

Verbreitung und Aktivität der methanotrophen Mikroflora in arktischen Böden des Lena-Deltas, Sibirien

DIPLOMARBEIT
zur Erlangung des akademischen Grades
DIPLOM-GEOÖKOLOGIN

erstellt am
Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, Potsdam

vorgelegt der
Universität Potsdam,
Institut für Geoökologie

eingereicht von
Susanne Liebner

Potsdam, September 2003

Betreuer: 1. Dr. Dirk Wagner
2. Dr. habil. Klaus Kaden

Inhaltsverzeichnis

I	Zusammenfassung.....	III
II	Abbildungsverzeichnis.....	V
III	Tabellenverzeichnis.....	VII
IV	Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole.....	VIII
1	Einleitung und Fragestellung.....	1
2	Grundlagen.....	4
2.1	Die Methanflüsse in Feuchtgebieten.....	4
2.1.1	Methanbildung durch methanogene Archaeen.....	4
2.1.2	Methanabbau durch methanotrophe Bakterien.....	4
2.1.3	Transportwege und Freisetzung von Methan in Feuchtgebieten.....	5
2.2	Die Gruppe der Methan oxidierenden Bakterien	6
2.3	Anpassung der Methan bildenden und Methan oxidierenden Mikroflora an ihre Umwelt.....	8
2.4	Das Prinzip der Fluoreszenz-<i>in-situ</i>-Hybridisierung sowie Vor- und Nachteile bei der Anwendung.....	13
3	Untersuchungsgebiet.....	16
3.1	Das Lena-Delta.....	16
3.2	Die Insel Samoylov.....	19
3.3	Die Böden der Insel Samoylov.....	22
3.4	Das Klima im Lena-Delta.....	23
4	Material und Methoden.....	24
4.1	Untersuchungsmaterial und Aufbereitung.....	24
4.1.1	Bodenproben der Insel Samoylov.....	24
4.1.2	Anreicherungskulturen.....	25
4.2	Bodenphysikalische Analysen.....	26
4.2.1	Porengrößenverteilung.....	26
4.2.2	Korngrößenverteilung.....	28
4.3	Bodenchemische Analysen.....	28
4.3.1	pH-Wert.....	28
4.3.2	Kohlenstoff- und Stickstoffgehalte.....	29
4.4	Bodenmikrobiologische Analysen.....	30
4.4.1	Zellzahlbestimmung der Methan oxidierenden Bakterien....	30
4.4.2	Methanoxidationsaktivität.....	31
4.4.2.1	Methanoxidationsaktivität in Abhängigkeit von der Temperatur.....	31

4.4.2.2	Methanoxidationsaktivität in Abhängigkeit vom Substrat.....	32
4.5	Fluoreszenz-<i>in-situ</i>-Hybridisierung (FISH).....	33
4.5.1	Sonden.....	33
4.5.2	Fixierung der Boden – und Anreicherungskulturen.....	33
4.5.3	Hybridisierung.....	34
4.5.4	DAPI-Färbung.....	34
4.5.5	Epifluoreszenzmikroskopie.....	36
4.6	Gasanalytik.....	36
4.7	Fremddaten.....	36
5	Ergebnisse.....	38
5.1	Der Permafrost-Auengley im Norden der Insel Samoylov: Typic Aquorthel.....	38
5.1.1	Bodenmorphologie und -klassifikation.....	38
5.1.2	Bodenphysikalische Eigenschaften.....	40
5.1.3	Bodenchemische Eigenschaften.....	42
5.2	Zellzahlen der Methan oxidierenden Bakterien im Typic Aquorthel.....	46
5.3	Einfluss der Temperatur auf die Methanoxidationsaktivität.....	47
5.4	Einfluss des Substrates auf die Methanoxidationsaktivität.....	49
5.5	Methanoxidations- und Methanbildungsaktivität im Typic Aquorthel unter <i>in-situ</i>-Bedingungen.....	52
5.6	Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien.....	55
5.6.1	Anreicherungskulturen und Bodenproben des Permafrost-Auengleys (<i>Typic Aquorthel</i>).....	56
5.6.2	Anreicherungskulturen und Bodenproben des Tundra-Morrgleys (<i>Typic Historthel</i>).....	59
6	Diskussion.....	64
6.1	Anpassung der Methan oxidierenden Bakterien an unterschiedliche Standortbedingungen in Permafrostböden.....	64
6.2	Einfluss der Temperatur und der Substratkonzentration auf die Aktivitätspotentiale der Methan oxidierenden Bakterien....	69
6.3	Einfluss von Temperatur und Substratkonzentration auf die Zusammensetzung der Methan oxidierenden Bakterien im Tiefenprofil von Permafroststandorten.....	72
6.4	Schlussfolgerungen.....	75
6.5	Kritische Betrachtung und Forschungsbedarf.....	76
7	Literaturverzeichnis.....	78
A	Anhang.....	93

I Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersucht die **Verbreitung und Aktivität der Methan oxidierenden (methanotrophen) Mikroflora in arktischen Böden des Lena-Deltas, Sibirien**. Dazu wurden die Anpassungspotentiale der Methan oxidierenden Mikroflora an unterschiedliche Standortfaktoren ebenso untersucht, wie ihre Aktivitätspotentiale bei unterschiedlichen Temperaturen und Methankonzentrationen. Mit Hilfe einer Methode der Ganzzellhybridisierung, der sogenannten Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung, konnten aus den gewonnenen Ergebnissen Unterschiede in der Populationszusammensetzung im Tiefenprofil von Permafroststandorten aufgezeigt und erklärt werden.

Die Anpassungspotentiale von Methan oxidierenden Bakterien wurden durch den Vergleich eines Permafrost-Auengleys mit einem Tundra-Moorgley der Insel Samoylov im Lena-Delta untersucht. Der Permafrost-Auengley stellte aufgrund seiner bodenphysikalischen und bodenchemischen Eigenschaften ein günstigeres Habitat für die Methan oxidierenden Bakterien dar als der Tundra-Moorgley. Die maximalen Zellzahlen im Permafrost-Auengley waren mehr als dreimal so hoch wie die maximalen Zellzahlen im Tundra-Moorgley. Die Methanoxidationsaktivität unter *in-situ*-Bedingungen betrug im Permafrost-Auengley etwa das Zehnfache der Methanoxidationsaktivität des Tundra-Moorgleys. Ausschlaggebend für die Unterschiede in den Zellzahlen und den Aktivitäten war das Bodensubstrat, die damit verbundene Porengrößenverteilung sowie die Qualität des DOC.

- Der hohe Schluffanteil im Permafrost-Auengley und der damit verbundene ebenfalls hohe Anteil an Mittelporen korrelieren positiv mit den Zellzahlen Methan oxidierender Bakterien.
- Das engere und damit günstigere C/N-Verhältnis des Permafrost-Auengleys scheint die Qualität des DOC und damit die Lebensbedingungen der Methan oxidierenden Bakterien positiv zu beeinflussen.
- Die Zellzahlen Methan oxidierender Bakterien korrelieren in beiden Standorten positiv mit dem Methangehalt und damit ebenso mit der Methanbildung im Boden. Die Sauerstoffkonzentration spielt in Bezug auf die Zellzahlen und die Aktivität Methan oxidierender Bakterien eine untergeordnete Rolle.

Aufgrund der Aktivitätspotentiale bei unterschiedlichen Temperaturen und Methangehalten konnte eine sehr gute Anpassung der Methan oxidierenden Mikroflora an die Temperatur- und Methankonzentrationsgradienten in arktischen Böden beobachtet werden:

- In den oberen Bodenhorizonten des Permafrost-Auengleys existieren Methan oxidierende Bakterien mit einer hohen Substrataffinität. Ihre maximale Aktivität erreichen diese Organismen bei Temperaturen $> 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ und einer Methankonzentration zwischen 5000 ppm und 10000 ppm. Bei $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ zeigen diese Organismen jedoch immerhin noch die Hälfte und bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ bzw. $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ noch ein Drittel ihrer maximalen Aktivität.
- In den tieferen Bodenhorizonten, dem Übergangsbereich zum Permafrost sowie dem Permafrostbereich selbst, die durch mehr als $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ niedrigere *in-situ* Temperaturen und weitaus höhere Methankonzentrationen gekennzeichnet sind als die Oberbodenhorizonte, leben einerseits psychrophile Methan oxidierende Bakterien. Diese erreichen ihre maximale Aktivität bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Zum anderen dominieren in diesen Horizonten Methan oxidierende Organismen mit einer niedrigen Substrataffinität. Ihre K_m -Werte sind mehr als sechsmal so hoch wie im Ai-Horizont (0- 5 cm Bodentiefe).

