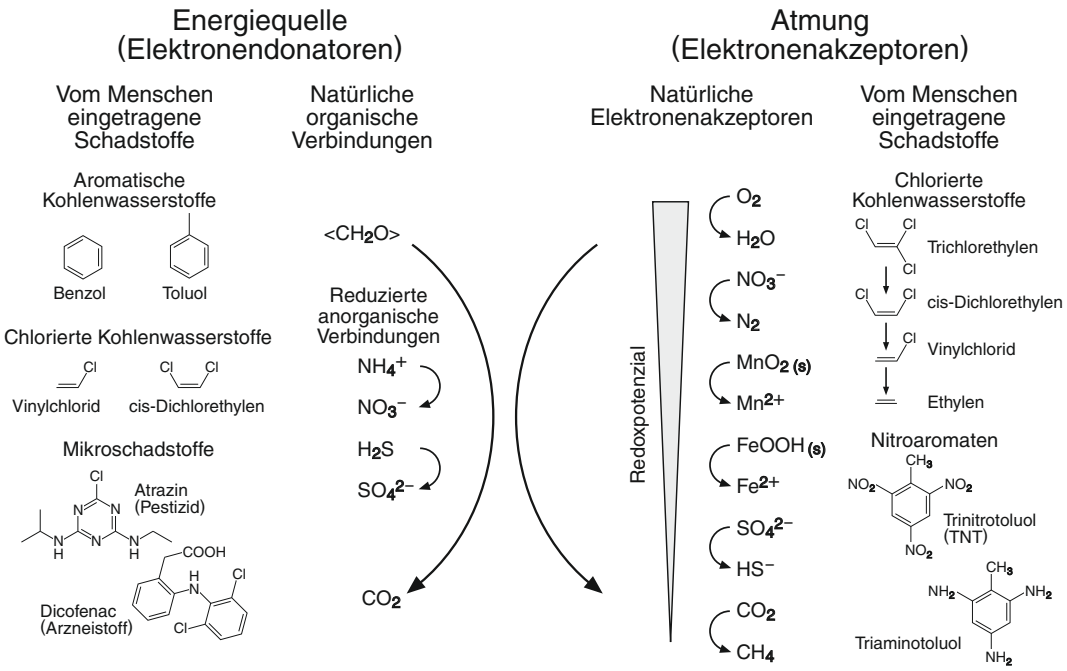

Abb. 2. Übersicht über natürliche und vom Menschen eingetragene Elektronendonatoren und Elektronenakzeptoren und ihre Umsetzung in mikrobiellen Redoxprozessen. – Verändert nach Meckenstock et al. (2015), © American Chemical Society 2015.

In natürlichen Mikrobiomen findet sich also nicht nur eine außerordentlich große Biodiversität, sondern auch eine beeindruckende Vielfalt an Ökophysiologien, ohne die viele Prozesse in natürlichen Systemen gar nicht oder nur sehr langsam ablaufen würden. Nur wenn wir die zugrunde liegenden Reaktionsmechanismen und die daran beteiligten mikrobiellen Populationen genau verstehen, können wir über mögliche Maßnahmen und Optionen zum Schutz unserer Grundwasserressourcen diskutieren. Im Folgenden möchte ich auf ausgewählte Beispiele hierzu aus der Forschung an unserem Institut eingehen.

Nitratbelastung des Grundwassers

Das vielleicht prominenteste Beispiel für die Belastung des Grundwassers ist in der öffentlichen Wahrnehmung sicherlich das Nitrat. Die zunehmende Nitratbelastung unseres Grundwassers vor allem im ländlichen Raum ist mittlerweile nicht nur ein hydrochemisches, sondern durchaus auch ein politisches und juristisches Problem.[1] Der gesetzlich vorgeschriebene Grenzwert von 50 mg/L nach deutscher Trinkwasserverordnung wird in einer stetig steigenden Anzahl von Grundwasserbrunnen überschritten. Sowohl die landwirtschaftliche Düngung allgemein als auch die zunehmend intensive Nutztierhaltung und die daraus resultierende Gülleausbringung werden als Hauptursachen des Problems betrachtet. Dabei überrascht es zunächst, dass die Gülle selbst nur vergleichsweise geringe Mengen an Nitrat enthält. Gülle enthält dagegen hohe Konzentrationen an Ammonium (bis zu mehrere g/L), welches erst nach Ausbringung im Sickerwasser während der Bodenpassage durch Mikroorganismen zum Nitrat aufoxidiert wird (Abb. 3). Die mikrobielle Nitrifizierung (vgl. Beitrag Wagner [2019] in diesem Band) stellt also eine wichtige Komponente des Nitrateintrags ins Grundwasser dar.

1 Vgl. z.B. WELT, 20.06.18: https://www.welt.de/politik/deutschland/article177908046/Agrarexperte-Friedhelm-Taube-Grundwasserbelastung-durch-Nitrat-ist-dramatisch.html [zuletzt abgerufen am 08.08.18].

