

# Entwicklung von molekularbiologischen Methoden zum Nachweis der Denitrifikation im Grundwasser

C. Schäfer, B. Lotz, J. Armbruster, A. Tiehm

DVGW-Technologiezentrum Wasser, Abteilung Mikrobiologie und Molekularbiologie, Karlsruhe, Germany  
Telefon: +49 721 9678 1913 • E-Mail: charlotte.schaefer@tzw.de

**TZW**  
Technologiezentrum  
Wasser

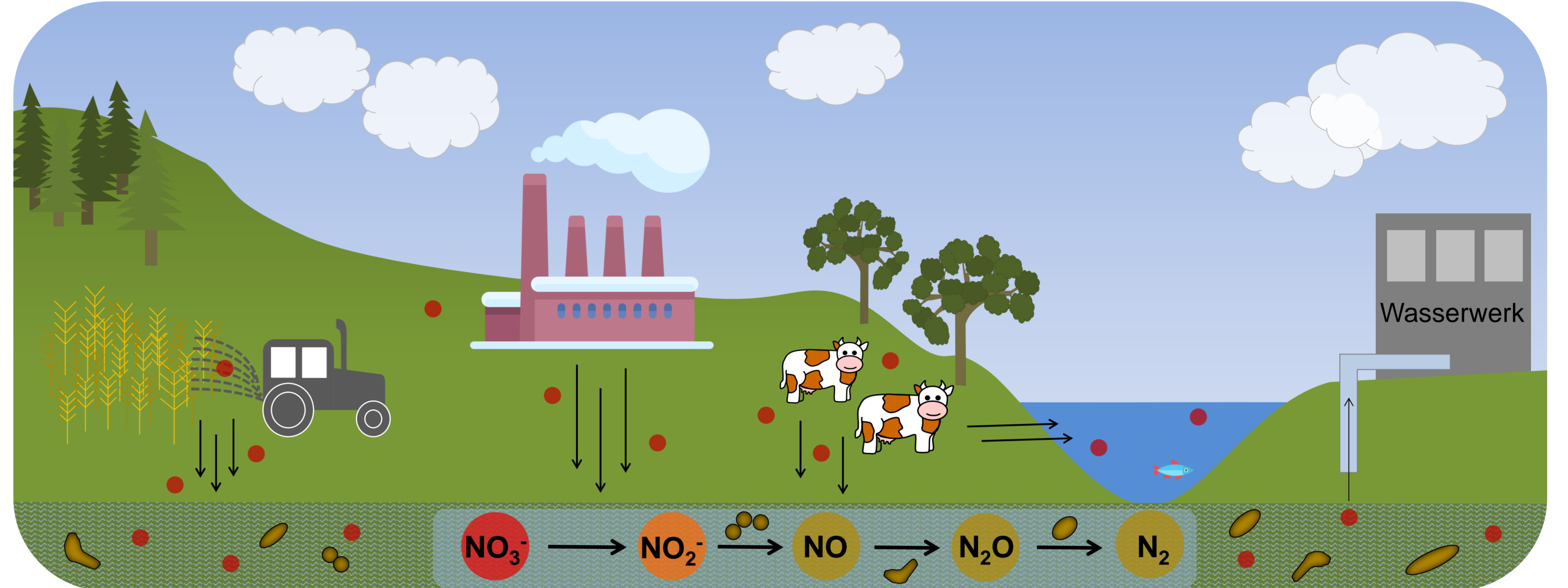
ReWaM Abschlusskonferenz • 08.-09. Mai 2018 • Berlin, Deutschland



## MOTIVATION

Aufgrund der exzessiven Anwendung von Stickstoffdünger steigt die Belastung des Grundwassers mit Nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ). Biologische **Nitratbauprozesse** in der ungesättigten Bodenzone wie auch im Grundwasserleiter ermöglichen die **Verringerung der Nitratbelastung**.