Die Anpassungs- und Aktivitätspotentiale spiegeln sich in der Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien wider und sind offensichtlich auf die physiologischen Unterschiede beider Gruppen Methan oxidierender Bakterien zurückzuführen. Mit Hilfe der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung wurde folgende Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien im Tiefenprofil beobachtet:

- In den oberen Bodenhorizonten existieren temperaturangepasste Typ I Methan oxidierende Bakterien, die entweder der Gruppe der psychrotoleranten Bakterien oder einer Mischflora aus psychrophilen und mesophilen Methan oxidierenden Bakterien angehören und durch eine hohe Substrataffinität charakterisiert sind.
- In den tieferen Horizonten leben zum einen psychrophile Typ I Methan oxidierende Bakterien, zum anderen Typ II Methan oxidierende Bakterien mit einer geringen Substrataffinität.

II Abbildungsverzeichnis

3-1	Lage der Laptev-See im arktischen Ozean	16
3-2	Geomorphologische Terrassen und Lage der Insel Samoylov im Lena-Delta.....	17
3-3a-c	Oberflächenstrukturen im Lena-Delta.....	18
3-4	Lage der Insel Samoylov im Lena-Delta.....	19
3-5	Lage der Untersuchungsstandorte auf der Insel Samoylov.....	21
3-6	Fotografie eines <i>Glacic Aquiturbel</i>	22
5-1	Fotografie vom <i>Typic Aquorthel</i> mit Profilschema.....	38
5-2	Korngrößenverteilung des <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley)..	41
5-3	Porengrößenverteilung des <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley)	42
5-4	Lagerungsdichte und Gesamtporenvolumen im <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley).....	43
5-5	pH-Werte im <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley).....	43
5-6	Gehalte an organischem Kohlenstoff sowie Humusgehalt im <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley).....	44
5-7	Gehalte an gelöstem organischen Kohlenstoff (DOC) im <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley).....	45
5-8	Kohlenstoff- und Stickstoff-Gesamtgehalte sowie C/N-Verhältnis im <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley).....	46
5-9	Zellzahlen der Methan oxidierenden Bakterien im <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley).....	47
5-10	Potentielle Methanoxidationsaktivität im <i>Typic Aquorthel</i> bei 0 °C, 4 °C, 10 °C und 21 °C.....	48
5-11	Potentielle Methanoxidationsaktivität im <i>Typic Aquorthel</i> , Vergleich der Horizonte bei 0 C°, 4 °C, 10 °C und 21 °C.....	49
5-12	Potentielle Methanoxidationsaktivität im <i>Typic Aquorthel</i> bei einer Methanausgangskonzentration von 1000 ppm, 2000 ppm, 5000 ppm und 21000 ppm.....	50
5-13	Potentielle Methanoxidationsaktivität im <i>Typic Aquorthel</i> ; Vergleich der Horizonte bei einer Methanausgangskonzentration von 1000 ppm, 2000 ppm, 5000 ppm und 21000 ppm.....	51
5-14	K _M -Werte (MICHAELIS-MENTEN-KONSTANTE) für das Tiefenprofil Des <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley).....	52
5-15	Methanoxidationsaktivität unter <i>in-situ</i> -Bedingungen bei <i>in-situ</i> Temperaturen im Tiefenprofil des <i>Typic Aquorthel</i>	53

5-16	Methanbildungsaktivitäten unter <i>in-situ</i> -Bedingungen bei <i>in-situ</i> Temperaturen im Tiefenprofils des <i>Typic Aquorthel</i>	54
5-17	<i>in-situ</i> Methankonzentration im <i>Typic Aquorthel</i> und im <i>Typic Historthel</i>	55
5-18	Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien im <i>Typic Aquorthel</i> ; Gegenüberstellung von Anreicherungskulturen und feldfrischen Boden.....	57
5-19a-c	Anreicherung aus dem Gr4-Horizont (40 bis 52 cm) des <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley); FISH, DAPI Färbung, FISH und DAPI überlagert.....	58
5-20a-c	Bodenprobe aus dem Ah-Horizont (5 bis 9 cm) des <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley); FISH, DAPI-Färbung, FISH und DAPI überlagert.....	58
5-21a-c	Bodenprobe aus dem Gr2-Horizont (18 bis 35 cm) des <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley); FISH, DAPI-Färbung, FISH und DAPI überlagert.....	59
5-22	Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien im <i>Typic Historthel</i> ; Gegenüberstellung von Anreicherungskulturen und feldfrischen Boden.....	61
5-23a-c	Bodenprobe aus dem Gr-Aa-Horizont (15 bis 23 cm) des <i>Typic Historthel</i> (Tundra-Moorgley); FISH, DAPI-Färbung, FISH und DAPI überlagert.....	62
5-24a-c	Anreicherung aus dem Gr-Aa-Horizont (10 bis 15 cm) des <i>Typic Historthel</i> (Tundra-Moorgley); FISH, DAPI-Färbung, FISH und DAPI überlagert.....	62
5-25a-c	Anreicherung aus dem H-Horizont (5 bis 10 cm) des <i>Typic Historthel</i> (Tundra-Moorgley); FISH, DAPI-Färbung, FISH und DAPI überlagert.....	63
A-1	Gehalt an gelöstem organischem Kohlenstoff (DOC) im <i>Typic Historthel</i> (Tundra-Moorgley).....	93
A-2	Zellzahlen (MPN-Methode) der Methan oxidierenden Bakterien im <i>Typic Historthel</i> (KUTZBACH 2000 entnommen).....	94
A-3	Methanoxidationsaktivität unter <i>in-situ</i> -Bedingungen und <i>in-situ</i> Temperaturen im Tiefenprofil des <i>Typic Historthel</i> (Tundra-Moorgley) (Wagner et. al 2003 entnommen).....	95
A-4	Methanbildungsaktivität unter <i>in-situ</i> -Bedingungen und <i>in-situ</i> Temperaturen im Tiefenprofil des <i>Typic Historthel</i> (Tundra-Moorgley; WAGNER et. al 2003 entnommen).....	96
A-5	Bodenprobe aus dem Ai-Horizont (0 bis 5 cm) des <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley); FISH, DAPI-Färbung, FISH und DAPI überlagert.....	96

III Tabellenverzeichnis

2-1	Gegenüberstellung wichtiger Merkmale von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien.....	8
2-2	Einteilung der Bakteriengruppen je nach Temperaturbereich des mikrobiellen Wachstums.....	9
4-1	Übersicht zu Probenart, deren Aufbewahrung, Behandlung und Verwendungszweck.....	25
4-2	Zusammensetzung der Ausgangslösungen für das NMS-Medium nach Whittenburry et al. (1970).....	26
4-3	Übersicht zur Wasserspannung und äquivalenten Porendurchmessern, Porenbereichen und Wasserhaushalten.....	27
4-4	Zusammensetzung der Lösungen für Fixierung, Hybridisierung und Färbung.....	35
4-5	Profilbeschreibung des <i>Typic Historthel</i> (Tundra-Moorgley; KUTZBACH 2000 entnommen)	37
5-1	Profilaufnahme des <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley).....	39
5-2	Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien im Profil des <i>Typic Aquorthel</i> ; Gegenüberstellung von Anreicherungskulturen und feldfrischen Bodenproben des <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley).....	56
5-3	Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien im Profil des <i>Typic Historthel</i> Gegenüberstellung von Anreicherungskulturen und feldfrischen Bodenproben des <i>Typic Historthel</i> (Tundra-Moorgley).....	60
A-1	Korngrößenverteilung im <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley)..	93
A-2	potentielle Methanoxidationsaktivität im <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley) bei 21 °C, 10 °C, 4 °C und 0°C.....	94
A-3	Methanoxidationsaktivität unter <i>in-situ</i> -Bedingungen und <i>in-situ</i> Bodentemperaturen im <i>Typic Aquorthel</i>	95
A-4	potentielle Methanoxidationsaktivität im <i>Typic Aquorthel</i> (Permafrost-Auengley) bei einer Methanaustrittskonzentration von 1000 ppm, 2000 ppm, 5000 ppm und 21000 ppm.....	95