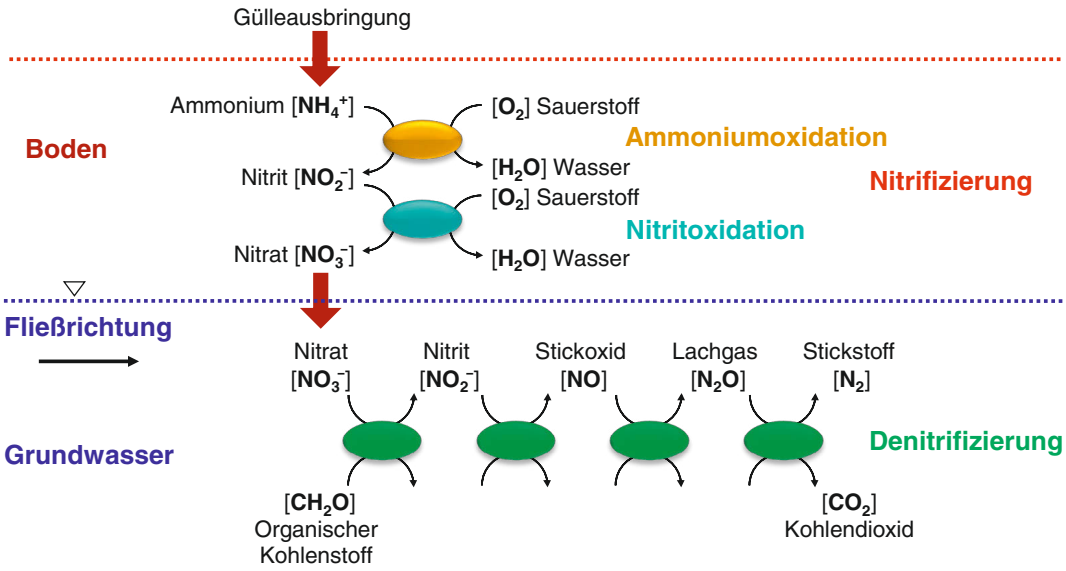

Abb. 3. Schematische Darstellung des oxidativen und des reduktiven Stickstoffkreislaufs im Untergrund.

Dort angelangt, wird das Nitrat durch Mikroben hauptsächlich als anaerober Elektronenakzeptor im Prozess der Denitrifizierung genutzt (Abb. 3). Seine Eliminierung hängt damit also von der Verfügbarkeit anderer, meist organischer Elektronendonatoren ab sowie von der Abwesenheit von Sauerstoff als bevorzugtem Elektronenakzeptor. Gelangt das Nitrat in einen aeroben, organisch sonst wenig belasteten Grundwasserleiter, ist das natürliche Denitrifizierungspotenzial äußert gering. Dennoch gibt es vielleicht Möglichkeiten, die vorhandenen Potenziale in Zukunft besser zu nutzen oder gar zu steuern. Über die Analytik von stabilen Isotopen lassen sich anhand des $\delta^{15}N$ und des $\delta^{18}O$ im Nitrat Aussagen machen über diese Potenziale und Prozesse (Nikolenko et al. 2018). So hat meine Kollegin Christine Stumpp in aktuellen Arbeiten zum Grundwasser eines landwirtschaftlich belasteten Standorts im Sommer erheblich höhere effektive Denitrifizierungspotenziale nachweisen können als im Herbst und Winter (Gassen et al., in Vorbereitung). Wenn man bedenkt, dass bedingt durch die Stallhaltung ein großer Anteil der Gülle im Winter ausgebracht wird, lässt sich mit einer besseren Berücksichtigung der im Untergrund ablaufenden mikrobiellen Prozesse und mit entsprechendem politischen Willen in Zukunft sicher noch mehr zu einer Verringerung der Nitratbelastung unserer Grundwässer beitragen.

Mikrobiome in anaeroben Schadstofffahnen

Als zweites Beispiel möchte ich aus unserer umweltmikrobiologischen Forschung zu anaeroben Abbauprozessen in Schadstofffahnen berichten. Mit erheblichem Aufwand haben wir an unserem Institut über die letzten Jahre untersucht, wodurch der Abbau von Kohlenwasserstoffen in solch hoch kontaminierten Systemen vorrangig limitiert wird. Über räumlich hoch aufgelöste Beprobungen von Wasser und Sediment in vertikalen Transekten durch die Schadstofffahne hindurch, in Kombination mit einer großen Bandbreite umweltmikrobiologischer Analytik (z. B. Next Generation Sequencing, quantitative PCR, Markierung mit stabilen Isotopen; Abb. 4), konnten wir zeigen, dass »Hot-Spots« des anaeroben Schadstoffabbaus vor allem an den Redoxgradienten des Fahnenrandes zu finden sind (Lueders 2017). Nur in dieser Zone durchmischt sich das stark mit Kohlenwasserstoffen kontaminierte Grundwasser aus dem Innenbereich der Schadstofffahne (Elektronendonator) mit dem nitrat- und sulfathaltigen Grundwasser aus den umgebenden Bereichen (Elektronenakzeptoren). In diesen Hot-Spots finden wir hoch spezialisierte anaerobe Mikrobiome mit angereichertem Abbaupotenzial, welches wir über die quantitative Analytik spezifischer Gene des anaeroben