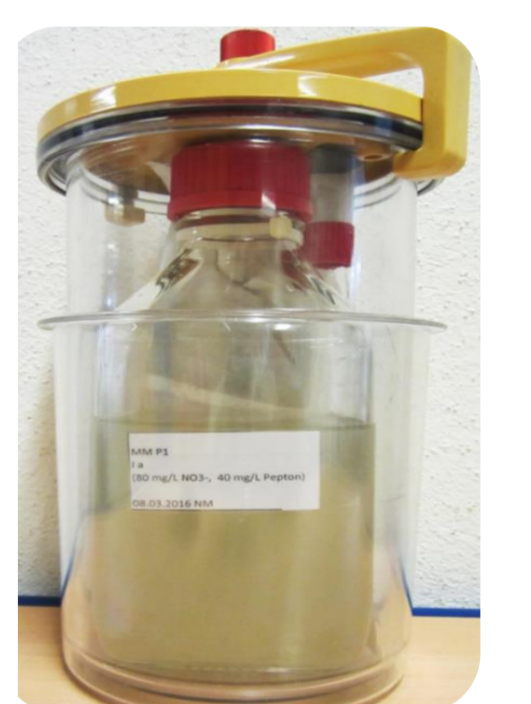
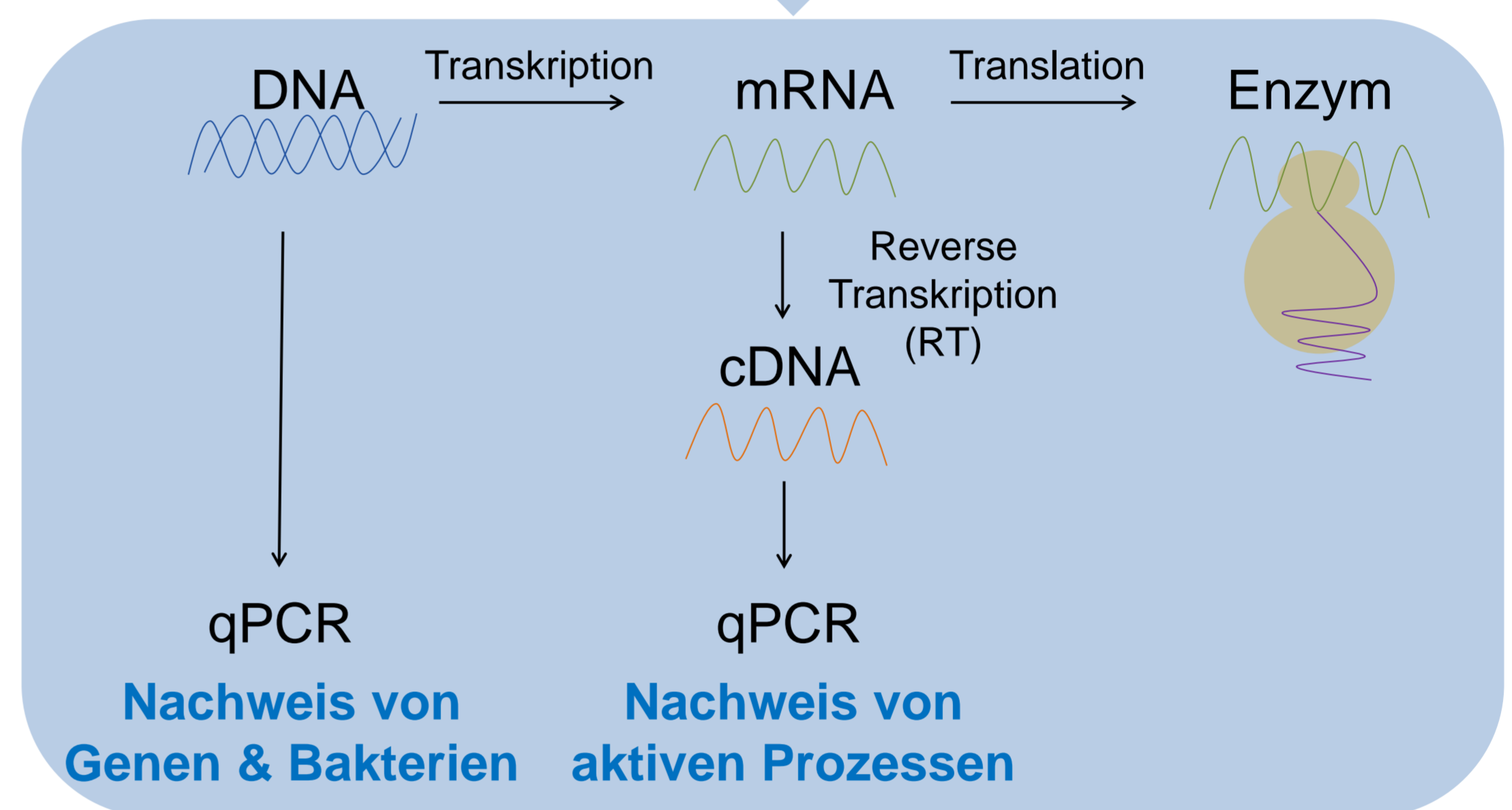
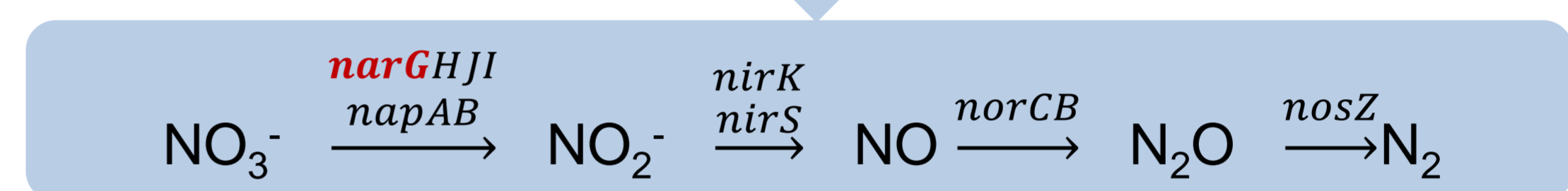
Im Rahmen des Projektes „GroundCare“ werden die **Umsetzungsaktivitäten von Stickstoffkomponenten** durch Mikroorganismen im Grundwasser als Ökosystemleistung erfasst. Dazu werden PCR-Nachweise der funktionellen Gene des Stickstoff-Kreislaufes etabliert und diese mit der Abbauprodukt der Bakterien im Grundwasser in Zusammenhang gebracht.