IV Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

a	annum, Jahr
Abb.	Abbildung
ad	aufgefüllt auf
aqua dest.	deionisiertes Wasser
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
bzw.	beziehungsweise
C _{ges} -Gehalt	Gesamtkohlenstoff Gehalt
CH ₄	Methan
C _{org} -Gehalt	Gehalt an organischem Kohlenstoff
Cy3, Cy5	fluoreszierende Carbocyaninfarbstoffe
d	Tag (day)
DAPI	4'6'Diaminodino-2-Phenylindol
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOC	löslicher organischer Kohlenstoff (d issolved o rganic c arbon)
et al.	und weitere Autoren (und andere)
Fa.	Firma
FG	Frischgewicht
FISH	Fluoreszenz- <i>in-situ</i> -Hybridisierung
FP	Feinporen
Gew.%	Hundertstel, gewichtsbezogen
GOF	Geländeroberfläche
GP	Grobporen (eGP = enge Grobporen, wGP = weite Grobporen)
h	Stunde
KA4	Bodenkundliche Kartieranleitung 4te Auflage (AG Boden 1994)
kPa	Kilopascal
K _m -Wert	Michaelis-Menten-Konstante
l	Liter
M	molar
mesh	Maschenweite (Stege pro 25,4 mm)
min	Minute
ml	Milliliter
µl	Mikroliter

mmol	Millimol
MOB	Methan oxidierende Bakterien
MP	Mittelporen
MPN	höchstwahrscheinliche Zellzahl (most probable number)
mV	Millivolt
N ₂	Stickstoff
nmol	Nanomol
NMS-Medium	Nitrat-Mineralsalz-Medium
O ₂	Sauerstoff
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PE	Polyethylen
pH	negativer dekadischer Logarithmus der molaren Wasserstoffionen-Konzentration
ppm	Millionstel (parts per million)
PV	Porenvolumen
PVC	Polyvinylchlorid
RNA	Ribonukleinsäure
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
S	Sand
SV	Substanzvolumen
T	Ton
Tab.	Tabelle
TG	Trockengewicht
T _{max}	maximale Wachstumstemperatur
T _{min}	minimale Wachstumstemperatur
T _{opt}	optimale Wachstumstemperatur
U	Schluff
Upm	Umdrehungen pro Minute
V _{max}	maximale Reaktionsgeschwindigkeit
v/v	Volumen/Volumen
WG	Wassergehalt
%	Prozent (Hundertstel)
°C	Grad Celsius

1 Einleitung und Fragestellung

Die vorliegende bodenmikrobiologische Arbeit untersucht die Verbreitung und Anpassung der Methan oxidierenden (methanotrophen) Mikroflora in arktischen Böden des Lena-Deltas, Sibirien. Sie trägt damit zum Verständnis der Prozesse bei, die die Methanemission aus natürlichen Habitaten regulieren.

Aufgrund der Fähigkeit der methanotrophen Mikroflora, Methan (CH_4) zu oxidieren, stellt sie eine der wichtigsten terrestrischen Senken für Methan dar. Damit besitzt sie für das globale Klima eine große Relevanz, da Methan neben Kohlendioxid, Ozon, den Fluorchlorkohlenwasserstoffen, Stickstoffdioxid und Wasserdampf zu den sogenannten Treibhausgasen gehört (CICERONE und OREMLAND 1988). Methan besitzt zwar eine 200-fach niedrigere Konzentration als das bedeutendste anthropogene Treibhausgas Kohlendioxid, trägt jedoch aufgrund des sehr viel höheren Wärmeabsorptionsvermögen mit 20 % zum anthropogenen Treibhauseffekt bei (WUEBBLES und HAYHOE 2002). Methan ist nach Kohlendioxid die am häufigsten vorkommende Kohlenstoffverbindung in der Atmosphäre. Die Konzentration beträgt 1,7 bis 1,8 ppm und nahm in den letzten Jahren um etwa 1 % pro Jahr zu (KHALIL und RASMUSSEN 1983). Abgesehen von der Tatsache, dass Methan direkt als Treibhausgas wirkt, wird es in der Atmosphäre zum Teil zu Kohlenmonoxid und dieses weiter zu Kohlendioxid oxidiert. Auf diesem Wege entstehen zusätzlich etwa 6 % des anthropogen in die Atmosphäre emittierten Kohlendioxids (CICERONE und OREMLAND 1988).

Der größte Teil des atmosphärischen Methans ist biogenen Ursprungs, das heißt, dass Methan im Zuge des anaeroben Abbaus von organischer Substanz durch die methanogene Mikroflora entsteht. Arktische Feuchtgebiete, zu denen auch das Untersuchungsgebiet dieser Arbeit, das Lena-Delta, gehört, stellen aufgrund der Wassersättigung des Bodens im Sommer und der damit verbundenen anaeroben Verhältnisse ideale Standorte der Methanbildung dar. Mit einem Flächenanteil von 26 % bilden sie die größte Gruppe der natürlichen Feuchtgebiete (MATTHEWS und FUNG 1987). 10 % des weltweit aus anthropogenen und natürlichen Quellen emittierten Methans stammt aus diesen Regionen (WAHLEN und REEBURGH 1992), wobei ihr Anteil an der globalen Methanemission bezogen auf ausschließlich natürliche Quellen sogar 25 % ausmacht (FUNG et al. 1991).

Wie viel Methan effektiv emittiert werden kann, hängt in erster Linie von den mikrobiellen Prozessen der Methanbildung und der Methanoxidation ab. Je mehr des in den anaeroben Bodenhorizonten gebildeten Methans in den aeroben Bodenhorizonten wieder oxidiert wird, desto weniger Methan kann vom Boden in die Atmosphäre abgegeben werden. Zusätzlich wirken sich die Methanflüsse, das heißt die Transport- und Austauschprozesse zwischen Pedo- und Atmosphäre, entscheidend auf das Ausmaß der Methanemission aus. Diese Prozesse werden ihrerseits maßgeblich vom Klima, dem Mikrorelief und der Vegetation beeinflusst. Untersuchungen zu den Methanflüssen in arktischen Feuchtgebieten wurden bereits von einer Vielzahl an Autoren beschrieben (SVENSSON und ROSSWALL 1984, WHALEN und REEBURGH 1992, SAMARKIN et al. 1998, JOABSSON und CHRISTENSEN 2001, WAGNER et al. 2003). Die jeweils bestimmten Methanemissionsraten unterscheiden sich dabei sehr stark voneinander. WHALEN und REEBURGH (1992) ermittelten für den Boden eines Polygonzentrums eine Methanemission von $110 \text{ mg d}^{-1} \text{ m}^{-2}$. Im Gegensatz dazu konnten WAGNER et al. (2003) ebenfalls für den Boden eines Polygonzentrums über einen Zeitraum von vier Monaten eine mittlere Methanemission von nur $53,2 \pm 8,7 \text{ mg d}^{-1} \text{ m}^{-2}$ bestimmen (maximale Methanemission Mitte Juli: $100\text{-}120 \text{ mg d}^{-1} \text{ m}^{-2}$). Vom Polygonwall desselben ‚Low-Centre-Polygones‘ wurden aufgrund des niedrigeren Wasserspiegels und mächtigeren aeroben Bodenbereiches sogar nur $4,7 \pm 2,5 \text{ mg d}^{-1} \text{ m}^{-2}$ Methan emittiert.

Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit sind die Mikroorganismen, die durch Oxidation des gebildeten Methans entscheidend zur Reduzierung der Methanemission beitragen: die Methan oxidierenden oder methanotrophen Bakterien. Für Feuchtgebiete wurden Methanoxidationsraten ermittelt, die zwischen 43 und 90 % schwankten (MER und ROGER 2001, ROSLEV und KING 1996). Um abschätzen zu können, in welchem Ausmaß Methan oxidierende Bakterien auch in bislang nicht untersuchten Regionen die Methanemission reduzieren bzw. bei Klimaänderungen reduzieren könnten, sind Untersuchungen zu ihren Anpassungspotentialen an unterschiedliche Standortbedingungen essentiell. Welchen Einfluss Umweltbedingungen wie Temperatur, Methangehalt, bodenphysikalische und bodenchemische Parameter auf die Verbreitung und Aktivität der Methan oxidierenden Bakterien in Feuchtgebieten, insbesondere in denen der arktischen Region haben, wurde bislang erst von sehr wenigen Autoren

beschrieben (WHALEN und REEBURGH 1990, VECHERSKAYA 1993, DUNFIELD und KNOWLES 1993, ROSLEV und KING 1996.). Die vorliegende Arbeit soll dazu beitragen, den Kenntnisstand auf diesem Gebiet zu erweitern, indem im Einzelnen folgende Fragen beantwortet werden:

- Welchen Einfluss haben bodenphysikalische und bodenchemische Parameter auf die Verbreitung und Aktivität der Methan oxidierenden Mikroflora?
- Welchen Einfluss haben die Sauerstoff- und Methankonzentrationen *in-situ* auf die Verbreitung und Aktivität der Methan oxidierenden Mikroflora?
- Welche Aktivitätspotentiale haben Methan oxidierende Bakterien bei variierenden Temperaturen und Methangehalten? Lässt sich anhand dieser Aktivitätspotentiale auf eine Anpassung der Methan oxidierenden Mikroflora an die Temperaturen und Methangehalte in arktischen Feuchtgebieten schließen?
- Wie ändert sich die Zusammensetzung der Methan oxidierenden Mikroflora im Tiefenprofil der beiden Untersuchungsstandorte?
- Gibt es Zusammenhänge zwischen der Physiologie und den Anpassungspotentialen der Methan oxidierenden Mikroflora mit ihrer Zusammensetzung im Tiefenprofil?

Die Arbeit ist in das BMBF-Verbundvorhaben „Russisch-Deutsche Zusammenarbeit: System Laptev See 2000“ eingebunden. Seit 1998 wurden im Rahmen dieses Projektes jährlich während der Sommermonate Expeditionen in das nordsibirische Lena-Delta unternommen (WAGNER et al. 2000, WAGNER et al. 2001, PFEIFFER et al. 2002, WAGNER et al., im Druck). Zwei Permafroststandorte der Insel Samoylov im Lena-Delta (Permafrost-Auengley, Tundra-Moorgley) bildeten die Untersuchungsgrundlage dieser Arbeit. Die Anpassung der Methan oxidierenden Bakterien wurde anhand von Aktivitätsmessungen bei unterschiedlichen Temperaturen und Methankonzentrationen sowie durch einen Vergleich beider Standorte bezüglich ihrer Standortfaktoren untersucht. Die Verbreitung der Methan oxidierenden Bakterien wurde mit einer Methode der Ganzzellhybridisierung ermittelt, der sogenannten Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH).

2 Grundlagen

2.1 Die Methanflüsse in Feuchtgebieten

Die Methanemission aus Böden wird von zwei entgegengesetzten mikrobiellen Prozessen gesteuert, der Methanbildung durch Methan bildende (methanogene) Archaeen und der Methanoxidation durch Methan oxidierende (methanotrophe) Bakterien. Die methanogene und methanotrophe Mikroflora ist in allen Böden auch unter ungünstigen Lebensbedingungen zu finden (MER und ROGER 2001).

2.1.1 Methanbildung durch methanogene Archaeen

Methan wird von den methanogenen Archaeen als Endprodukt im biologischen Abbau organischer Verbindungen unter anaeroben Verhältnissen gebildet (CONRAD 1999). Sie benötigen zum Wachstum strikte Anaerobie und ein Redoxpotential im Boden niedriger als -150 mV (WANG et al. 1993). In Permafrostgebieten führen sommerliche Tauprozesse zu Staunässe im active layer, der Auftauzone über der Permafrosttafel. Der hohe Wasserspiegel im Boden und die damit verbundenen anaeroben Verhältnisse führen dazu, dass arktische Feuchtgebiete zu den bedeutendsten Regionen der Methanbildung gehören (JOABSSON und CHRISTENSEN 2001).

Methanogene Mikroorganismen sind in ihrer Substratwahl stark spezialisiert und können nur wenige, sehr einfach gebaute Substanzen wie zum Beispiel H_2 , Acetat, Formiat und Methanol zur Methanogenese nutzen (OREMLAND 1988). Die meisten Arten sind nicht auf ein Substrat festgelegt, sondern sind in der Lage, mehrere Substrate zu nutzen. Allerdings können methanogene Archaeen komplexe organische Verbindungen wie Zucker und Fettsäuren (außer Acetat) nicht direkt umsetzen. Sie sind auf das Vorhandensein einer anaeroben Nahrungskette angewiesen, deren letztes Glied sie darstellen.

2.1.2 Methanabbau durch methanotrophe Bakterien

Die Methan oxidierenden Bakterien (ausführlich beschrieben in Kap. 2.2), die durch Oxidation des in anoxischen Bodenhorizonten gebildeten Methans zu

Kohlendioxid entscheidend zur Reduzierung der Methanemission aus Feuchtgebieten beitragen (ROSLEV und KING 1996), haben ihren Lebensraum in den aeroben Bodenbereichen. Die günstigsten Mikrohabitate der methanotrophen Bakterien sind oxisch/anoxische Grenzschichten, da an diesen sowohl Sauerstoff als auch Methan in ausreichenden Mengen zur Verfügung steht (BRUNE et al. 2000). Nach ROSLEV und KING (1996) wird in Feuchtgebieten durchschnittlich 43 % des in die aerobe Bodenzone gelangten Methans wieder oxidiert, bevor es in die Atmosphäre emittiert wird. MER und ROGER (2001) ermittelten in Feuchtgebieten sogar Oxidationsraten von 60 bis 90 %.

2.1.3 Transportwege und Freisetzung von Methan in Feuchtgebieten

Je länger das Methan in den aeroben Bodenhorizonten verweilt, desto wahrscheinlicher ist seine Oxidation zu Kohlendioxid. Insofern ist das Ausmaß der Methanoxidation in starkem Maße vom Transportweg des Methans abhängig.

Methan kann über Diffusion bzw. Konvektion, über den Aufstieg von Blasen ('Ebullition') oder über die Aerenchyme aquatischer Gefäßpflanzen der Feuchtgebiete zur Atmosphäre gelangen (JOABSSON und CHRISTENSEN 2001). Die durch Konzentrationsgradienten hervorgerufene Diffusion von Methan erfolgt hauptsächlich innerhalb der belüfteten Bodenporen, denn die Diffusion von Gasen in Wasser ist 10^4 -mal langsamer als in Luft (SCHEFFER und SCHACHTSCHABEL 1998). Darüber hinaus ist die Löslichkeit von Methan in Wasser sehr gering. Die Diffusion von Methan in Böden ist ein langsamer Prozess, der die Methanoxidation durch methanotrophe Bakterien begünstigt.

Gegenteilig vollzieht sich der Vorgang der 'Ebullition'. Bei Übersättigung des Porenwassers mit Methan kommt es zur Ausgasung und Blasenbildung. Die Blasen wachsen, bis ihr Auftrieb groß genug ist, um an die Wasseroberfläche aufzusteigen und zu platzen. Dieser Vorgang lässt kaum die Möglichkeit der Methanoxidation zu.