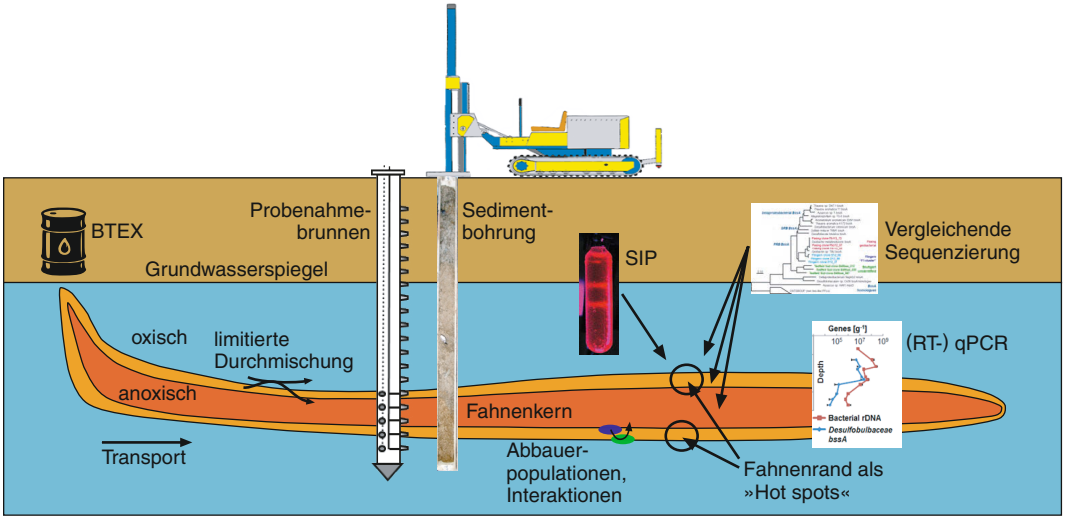

Abb. 4. Schematische Darstellung einer Schadstofffahne im Grundwasser und der Möglichkeiten der umweltmikrobiologischen Probenahme und Untersuchung. BTEX: Benzol, Toluol, Ethylbenzol, Xylole; SIP: stable isotope probing (Markierung aktiver Schadstoffabbauer mit stabilen Isotopen); (RT-) qPCR: (reverse Transkription) quantitative PCR. Weitere Erläuterungen s. Text. – Nach Lueders (2017), © FEMS 2016, CC BY 4.0.

Schadstoffabbaus nachweisen können (Abb. 4). Dies bestätigte unsere ursprüngliche Arbeitshypothese, dass die mangelnde Durchmischung von Elektronendonatoren (z. B. Toluol) aus der Fahne mit Elektronenakzeptoren aus dem umgebenden Grundwasserleiter eine der wichtigsten Limitierungen des anaeroben Schadstoffabbaus in solch stark kontaminierten Systemen darstellt.

Räumliche Kopplung von Redoxprozessen über »long-distance electron transfer«

In diesen Arbeiten sind wir aber auch auf Überraschungen gestoßen. Einige der am Fahnenrand entdeckten Population waren nicht wie erwartet verteilt, so auch z. B. die Desulfobulbaceae, die teilweise bis zu 50 % des Mikrobioms in diesen Übergangszonen ausmachen (Winderl et al. 2008). Wir kennen diese Deltaproteobacteria aus terrestrischen und marinen Habitaten und konnten sie zuvor am unteren Fahnenrand klar als sulfatreduzierende Schadstoffabbauer identifizieren (Pilloni et al. 2011). Teilweise konnten wir sie aber auch über den oxisch/anoxischen Redoxgradienten am oberen Fahnenrand hinaus nachweisen, was für Sulfatreduzierer zunächst unerwartet war (Larentis et al. 2013).

Aus der Literatur aber sind bestimmte Desulfobulbaceae, die sich in marinen Sedimenten über oxisch/anoxische Redoxgradienten hinweg charakteristisch anordnen, durchaus bekannt: Vor einigen Jahren entdeckten dänische Wissenschaftler räumlich entkoppelte Redox-Gegengradienten von Sauerstoff (Elektronenakzeptor) und Sulfid (Elektronendonator), die durch eine ausgeprägte »suboxische Zone« (> 1 cm!) voneinander getrennt waren (Pfeffer et al. 2012). Die Autoren postulierten, es müsse hier eine aerobe Sulfidoxidation gekoppelt an leitfähige Strukturen im Sediment stattfinden, die die beiden Redox-Halbreaktionen über einen Elektronentransport aneinanderkoppelt. Durch die Sauerstoffreduktion mittels geleiteter Elektronen unter Verbrauch von Protonen an der kathodischen Sedimentoberfläche entstünde ein lokaler pH-Peak (Abb. 5a), welcher auch tatsächlich gemessen und als eindeutiger Beweis des sog. »long-distance electron transfer« gewertet wurde. Bei genauerer Betrachtung zeigte sich, dass diese Sedimente voller langer, filamentöser Desulfobulbaceae waren (Pfeffer et al. 2012). Dies war die Entdeckung der sog. Kabelbakterien, langer Ketten elektrisch leitfähiger Bakterien, welche Sulfidoxidation und Sauerstoffatmung in marinen Sedimenten über einen Elektronentransport aneinander koppeln.