## METHODEN

Um den mikrobiellen Nitratbauprozess analytisch sowie molekularbiologisch nachverfolgen zu können, wurde zunächst eine **denitrifizierende Pseudomonas veronii** Kultur aus kontaminierten Umweltproben isoliert. Diese wurde in Batchversuchen mit Medium, das entsprechende Stickstoff- und Kohlenstoffquellen enthält, angeimpft und deren Wachstum verfolgt. Mittels ionenchromatographische Analysen wurde im Verlauf der Denitrifikation die Konzentration von Nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) und Nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) gemessen.

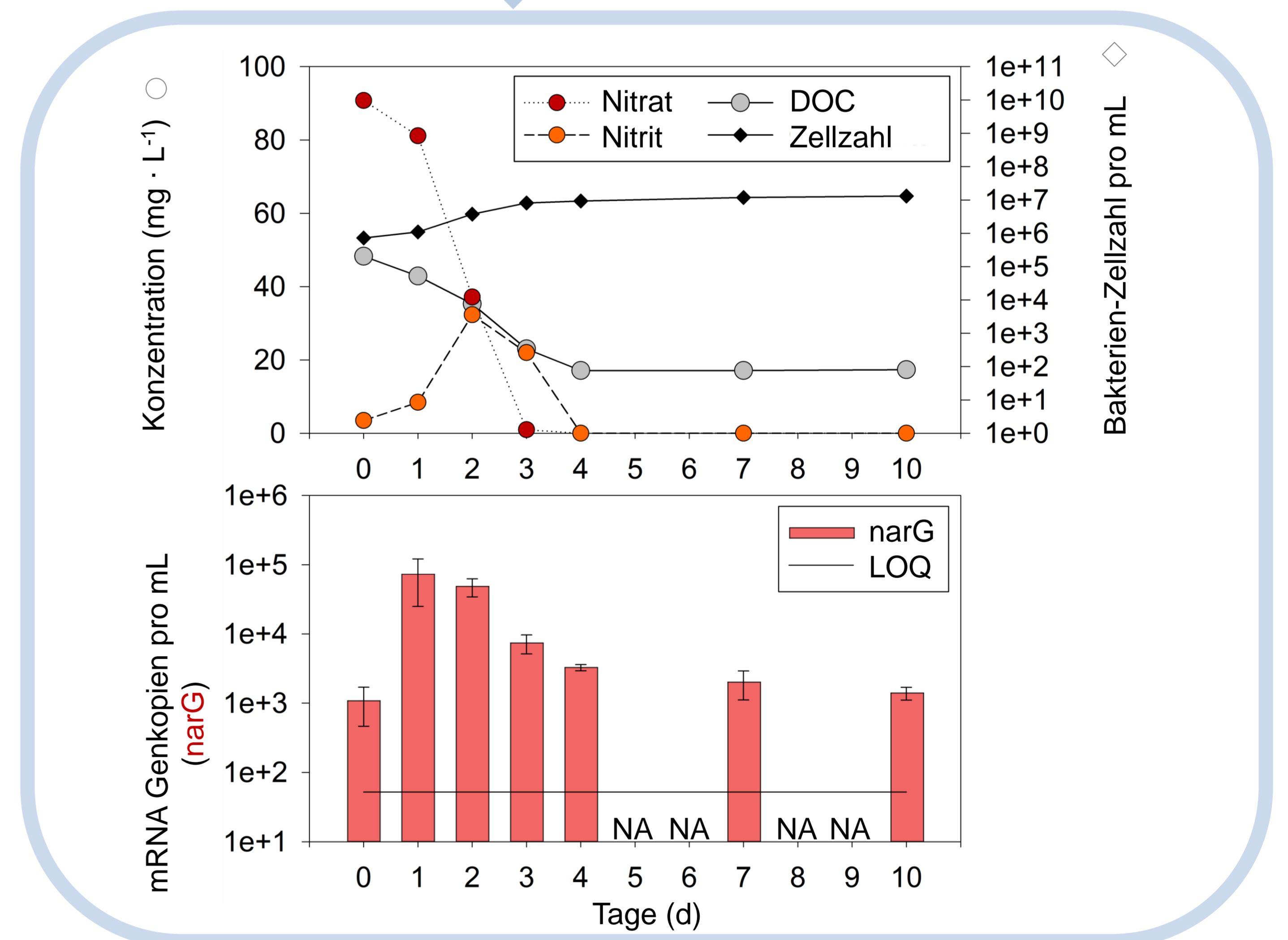
Um den Prozess der Denitrifikation auch molekularbiologisch nachverfolgen zu können, wurde neben der **gDNA** auch die **mRNA der funktionellen Gene** extrahiert und mittels quantitativer PCR (qPCR) analysiert. Besonderes Interesse galt dabei zunächst dem **Transkriptionslevel der Nitratreduktase (narG)** – dem Enzym, welches die Umwandlung vom Nitrat zum Nitrit codiert.



## ERGEBNISSE & DISKUSSION

Die Ergebnisse des Wachstumsversuchs zeigen, dass der Nitrat-Abbau mit dem Transkriptionslevel der Nitratreduktase (*narG*) korreliert. So ist im Verlauf der Denitrifikation eine Abnahme der Nitrat-Konzentration zu verzeichnen, während die Nitrit-Konzentration zunimmt. Dies wird von einem **Maximum des Transkriptionslevels** der Nitratreduktase (*narG*) begleitet.

Der Versuch zeigt somit, dass diese Methode ein **geeignetes Monitoringverfahren** für die Erfassung von aktivem Nitratbauprozess ist.



## AUSBLICK

Die Ergebnisse der Laborversuche zeigen, dass eine aktive Abbauleistung mittels mRNA-Analytik erfasst werden kann. Im nächsten Schritt werden die etablierten molekularbiologischen Methoden mit Grundwasserproben, die eine **niedrigere Nachweisgrenze** erfordern, getestet und die Abbauleistung im Feld evaluiert. Des Weiteren werden **Stabilitätstests** durchgeführt, die zeigen sollen, wie lange die mRNA in abgefüllten Umweltproben während des Transportes stabil bleibt.

Diese Studie soll dazu dienen, aktive Denitrifikation im Feld nachzuweisen und damit die **natürliche Abbauleistung von Stickstoffkomponenten** erfassen zu können.



## DANKSAGUNG

Wir danken für die finanzielle Förderung.  
(Projekt GroundCare, Fördermaßnahme ReWaM,  
BMBF Förderkennzeichen: 033W037B)