Einen entscheidenden Faktor, wie viel Methan in Feuchtgebieten gebildet, oxidiert und emittiert wird, stellt der pflanzenvermittelte Methantransport über die Aerenchyme von Gefäßpflanzen dar. Aerenchyme sind Durchlüftungsgewebe, in denen Sauerstoff von der Atmosphäre zu den Wurzeln der aeroben oder direkt zu denen der anaeroben Bodenhorizonte geleitet wird. Umgekehrt gelangt das Methan aus den anaeroben Bodenhorizonten entweder direkt zur Atmosphäre

oder zunächst in die Rhizosphäre in den aeroben Horizonten, wo es oxidiert werden kann. Werden die aeroben Horizonte umgangen, trägt der pflanzenvermittelte Methantransport entscheidend zu einer Erhöhung der Methanemission aus Feuchtgebieten bei. Ein Großteil des gebildeten Methans wird über das Wurzel- und Aerenchymssystem unmittelbar abtransportiert (KUTZBACH et al. 2003). Mehrere Studien konnten zeigen, dass die Konzentration an gelöstem Methan im Porenwasser umso geringer war, je besser das Wurzelsystem in der entsprechenden Tiefe ausgeprägt war (KING et al. 1998; VERVILLE et al. 1998; FRENZEL und KAROFELD 2000, zitiert in JOABSSON und CHRISTENSEN 2001). Darüber hinaus konnten JOABSSON und CHRISTENSEN (2001) zeigen, dass der Bodenbereich mit der höchsten Wurzeldichte gleichzeitig der Bereich mit der höchsten Methanproduktionsrate war, was sie zu der Annahme führte, dass es einen Zusammenhang zwischen Wurzeldichte und Verfügbarkeit an Substraten für die methanogenen Archaeen geben muss.

2.2 Die Gruppe der Methan oxidierenden Bakterien

Methan oxidierende (methanotrophe) Bakterien sind obligat aerobe Prokaryonten (Reich der Bakteria), die Methan mit molekularem Sauerstoff umsetzen und ihren Zellkohlenstoff sowie Energie aus diesem Substrat gewinnen (HANSON und HANSON 1996). Im Unterschied zur übergeordneten Gruppe der methylotrophen Bakterien, die auch ein breites Spektrum anderer C₁-Verbindungen umsetzen können, stellt Methan für die Methan oxidierenden Bakterien die wichtigste Kohlenstoff- und Energiequelle dar. Lediglich bei einem Mangel an Methan können auch Methanol, Formiat oder Methylamine als Substrate genutzt werden. Demzufolge sind methanotrophe Bakterien nicht nur an die Verfügbarkeit von Sauerstoff gebunden, sondern auch an die von Methan, das von methanogenen Archaeen als Endprodukt im biologischen Abbau organischer Verbindungen unter anaeroben Verhältnissen gebildet wird. Daher treten Methan oxidierende Bakterien in Böden, Sedimenten und Gewässern bevorzugt an oxisch/anoxischen Grenzschichten auf.

Methan oxidierende Bakterien sind Gram negativ und kommen in den unterschiedlichsten Zellformen vor (Coccen, Stäbchen, vibroide Zellen). Die Ausbildung von Dauerstadien (Exosporen und Zysten) ist innerhalb dieser Bakteriengruppe weit verbreitet. Durch den Übergang von vegetativen Zellen in

Dauerstadien anderer Zellmorphologie treten in Reinkulturen Methan oxidierender Bakterien häufig verschiedene Zellformen parallel auf, zum Beispiel Stäbchen neben rundlichen Zysten.

Die Gruppe der Methan oxidierenden Bakterien wird in zwei Familien unterteilt, die *Methylococcaceae*, auch als Typ I und die *Methylocystaceae*, auch als Typ II Methan oxidierende Bakterien bezeichnet. Die Typ I Methan oxidierenden Bakterien umfassen die Gattungen *Methylobacter*, *Methylomonas*, *Methylococcus*, *Methylomicobium*, *Methylocaldus* und *Methylosphaera*. Zu den Typ II Methan oxidierenden Bakterien gehören *Methylosinus* und *Methylocystis* (HANSON und HANSON 1996, BOWMAN 1999). Daneben gibt es noch eine dritte Gruppe, die Typ X methanotrophen Bakterien. Sie besitzen weitgehende Ähnlichkeiten mit den Typ I methanotrophen Bakterien, weisen jedoch im Stoffwechsel Unterschiede auf und wachsen bei höheren Temperaturen (HANSON und HANSON 1996). Die Gruppe der Typ X methanotrophen Bakterien hat für die vorliegende Arbeit keine Relevanz.

Typ I und Typ II Methan oxidierende Bakterien unterscheiden sich in vielen wesentlichen Merkmalen: Anhand der phylogenetischen Analyse der 16S-rDNA-Sequenzen wurden die Typ I methanotrophen Bakterien innerhalb der Proteobakterien, einer Untergruppe der Bakterien, den γ -Proteobakterien und die Typ II Methan oxidierenden Bakterien den α -Proteobakterien zugeordnet. Das Gen der ribosomalen 16S-RNA, das etwa 1500 Basenpaare lang ist, ist das am besten bekannte DNA-Stück der Bakterien (CYPIONKA 1999). Ein weiteres wesentliches Unterscheidungsmerkmal der beiden Gruppen ist ihr Stoffwechsel. Methan wird über Methanol, Formaldehyd und Formiat zu Kohlendioxid oxidiert. Zur Assimilation des Kohlenstoffes, genauer gesagt des Formaldehyds, nutzen Typ I methanotrophe Bakterien Ribulose-Monophosphat (RuMP Weg), während Typ II Formaldehyd mit Hilfe von Serin assimilieren (Serin-Weg) (HANSON und HANSON 1996, BOWMAN 1999).

Bis auf eine Gattung (*Methylocella*) bilden alle Methan oxidierenden Bakterien ein intracytoplasmatisches Membransystem aus (WHITTENBURY et al. 1970, HANSON und HANSON 1996, BOWMAN 1999), das vermutlich für die Umsetzung des Methans nötig ist. Während Typ I methanotrophe Bakterien Membranstapel besitzen, sind die Membranen bei Typ II entlang der Cytoplasmamembran angeordnet.

Ein weiteres Kriterium zur Differenzierung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien besteht in der Form ihres Enzyms zur Methanoxidation, der Methan-Monooxygenase. Nur Typ II sowie einige wenige Ausnahmen unter

den Typ I methanotrophen Bakterien bilden eine lösliche (soluble) Methan-Monooxygenase aus, während beide Gruppen (mit Ausnahme von *Methylocella*) die Gene für eine membrangebundene (partikuläre) Methan-Monooxygenase besitzen. Unter den Typ II Methan oxidierenden Bakterien sind darüber hinaus alle Gattungen zur Fixierung molekularen Stickstoffs befähigt, während bei Typ I nur die Gattung *Methylococcus* dazu in der Lage ist.

Eine Gegenüberstellung der wichtigsten physiologischen Unterscheidungsmerkmale zwischen Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien zeigt Tabelle 2-1.

Tabelle 2-1.: Gegenüberstellung wichtiger Merkmale von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien

Merkmal	Typ I MOB*	Typ II MOB*
phylogenetische Einordnung	γ -Proteobakterien	α -Proteobakterien
Gattungen	<i>Methylomonas</i> <i>Methylobacter</i> <i>Methylococcus</i> <i>Methylomicrobium</i>	<i>Methylosinus</i> <i>Methylocystis</i>
Isolierung psychrophiler Arten	+ (<i>Methylococcus</i>)	-
Kohlenstoffassimilation	Ribulose-Monophosphat-Weg	Serin-Weg
Gene für Stickstoff-Assimilierung	nicht vorhanden (Ausnahme: <i>Methylococcus</i>)	vorhanden
Anordnung intrazellulärer Membranen	stapelförmig	entlang der Cytoplasmamembran
Dauerstadien	+ (Ausnahme: <i>Methylomicrobium</i>)	+

MOB = Methan oxidierende Bakterien

2.3 Anpassung der Methan bildenden und Methan oxidierenden Mikroflora an ihre Umwelt

Wie alle mikrobiellen Prozesse sind Methanbildung und Methanoxidation in starkem Maße von der **Temperatur** abhängig. Die Temperaturanpassung von Mikroorganismen wird in erster Linie durch den Temperaturgradienten, in dem

Wachstum möglich ist, beschrieben. Dabei werden die Grenzen des Wachstums (T_{\min} , T_{\max}) und die Temperatur des optimalen Wachstums (T_{opt}) ermittelt (MORITA 1995, BLÖCHL et al. 1995, VAN DE VOSSENBERG et al. 1998). Es werden folgenden Gruppen unterschieden: Psychrophile, psychrotolerante, mesophile, thermophile und hyperthermophile Bakterien (Tab. 2-2.).