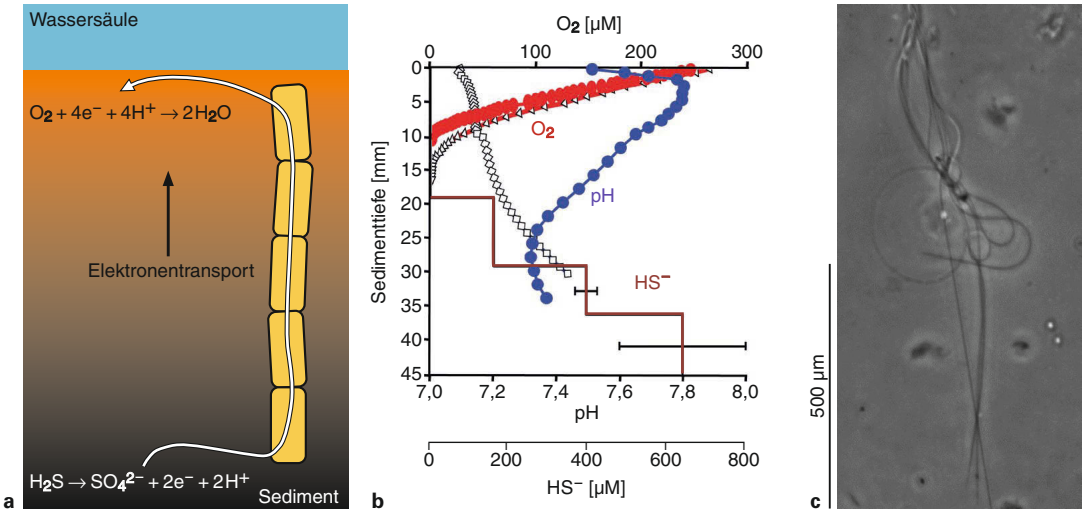

Abb. 5. Schema des »long-distance electron transfer« durch Kabelbakterien in marinen Sedimenten (**a**), damit assoziierte biogeochemische Gradienten (O_2, HS^-, pH) im Grundwasser; ∇: O_2, □: pH in einer abiotischen Kontrollsäule (**b**), sowie lichtmikroskopische Aufnahme von aus Grundwassersedimenten angereicherten Kabelbakterien (**c**). – a, mit Genehmigung von Laurine Burdorf, http://blog.eag.eu.com/general/learning-about-cable-bacteria/; b, nach Müller et al. (2016), © Springer Nature 2016, CC BY 4.0; c, Foto: Dheeraj Kanaparthi.

Wir haben uns nun die Frage gestellt, ob – ähnlich zu den marinen Sedimenten – auch an Redoxgradienten in kontaminierten, sulfidischen Grundwasserleitern Kabelbakterien eine Rolle spielen könnten. Dazu haben wir Sedimente von einem mit Teeröl belasteten Standort im Labor inkubiert und nach einigen Wochen tatsächlich die sehr ähnliche Ausbildung einer suboxischen Zone beobachten können (Müller et al. 2016). Über feinskalige biogeochemische Analytik mit Mikrosensoren konnten wir ebenfalls eine räumliche Entkopplung der Redoxgradienten nachweisen, ebenso wie den zu erwartenden pH-Peak in der Zone der maximalen Sauerstoffatmung (Abb. 5b) – beides starke Hinweise auf »long-distance electron transfer«. Über die Analyse der Mikrobiome konnten wir schließlich tatsächlich eine hohe Abundanz an Desulfobulbaceae in den Sedimentsäulen nachweisen, deren Verteilung aus der Tiefe genau bis zu der Zone mit der höchsten Sauerstoffatmung heranreichte. Die filamentöse Struktur der Kabelbakterien konnte schließlich auch durch Färbungen unter dem Fluoreszenzmikroskop erstmals für Grundwassersedimente nachgewiesen werden (Müller et al. 2016). Auch an Redoxgradienten in Süßwassersystemen scheint der Elektronentransport durch Kabelbakterien also durchaus eine Rolle zu spielen, an deren etwas allgemeinerer Aufklärung wir momentan in meiner Arbeitsgruppe weiter forschen.

Massive Mikrobiome im Untergrund

Als drittes Beispiel aus unserer aktuellen Forschung möchte ich schließlich einige ganz besondere Mikrobiome des Untergrunds vorstellen. In der Quelle eines ehemaligen Jodheilbads im Allgäu waren durch Mitarbeiter des Bayerischen Landesamts für Umwelt (LfU) vor einigen Jahren Biofilme entdeckt worden, die zu Recht als besonders massiv bezeichnet werden können (Abb. 6). Es handelt sich um den Quellstollen einer Jodheilquelle bei Sulzbrunn, die ungefähr bis zum zweiten Weltkrieg als Heilbad genutzt worden ist. Die Kollegen vom LfU sind mit der Bitte an uns herangetreten, diesen einzigartigen Biofilmbewuchs zu untersuchen und zu erklären (Karwautz et al. 2018). Ein Blick in die Literatur zeigt, dass das »Wildbad Sulzbrunn« bereits im 19. Jahrhundert von Justus von Liebig untersucht worden ist (Schott 1858), welcher seinerzeit ja sogar Präsident der Bayerischen Akademie der Wissenschaften war.

Abb. 6. Snottiten und Biofilme in der ehemaligen Jodheilquelle bei Sulzbrunn (Allgäu). – Foto: Tillmann Lüders.

Biofilme und hängende Schleimfäden, sog. »Snottiten«, wurden zuvor bereits aus einigen Höhlen und Minen beschrieben (Hose & Pisarowicz 1999, Ziegler et al. 2013). Allerdings handelte es sich dabei meist um eher dünne Schleimfäden, die dort entstehen, wo reduzierte Grundwässer durch Risse in der Wand an die oxische Atmosphäre der Höhlen oder des Stollens sickern und so das Wachstum von sulfid- oder eisenoxidierenden Mikroorganismen bewirken. Im Sulzbrunner Quellstollen waren die Biofilme aber gleichmäßig an Decke und Wand verteilt und derart massiv, dass die Ursache der beobachteten Biofilmbildung eine ganz andere sein musste.

Im Quellwasser wurden eine erhöhte Salinität und natürlich eine stark erhöhte Jodkonzentration gefunden (bis zu 20 mg/L). Beides weist darauf hin, dass in der Quelle Tiefenwasser aus der Molasse des bayerischen Alpenvorlands zu Tage tritt, welches in mehreren 1000 m Tiefe mit Gas- oder Öllagerstätten in Kontakt gewesen ist. Tatsächlich konnten wir sehr hohe Methankonzentrationen in der Höhle nachweisen: bis zu 50 % in Gasblasen, die direkt aus Gesteinsrissen im Quellzulauf aufgefangen wurden, und immerhin noch bis zu 1 % in der Stollenluft. Die Isotopensignatur des Methans lag mit –43 ‰ $\delta^{13}C$ genau bei dem Wert, den man für thermogenes Erdgas aus fossilen Lagerstätten erwartet (Aelion et al. 2009). Durch Elementaranalyse der Biofilme gelang es uns, diese Kohlenstoffsignatur in den Biofilmen direkt wiederzufinden, was ein erster Hinweis darauf war, dass die Biofilmmikrobiome das Methan tatsächlich verwerteten (Karwautz et al. 2018).

Mikrobiome im Biofilm

Um diese Mikrobiome genauer zu charakterisieren, haben wir hochauflösende Populationsanalysen (16S-rRNA-Gensequenzierung und Metagenomik) für Proben aus dem Quellstollen

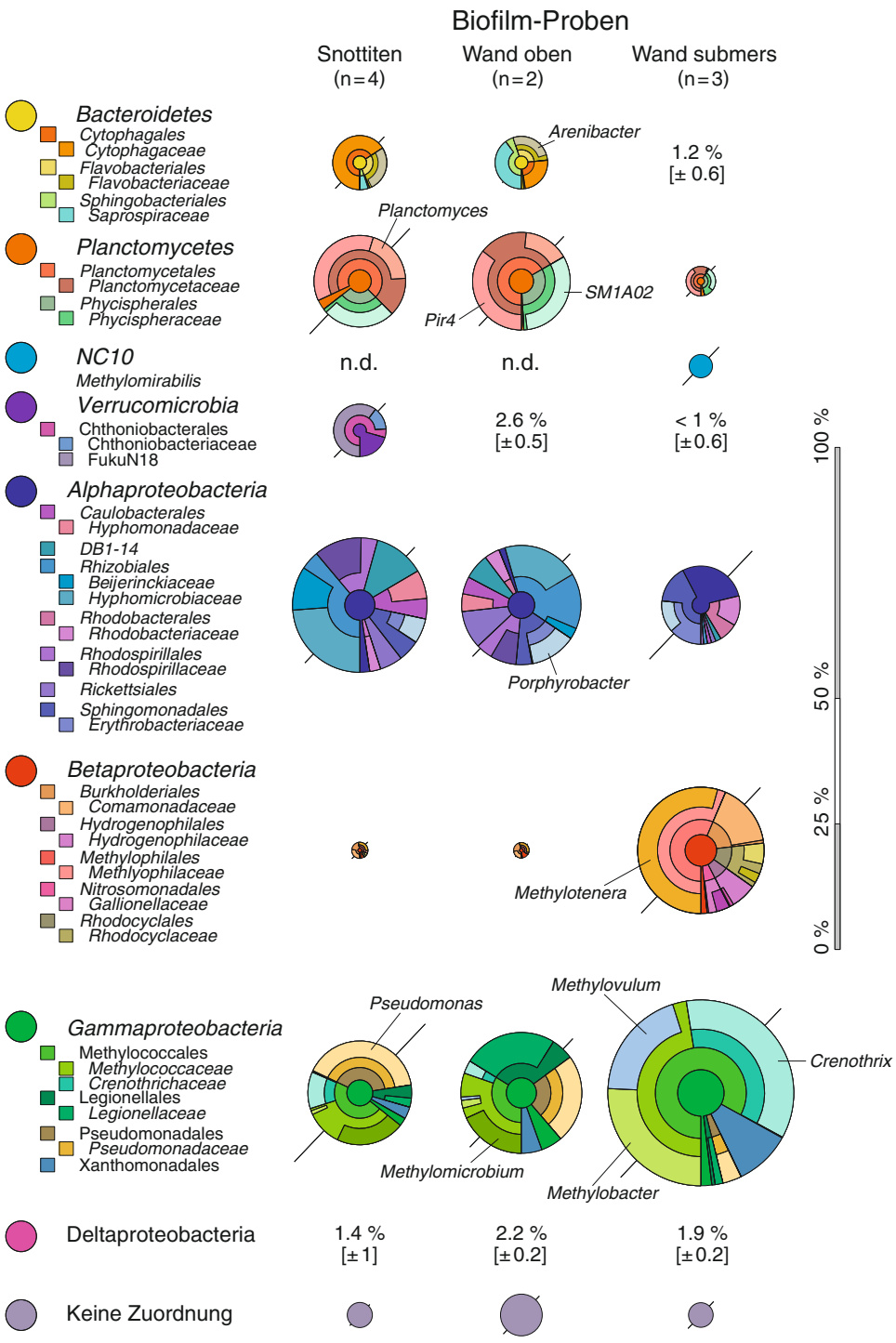

Abb. 7. Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaften in den Biofilmen (Snottiten und Höhlenwand) der Jodquelle Sulzbrunn. Häufige Phyla und Klassen sind teilweise bis zur Ebene von ausgewählten Familien und Gattungen aufgelöst. – Verändert nach Karwautz et al. (2018), © die Autoren 2018, CC BY-NC-SA 4.0.