Tabelle 2-2.: Einteilung der Bakteriengruppen je nach dem Temperaturbereich des mikrobiellen Wachstums

Bezeichnung der Bakteriengruppe je nach Temperaturbereich des mikrobiellen Wachstums	T_{\min} (°C)	T_{opt} (°C)	T_{\max} (°C)
psychrophil	< 0	< 15	< 20
psychrotolerant	< 5	> 15	> 20
mesophil		25-40	40-45
thermophil		25-40	~ 75
hyperthermophil			80-110

DUNFIELD et al. (1993) schlussfolgerten aus Untersuchungen an Torfböden gemäßiger und subarktischer Breiten, dass die methanotrophe und methanogene Mikroflora nicht gut an niedrige Temperaturen angepasst sei. Ihren Untersuchungen nach war die Methanbildung zwischen 0 °C und 10 °C zu vernachlässigen. Die Methanoxidation betrug noch 13 bis 38 % der maximalen Oxidationsleistung bei 25 °C.

Die meisten Reinkulturen Methan oxidierender Bakterien wurden bislang in der Tat als mesophil beschrieben (HANSON und HANSON 1996) und besitzen demnach ein Temperaturoptimum zwischen 25 °C und 40 °C. OMELCHENKO et al. (1993) gelang jedoch erstmalig auch die Isolierung einer psychrophilen Art aus einem Tundra-Boden im Ural. Diese wurde der Gattung *Methylococcus* zugeordnet und zeigte ein ideales Wachstum bei 3,5-10 °C. Auch BOWMAN et al. (1997) und KALYUZHNYAYA et al. (1999, zitiert in TROTSSENKO und KHMELENINA 2002) gelang es, psychrophile Arten innerhalb der Methan oxidierenden Bakterien zu isolieren. Alle bislang isolierten psychrophilen Arten gehören der Gruppe der Typ I methanotrophen Bakterien an.

Auch die meisten bislang isolierten Arten methanogener Archaeen sind mesophil, zum Teil sogar thermophil. Untersuchungen von NOZHEVNIKOVA et al. (2003) bewiesen jedoch auch die Existenz psychrophiler methanogener Archaeen in Sedimenten tiefer Seen. Darüber hinaus konnte bislang ein Isolat einer psychrophilen Art von FRANZMANN (1997) beschrieben werden.

Verschiedene Autoren konnten nachweisen, dass die methanotrophe und methanogene Mikroflora in Feuchtgebieten sehr gut an tiefe Temperaturen angepasst ist (VECHERSKAYA et al. 1993, WAGNER 1998, GUNDELWEIN 1998, WAGNER et al. 2003).

Die **Tiefe des Wasserspiegels**¹ wirkt sich ebenfalls entscheidend auf die Prozesse der Methanbildung und Methanoxidation aus. Sinkt der Wasserspiegel über einen längeren Zeitraum, reichert sich der Boden mit Sauerstoff an, was letztlich zu einer Stimulierung der methanotrophen Bakterien führt. Das resultiert in einer sinkenden Methanemission (ROSLEV und KING 1996). Die Methanbildung ist demnach positiv mit dem **Wassergehalt** und der Höhe des Wasserspiegels korreliert (JÄCKEL et al. 2001, WAGNER et al. 2003), während die Methanoxidation mit sinkendem Wassergehalt und Wasserspiegel steigt (ROSLEV und KING 1996, WAHLEN et al. 1996).

WAGNER et al. (1999) konnten nachweisen, dass die methanogenen Archaeen auch unter aeroben Bedingungen in ihrem natürlichen Habitat noch bis zu 50 % ihrer potentiellen Methanbildungsaktivität zeigten. Er führte dies auf die Schutzfunktion der aeroben und fakultativ anaeroben Mikroflora sowie auf die Bodenmatrix zurück. Umgekehrt zeigen sich methanotrophe Bakterien in Feuchtgebieten sauerstoffzehrenden Bedingungen gegenüber sehr tolerant. ROSLEV und KING (1996) ermittelten für Methan oxidierende Bakterien, die etwa einen Monat unter anaeroben Bedingungen inkubiert worden waren, eine Methanoxidationsrate von 30 % der maximal unter aeroben Bedingungen stattfindenden Rate. Dabei erwiesen sich Typ II methanotrophe Bakterien der Gattung *Methylosinus* als mikroaerophil und zeigten auch bei Sauerstoffmangel noch Aktivität.

¹Wasserspiegel steht für die Oberfläche des freien Wassers, das nicht an die Bodenmatrix gebunden ist.

Da Methan die entscheidende Energie- und Kohlenstoffquelle der Methan oxidierenden Bakterien darstellt, wirkt sich die **Methankonzentration** (Substratkonzentration) ebenfalls auf die Aktivität der methanotrophen Bakterien aus. Verschiedene Autoren (WHALEN et al. 1990, BENSTEAD und KING 1997) konnten bestätigen, dass die Oxidationsgeschwindigkeit und damit die Aktivität der Methan oxidierenden Bakterien mit zunehmender Methankonzentration ansteigt. Voraussetzung dafür ist, dass der Vorgang der Oxidation nicht durch Sauerstoffmangel gehemmt wird. Die Oxidationsgeschwindigkeit hängt entscheidend von den Enzymen der methanotrophen Bakterien ab. Je höher die Methankonzentration ist, desto mehr Enzyme sind an der Oxidation beteiligt. Sind jedoch alle Enzyme besetzt, nimmt die Oxidationsaktivität auch mit steigender Methankonzentration nicht mehr zu. Die Sättigungskonzentration an Methan ist erreicht. Einige Autoren gehen davon aus, dass sich Typ I und Typ II Methan oxidierende Bakterien in ihrer Substrataffinität unterscheiden und ihre maximale Aktivität bei unterschiedlich hohen Substratkonzentrationen erreichen. AMARAL und KNOWLES (1995) sowie MACALADY et al. (2000) zeigten, dass Typ I Methan oxidierende Bakterien bei hohen Sauerstoff- aber niedrigen Methangehalten gegenüber Typ II Methan oxidierenden Bakterien dominierten und bevorzugt in den oberen Bodenhorizonten lebten. Demgegenüber haben Typ II methanotrophe Bakterien ein gutes Überdauerungsvermögen bei ungünstigen Bedingungen und ein langsames Wachstum. Sie besitzen bei niedrigen Sauerstoff- aber hohen Methangehalten einen Selektionsvorteil und konnten im Unterboden nachgewiesen werden. Diese Autoren vermuten daher, dass Typ I Methan oxidierende Bakterien eine geringere Substrataffinität besitzen als Typ II Methan oxidierende Bakterien. Allgemein spricht man von einer hohen Substrataffinität, wenn Organismen bei geringen Substratkonzentrationen ihre maximale Aktivität erreichen. Organismen, die bei hohen Substratkonzentrationen ihre maximale Aktivität zeigen, besitzen dagegen eine niedrige Substrataffinität. HORZ et al. (2002) ermittelten ebenfalls für die oberen 20 cm eines Feuchtwiesenstandortes die höchste Substrataffinität der Methan oxidierenden Bakterien, konnten jedoch keinen direkten Bezug zu Typ I oder Typ II methanotrophen Bakterien herstellen. Die Substrataffinität spiegelt sich direkt im K_m -Wert (MICHAELIS-MENTEN-KONSTANTE) wider, der aus der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit bei der entsprechenden Substratkonzentration berechnet wird. Je höher der K_m -Wert ist, desto geringer ist die Substrataffinität. BENDER UND CONRAD (1992) ermittelten für

landwirtschaftlich genutzte Böden mit geringen Methankonzentrationen sehr viel geringere K_m -Werte (0,03-0,06 $\mu\text{mol CH}_4/\text{l}$) als WHALEN et al. (1990) für Böden mit hohen Methangehalten (K_m -Werte bis 10 $\mu\text{mol CH}_4/\text{l}$). Demzufolge können anhand der K_m -Werte Rückschlüsse auf die Anpassung von Organismen an die Methangehalte unterschiedlicher Habitate gezogen werden.

In Böden gilt der **gelöste organische Kohlenstoff (DOC)** als die am besten bioverfügbare Fraktion. Zum DOC gehören niedermolekulare organische Verbindungen $<45 \mu\text{m}$. Am besten abbaubar sind darunter aufgrund ihrer polaren Gruppen und der damit verbundenen Wasserlöslichkeit niedermolekulare Kohlenhydrate, organische Säuren und Alkohole sowie Eiweiße. Aromatische Verbindungen und lipophile Moleküle sind dagegen für Mikroorganismen wesentlich schlechter abbaubar (MARSCHNER und KALBITZ 2003). WAGNER (1998) konnte zeigen, dass die höchsten Methanbildungsraten zwar nicht mit den höchsten Gesamtgehalten an organischer Bodensubstanz korrelierten, jedoch mit den höchsten Gehalten an DOC (und Acetat). Es kann davon ausgegangen werden, dass eine hohe Qualität und Quantität des DOC die Methanbildung entscheidend begünstigt (BIANCHI et al. 1996, WAGNER et al. 2003). Da Methan, als Stoffwechselendprodukt der methanogenen Archaeen, die wichtigste Energie und Kohlenstoffquelle der methanotrophen Bakterien ist, wirkt sich die Qualität und Quantität des DOC indirekt auch auf die Methanoxidation aus. Zusätzlich können die Methan oxidierenden Bakterien neben Methan auch Methanol, Formiat und Methylamine als Substrat nutzen. Daher hat die Qualität und Quantität des DOC auch direkten Einfluss auf die methanotrophe Mikroflora.

Die **Bodenreaktion** ist für die Aktivität der methanotrophen und methanogenen Mikroflora von großer Bedeutung. Der Großteil der methanotrophen Bakterien wächst optimal zwischen pH 6 und 7 (KING 1990). DUNFIELD et al. (1993) fanden heraus, dass die optimale Aktivität sowohl der methanogenen als auch der methanotrophen Mikroflora in Torfböden gemäßigter und subarktischer Breiten bei pH Werten liegt, die um ca. 2.5 höher als die *in-situ* pH-Werte waren. Obwohl Methanbildung und -oxidation auch bei pH-Werten unter 4 stattfindet (BENDER und CONRAD 1995), konnte bislang noch kein Wachstum methanotropher Bakterien bei pH <5 nachgewiesen werden (HANSON und HANSON 1996). Demzufolge scheint

die methanotrophe und auch die methanogene Mikroflora ein neutrales bis sehr schwach saures Bodenmilieu zu bevorzugen.

Die **Korn- und Porengrößenverteilung** sind wichtige Charakteristika für den Lebensraum von Mikroorganismen. Die Bodenmatrix dient dabei als Sorptionsgrundlage für mikrobielle Lebensgemeinschaften. Ein hoher Tongehalt wirkt sich positiv auf die Ausbildung von Biofilmen und damit auch auf die mikrobielle Aktivität und die Methanbildung aus (WAGNER et al. 1999, GUGGENBERGER und KAISER 2003, zitiert in MARSCHNER und KALBITZ 2003). Die Porengrößenverteilung beeinflusst die Verteilung von Poren- und Substanzvolumen, die Verfügbarkeit von Wasser und die Lagerungsdichte. Damit beeinflusst sie ebenfalls die Größe und Qualität des Lebensraumes der Mikroorganismen. WAGNER et al. (1999) konnten eine positive Korrelation zwischen dem Volumen der Mittelporen und der Zellzahl methanogener Mikroorganismen nachweisen.

2.3 Das Prinzip der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung sowie Vor- und Nachteile bei der Anwendung

In der mikrobiellen Ökologie stellt die **Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung** (FISH) eine bedeutende Methode der Ganzzellhybridisierung dar, die den spezifischen Nachweis einzelner Zellen in ihrem natürlichen Mikrohabitat ermöglicht (AMANN et al. 1995, MURRELL et al. 1998). Das Prinzip der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung nutzt die spezifischen Eigenschaften der molekularen Genetik, indem an einen bestimmten (familien-, gattungs- oder artspezifischen) DNA- oder RNA-Abschnitt eine zu seiner Basensequenz komplementäre Sequenz angelagert wird, die mit einem fluoreszierenden Farbstoff gekoppelt ist. Die mit dem Farbstoff versehene, komplementäre Nucleotidsequenz wird als Oligonucleotidsonde bzw. nur als Sonde bezeichnet. Unter dem Mikroskop kann die Sonde und damit auch der durch sie markierte Zielorganismus visualisiert werden, indem der fluoreszierende Farbstoff der Sonde mit einer geeigneten Lichtquelle zur Fluoreszenz angeregt wird.

Damit die Sonde (Nucleotidsequenz) an der RNA bzw. DNA des Zielorganismus anlagern kann, muss die Zellmembran permeabel sein. Dies wird beim Vorgang

der Fixierung durch Paraformaldehyd, einem Zellgift, erreicht. Zusätzlich bietet die Helixstruktur der RNA und DNA schlechte Anlagerungsmöglichkeiten für die Sonde. Durch Erhitzen und Zugabe organischer Lösungsmittel, wie Formamid, wird die RNA bzw. DNA denaturiert, damit sie als gestreckter Strang vorliegt. Den Vorgang der Anlagerung der Sonde an den zu ihr komplementären Nucleotidabschnitt bezeichnet man als Hybridisierung.

Im Vergleich zu klassischen mikrobiologischen Methoden, wie die der Kultivierung von Mikroorganismen, die zeit- und arbeitsintensiv und oft erfolglos ist, da sich viele Mikroorganismenpopulationen nicht oder nur schwer kultivieren lassen, ist die Hybridisierung mit Nucleotidsonden schneller und zuverlässiger (AMANN und LUDWIG 2000). Darüber hinaus ermöglicht FISH Aussagen über Anzahl, Morphologie und die räumliche Verbreitung von Mikroorganismen (MOTER und GÖBEL 2000). Die am häufigsten markierte Sequenz beim Einsatz der FISH-Methode ist die der ribosomalen 16S RNA (MOTER und GÖBEL 2000). Die Intensität der Hybridisierung hängt unmittelbar von der Anzahl der in den Zellen vorkommenden Ribosomen ab und gibt damit Aufschluss über die Aktivität von Mikroorganismenpopulationen (AMANN und LUDWIG 2000), da die Anzahl an Ribosomen in physiologisch aktiven Zellen wesentlich höher ist als in inaktiven Zellen. Obgleich ein großer Vorteil der FISH-Methode darin besteht, dass sie in den unterschiedlichsten Habitaten, so auch im Boden, direkt zur Markierung von Mikroorganismen eingesetzt werden kann, liegt in der Abhängigkeit der Intensität der Hybridisierung von der Anzahl an Ribosomen auch ein großes Problem: In nährstoffärmeren Habitaten, wie zum Beispiel dem Boden (AMANN et al. 1991), werden die Zellen wesentlich schlechter markiert, als in einem nährstoffreichen Medium, in Anreicherungs- oder Reinkulturen, in denen die Zellen aktiver sind. HAHN et al. (1992) konnten zeigen, dass ohne Substratzugabe ein wesentlich kleinerer Teil der Bakterienpopulation eines Bodens durch die Sonden visualisiert wird als mit Substratzugabe. Ein weiteres Problem bei der Anwendung von FISH im Habitat Boden ist die Autofluoreszenz organischer Bodensubstanz. Sie kann mitunter so groß sein, dass sie die eigentlichen Sonden signale überdeckt. Der Effekt der Autofluoreszenz kann eingeschränkt werden, indem das Bodenmaterial gut homogenisiert und die Bodenaggregate durch Ultraschall zerstört werden, damit sich die an ihnen haftenden Bakterien lösen und markiert werden können (ZARDA 1997). Weiterhin kann die Signalintensität der Sonden durch die Wahl

eines Farbstoffes erhöht werden, der möglichst helle Signale aussendet wie zum Beispiel der Carbocyaninfarbstoff Cy3. Um auszuschließen, dass schlechte Signalintensitäten tatsächlich auf eine geringe Anzahl an Ribosomen und nicht auf Fehler während der Fixierung oder Hybridisierung zurückzuführen sind, sollte neben den spezifischen Sonden für die eigentlichen Zielorganismen auch immer eine Sonde verwendet werden, die eine sehr große Gruppe von Organismen markiert und zwangsläufig viele und helle Signale aussenden müsste. Im Fall der Methan oxidierenden Bakterien bietet sich dabei der Einsatz der universell alle Bakterien markierenden Sonde EUB 338 an (AMANN et al. 1990).