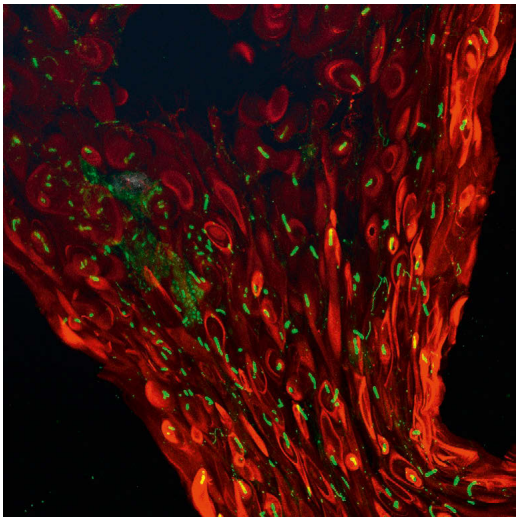

Abb. 8. Visualisierung der Biofilmmatrix der Snottiten über Lektinfärbung. Glycokonjugate (rot) sind mit den darin eingebetteten Bakterienzellen (grün) dargestellt. Die Abbildung stellt einen 3-dimensionalen Mehrkanal(2)-Bilddatensatz dar, welcher mit einem konfokalen Laser Scanning Mikroskop aufgenommen wurde. Die 2d Bildserie ist als »maximum intensity projection« (MIP) dargestellt, die Originaldaten bestehen aus 70 Einzelbildern, welche im Abstand von 1 µm aufgenommen wurden. – Konfokale Laser Scanning Mikroskopie: Thomas R. Neu (Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung – UFZ, Magdeburg).

durchgeführt. Die erste Überraschung war, dass wir eine unerwartet hohe bakterielle Diversität in den Biofilmen nachweisen konnten (Abb. 7). Wir fanden eine komplexe mikrobielle Lebensgemeinschaft, in der aerobe methanotrophe und methylotrophe Bakterien eine große Rolle spielten. Dazu gehörten z. B. *Crenothrix*, *Methylobacter*, *Methylovulum*, *Methylomicrobium* und *Methylotenera* spp. Darüber hinaus aber fanden sich vor allem in den Snottiten auch überraschend viele typischerweise heterotrophe Bakterien, wie z. B. Mitglieder der Alphaproteobacteria, der Planctomycetes und der Bacteroidetes (Abb. 7). In der Höhle scheint also ein komplexes mikrobielles Nahrungsnetz entstanden zu sein, primär basierend auf den Methanotrophen. Wir vermuten, dass die Biofilmmatrix, die typischerweise reich an Zuckern und Polymeren ist, eine Funktion als Elektronensenke hat. Die Methanotrophen schwimmen sozusagen in Energie, sind aber sauerstoff- und wahrscheinlich auch nährstofflimitiert und müssen daher ihre Reduktionsäquivalente über die Ausscheidung von reduzierten Zuckern regenerieren.

Auch haben wir Hinweise darauf, dass in der Höhle möglicherweise ein mikrobieller Jodkreislauf stattfinden könnte, was etwas völlig Neuartiges wäre. Jod ist in der Medizin primär als Bakterizid bekannt (Küpper et al. 2011) und wurde in den Biofilmen in Sulzbrunn auch mit einer gewissen Anreicherung nachgewiesen. Kollegen vom Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung in Magdeburg, Spezialisten für Biofilmfärbungen, haben für uns die Biofilmmatrix über Lektinfärbungen visualisiert (Karwautz et al. 2018). So konnten wir zeigen, dass sich einzelne Zellen in den Snottiten in massive Kapseln aus Glycokonjugaten einbetten (Abb. 8). Die Funktion der Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) in Biofilmen ist als schützende Diffusionsbarriere für die darin lebenden Mikroorganismen gut beschrieben (Flemming et al. 2016). So werten wir die räumliche Struktur der Biofilme in Sulzbrunn als ersten Hinweis darauf, dass sich die Methano- und Methylotrophen möglicherweise vor reaktiven Jod-Spezies schützen müssen. In unserer Forschung zu diesem Thema werden wir über die nächsten Jahre versuchen, die vermutete neuartige Kopplung zwischen den Methan- und Jodkreisläufen in Sulzbrunn über biogeochemische und genomische Ansätze eindeutig nachzuweisen.

Schlussfolgerungen und Ausblick

Mikrobiome im Grundwasser sind also an vielen wichtigen Funktionen in der Steuerung unserer Trinkwasserqualität beteiligt. Wir können diese Funktionen und die daran beteiligten mikrobiellen Populationen über den Einsatz molekularökologischer Methoden in Kombination mit der Analytik von stabilen Isotopen gezielt herausarbeiten. Künftig könnte es interessant sein, diese Schlüsselpopulationen und auch mögliche neuartige Ökophysiologien nicht nur besser zu verstehen, sondern sie auch zu steuern, um daraus Anwendungen im Bereich der Standortsanierung oder der Abwasserbehandlung zu entwickeln. Auch die bessere Berücksichtigung natürlicher mikrobieller Potenziale, z. B. der intrinsischen Denitrifizierung in Grundwasserleitern, sollte in Richtlinien und Handlungsempfehlungen zum Grundwasserschutz mit einfließen.

Komplexe Umweltmikrobiome, wie z. B. das hier für den Quellstollen in Sulzbrunn vorgestellte, sind meiner Meinung nach ideale Modellsysteme, in denen wir uns auch mit übergeordneten ökologischen Fragestellungen befassen können, wie z. B. mit dem Prinzip der Emergenz: Wie entsteht organismische Diversität und Komplexität basierend auf relativ einfachen und klar definierten Ressourceneinträgen? Auch ist die Mikrobiomforschung meiner Meinung nach ein wichtiger Nukleus für interdisziplinäre Forschungsprojekte zwischen Umwelt und Gesundheit. Am Helmholtz Zentrum München entwickeln wir aktuell mit Kollegen ein neues Konzept, mit dem wir die Ökosystemdienstleistungen von Mikrobiomen in der Umwelt mit den metabolischen Dienstleistungen von Mikrobiomen in Wirtsorganismen, wie z. B. dem Menschen, in Verbindung bringen wollen. Die Ergebnisse dieser Initiative werden sich auch im größeren Münchener Umfeld und in der Bayerischen Forschungslandschaft ideal integrieren lassen.

Danksagung

Ich bedanke mich herzlichst bei meinen hoch engagierten Mitarbeitern und Kollegen am Institut für Grundwasserökologie des Helmholtz Zentrums München sowie bei der Helmholtz-Gemeinschaft und dem Europäischen Forschungsrat (ERC, Grant Agreement No. 616644) für die Unterstützung meiner Forschung.

Literatur

Aelion, C. M., P. Höhener, P., D. Hunkeler & R. Aravena (eds.). 2009. Environmental isotopes in biodegradation and bioremediation. – CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 464 pp.

Anantharaman, K., C. T. Brown, L. A. Hug, I. Sharon, C. J. Castelle, A. J. Probst, B. C. Thomas, A. Singh, M. J. Wilkins, U. Karaoz, E. L. Brodie, K. H. Williams, S. S. Hubbard & J. F. Banfield. 2016. Thousands of microbial genomes shed light on interconnected biogeochemical processes in an aquifer system. – Nature Communications, 7: 13219, doi: 10.1038/ncomms13219.

Flemming, H.-C., J. Wingender, U. Szewzyk, P. Steinberg, S. A. Rice & S. Kjelleberg. 2016. Biofilms: an emergent form of bacterial life. – Nature Reviews Microbiology, 14 (9): 563–575.

Griebler, C. & T. Lueders. 2009. Microbial biodiversity in groundwater ecosystems. – Freshwater Biology, 54 (4): 649–677.

Hose, L. D. & J. A. Pisarowicz. 1999. Cueva de Villa Luz, Tabasco, Mexico: reconnaissance study of an active sulfur spring cave and ecosystem. – Journal of Cave and Karst Studies, 61 (1): 13–21.

Karwautz, C., G. Kus, M. Stöckl, T. R. Neu & T. Lueders. 2018. Microbial megacities fueled by methane oxidation in a mineral spring cave. – The ISME Journal, 12: 87–100.

Küpper, F. C., M. C. Feiters, B. Olofsson, T. Kaiho, S. Yanagida, M. B. Zimmermann, L. J. Carpenter, G. W. Luther, Z. Lu, M. Jonsson & L. Kloo. 2011. Commemorating two centuries of iodine research: an interdisciplinary overview of current research. – Angewandte Chemie International Edition, 50 (49): 11598–11620.

Larentis, M., K. Hoermann & T. Lueders. 2013. Fine-scale degrader community profiling over an aerobic/anaerobic redox gradient in a toluene-contaminated aquifer. – Environmental Microbiology Reports, 5 (2): 225–234.

Lueders, T. 2017. The ecology of anaerobic degraders of BTEX hydrocarbons in aquifers. – FEMS Microbiology Ecology, 93 (1): fiw220, doi: 10.1093/femsec/fiw220.

Luef, B., K. R. Frischkorn, K. C. Wrighton, H.-Y. N. Holman, G. Birarda, B. C. Thomas, A. Singh, K. H. Williams, C. E. Siegerist, S. G. Tringe, K. H. Downing, L. R. Comolli & J. F. Banfield. 2015. Diverse uncultivated ultra-small bacterial cells in groundwater. – Nature Communications, 6: 6372, doi: 10.1038/ncomms7372.

Meckenstock, R. U., M. Elsner, C. Griebler, T. Lueders, C. Stumpp, J. Aamand, S. N. Agathos, H.-J. Albrechtsen, L. Bastiaens, P. L. Bjerg, N. Boon, W. Dejonghe, W. E. Huang, S. I. Schmidt, E. Smolders, S. R. Sørensen, D. Springael & B. M. van Breukelen. 2015. Biodegradation: updating the concepts of control for microbial cleanup in contaminated aquifers. – Environmental Science & Technology, 49 (12): 7073–7081.

Müller, H., J. Bosch, C. Griebler, L. R. Damgaard, L. P. Nielsen, T. Lueders & R. U. Meckenstock. 2016. Long-distance electron transfer by cable bacteria in aquifer sediment. – The ISME Journal, 10: 2010–2019.

Nikolenko, O., A. Jurado, A. V. Borges, K. Knöller & S. Brouyère. 2018. Isotopic composition of nitrogen species in groundwater under agricultural areas: A review. – Science of the Total Environment, 621: 1415–1432.

Pfeffer, C., S. Larsen, J. Song, M. Dong, F. Besenbacher, R. L. Meyer, K. U. Kjeldsen, L. Schreiber, Y. A. Gorby, M. Y. El-Naggar, K. Man Leung, A. Schramm, N. Risgaard-Petersen & L. P. Nielsen. 2012. Filamentous bacteria transport electrons over centimetre distances. – Nature, 491 (7423): 218–221.

Pilloni, G., F. von Netzer, F., M. Engel & T. Lueders. 2011. Electron acceptor-dependent identification of key anaerobic toluene degraders at a tar-oil-contaminated aquifer by Pyro-SIP. – FEMS Microbiology Ecology, 78 (1): 165–175.

Prüss-Üstün, A. & C. Corvalán. 2006. Preventing disease through healthy environments. Towards an estimate of the environmental burden of disease. – World Health Organization, Geneva, CH, 103 pp.
Rinke, C., P. Schwientek, A. Sczyrba, N. N. Ivanova, I. J. Anderson, J.-F. Cheng, A. Darling, S. Malfatti, B. K. Swan, E. A. Gies, J. A. Dodsworth, B. P. Hedlund, G. Tsiamis, S. M. Sievert, W.-T. Liu, J. A. Eisen, S. J. Hallam, N. C. Kyrpides, R. Stepanauskas, E. M. Rubin, P. Hugenholtz & T. Woyke 2013. Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter. – Nature, 499 (7459): 431–437.
Schott, A. C. (Hrsg.) 1858. Wildbad Sulzbrunn bei Kempten in Bayern nebst der neuesten vom Freiherrn Dr. von Liebig vollzogenen authentischen Analyse seiner Jodquellen, sowie der dadurch auf organischem Wege erzeugten Jodmilch und Jodmolke. – I. Jahrbuch. Verlag A. Vömel, Frankfurt a. M., 234 S.
Shiklomanov, I. A. 1993. World fresh water resources. – In: Gleick, P. H. (ed.): Water in Crisis: A Guide to the World's Freshwater Resources. Oxford University Press, New York, Oxford: 13–24.
Stockmarr, J. & R. Thomsen. 2006. Water supply in Denmark. The Danish action plan for promotion of eco-efficient technologies. – Danish lessons. Miljøstyrelsen, Copenhagen, DK, 18 pp.
UBA (Umweltbundesamt; Hrsg.). 2010. Rund um das Trinkwasser. – UBA, Dessau-Roßlau, 88 S.
Wagner, M. 2019. Mikrobiome – Wissensstand und Perspektiven. – In: Bayer. Akademie der Wissenschaften (Hrsg.): Die unbekannte Welt der Mikrobiome. Pfeil, München: 17–27.
WHO (World Health Organization). 2018. Drinking-water. Fact sheet, reviewed March 2018. – http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs391/en/ [zuletzt abgerufen am 09.08.18].
Winderl, C., B. Anneser, C. Griebler, R. U. Meckenstock & T. Lueders. 2008. Depth-resolved quantification of anaerobic toluene degraders and aquifer microbial community patterns in distinct redox zones of a tar oil contaminant plume. – Applied and Environmental Microbiology, 74 (3): 792–801.
Ziegler, S., K. Dolch, K. Geiger, S. Krause, M. Asskamp, K. Eusterhues, M. Kriews, D. Wilhelms-Dick, J. Goettlicher, J. Majzlan & J. Gescher. 2013. Oxygen-dependent niche formation of a pyrite-dependent acidophilic consortium built by archaea and bacteria. – The ISME Journal, 7 (9): 1725–1737.

Diskussion

G. Gebauer: Sie haben die Gülleausbringung als primäre Ursache für den Nitrataustrag in das Grundwasser genannt. Aber ist es nicht vielmehr so, dass der Stickstoff in der ausgebrachten Gülle primär als Ammoniak entweicht (daher der strenge Geruch nach einer Gülleausbringung) und damit das Nitrat, das in das Grundwasser gelangt, vorwiegend aus der Mineralstickstoffdüngung hervorgeht, die die Landwirte ja parallel dazu durchführen?

T. Lüders: Das ist eine Frage, auf die eine abschließende Antwort nur äußerst schwer zu geben ist. Beides, Düngung und Gülle, spielen eine wichtige Rolle bei der Grundwasserbelastung durch Nitrat. Bei Ausbringung der Gülle auf einen trockenen Boden im Sommer ist es sicherlich so, dass ein Großteil des Ammoniums direkt in die Atmosphäre entweicht. Es ist allerdings auch so, dass die an bestimmte Wetterszenarien (wie tauende Böden im späten Winter) gekoppelte Ausbringung von Gülle, die mit der zunehmenden Intensivtierhaltung unvermeidlich einhergeht, an zunehmende Stickstoffeinträge in das Grundwasser gekoppelt ist, die eindeutig lokal nachgewiesen werden können. Je nach der lokalen Bodenbeschaffenheit und der Landnutzung können diese meiner Meinung nach durchaus eine größere Rolle spielen als die Auswaschung von Nitrat aus der vorwiegend während der Vegetationsperiode ausgebrachten Düngung mit Mineraldüngern. Hierzu besteht aber sicherlich noch erheblicher Forschungsbedarf.