Innerhalb der Gruppe der Methan oxidierenden Bakterien war lange Zeit keine eindeutige Unterscheidung der methanotrophen Bakterien von den methylo-trophen Bakterien (Kap. 2.2) bzw. zwischen Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien mittels FISH möglich. Das änderte sich, als ELLER (2000) Sonden mit einer hohen Spezifität und Signalintensität für die jeweilige Familie der Methan oxidierenden Bakterien entwickelte. Für die Typ I methanotrophen Bakterien war dies die Sonde Ma 450, für Typ II Methan oxidierende Bakterien die Sonden Mg 85 + Mg 705. Die Vorteile dieser Sonden liegen neben ihrer hohen Signalintensität, die mit der universellen Eubakterien-sonde EUB 338 vergleichbar ist, in der Möglichkeit, die drei Sonden in Kombination einzusetzen und damit die gesamte Gruppe der Methan oxidierenden Bakterien visualisieren zu können (ELLER 2000, ELLER et al. 2001).

3 Untersuchungsgebiet

3.1 Das Lena-Delta

Das unmittelbare Untersuchungsgebiet, die Insel Samoylov, ist Teil des nordsibirischen Lena-Deltas, das mit einer Größe von 32.000 km² zu den größten Deltaregionen der Arktis gehört (ARE UND REIMNITZ 2000). Es ist Teil des 'Systems Laptev-See', das aus dem arktischen Meer der Laptev-See, dem Lena-Delta und seinen angrenzenden sibirischen, küstennahen Landgebieten besteht (Abb. 3-1.) und eine Schlüsselregion zum Verständnis des arktischen Klimasystems und darüber hinaus auch des weltweiten Klimas darstellt.

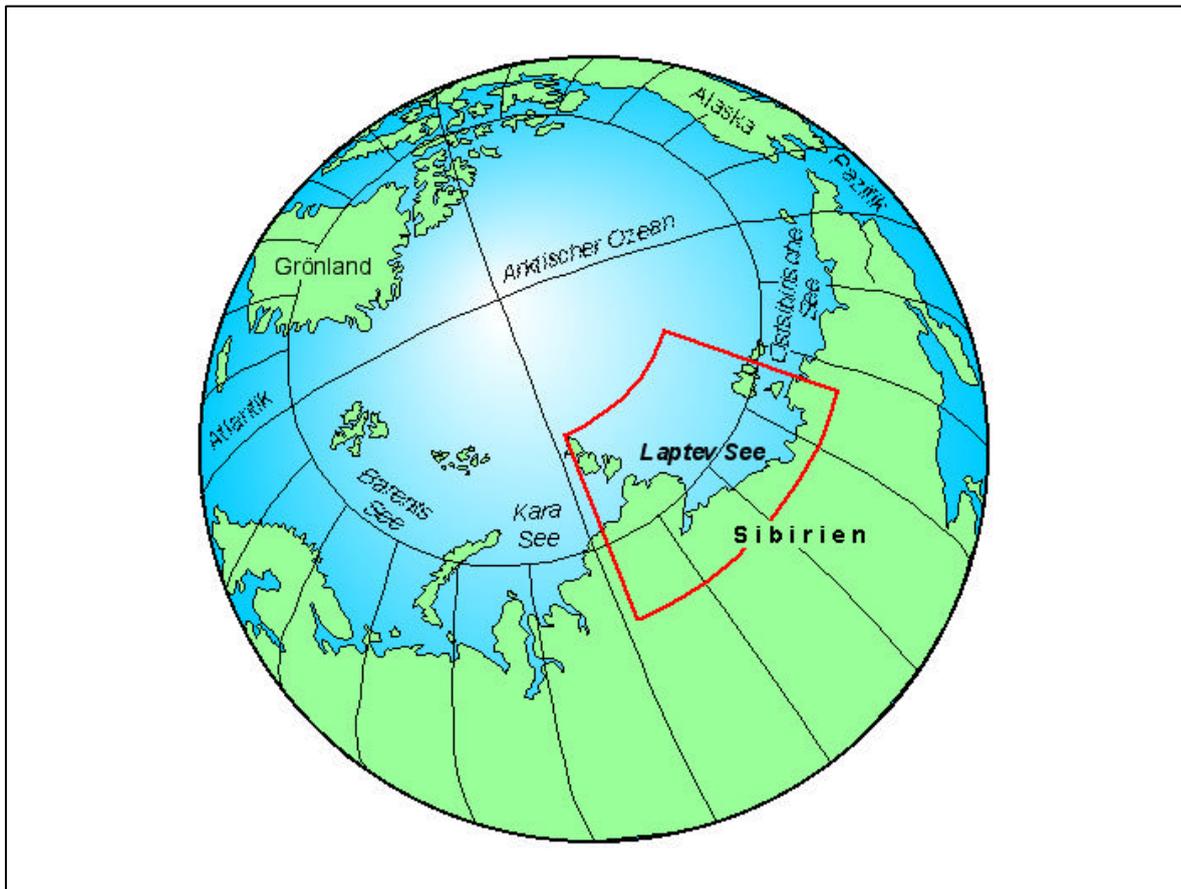


Abbildung 3-1.: Lage der Laptev-See im arktischen Ozean

Das Lena-Delta wird maßgeblich von seinem namensgebenden Fluss, der Lena, und ihren zahlreichen Nebenarmen, Kanälen und mehr als 1500 Inseln geprägt. Die Lena entspringt in der Baikalfaltenzone und mündet nördlich des 72ten Breitengrades in die Laptev-See, wo sie ihr Delta bildet. Mit einer Länge von 4270

km, einem Einzugsgebiet von $2,5 \cdot 10^6 \text{ km}^2$ und einer transportierten Wassermenge von $525 \text{ km}^3 \text{ a}^{-1}$ gehört sie zu den acht größten Flusssystemen der Erde. Nach Schätzungen von RACHOLD (1999) beträgt die jährliche Sedimentationsfracht der Lena $21 \cdot 10^6 \text{ t}$.

Nach SCHWAMBORN et al. (1999) kann das Lena-Delta in drei geomorphologisch unterschiedliche Flussterrassen untergliedert werden (Abb. 3-2.).

Die älteste Terrasse, die im mittleren bis späten Pleistozän aufgeschüttet wurde, ist im südlichen Teil des Deltas noch fragmentarisch erhalten und durch die Ausbildung eines 40 bis 50 m mächtigen Eiskomplexes gekennzeichnet. Der Eiskomplex selbst wird von mächtigen Schichten aus schwach zersetzter, torfartiger organischer Substanz durchzogen.

Der westliche Teil des Deltas ('Arga Island') wird von einer Terrasse eingenommen, die vermutlich im späten Pleistozän bis frühen Holozän entstanden ist und durchgehend aus grobkörnigen, sandigen Sedimenten besteht. Dieser Bereich des Deltas ist durch eine Vielzahl von tiefen Seen geprägt.

Im östlichen und gleichzeitig heute aktiven Teil des Deltas befindet sich die jüngste Flussterrasse, die mittelholozänen Ursprungs ist. Sie setzt sich aus mehreren rezenten Überflutungsebenen unterschiedlicher Geländehöhe zusammen.

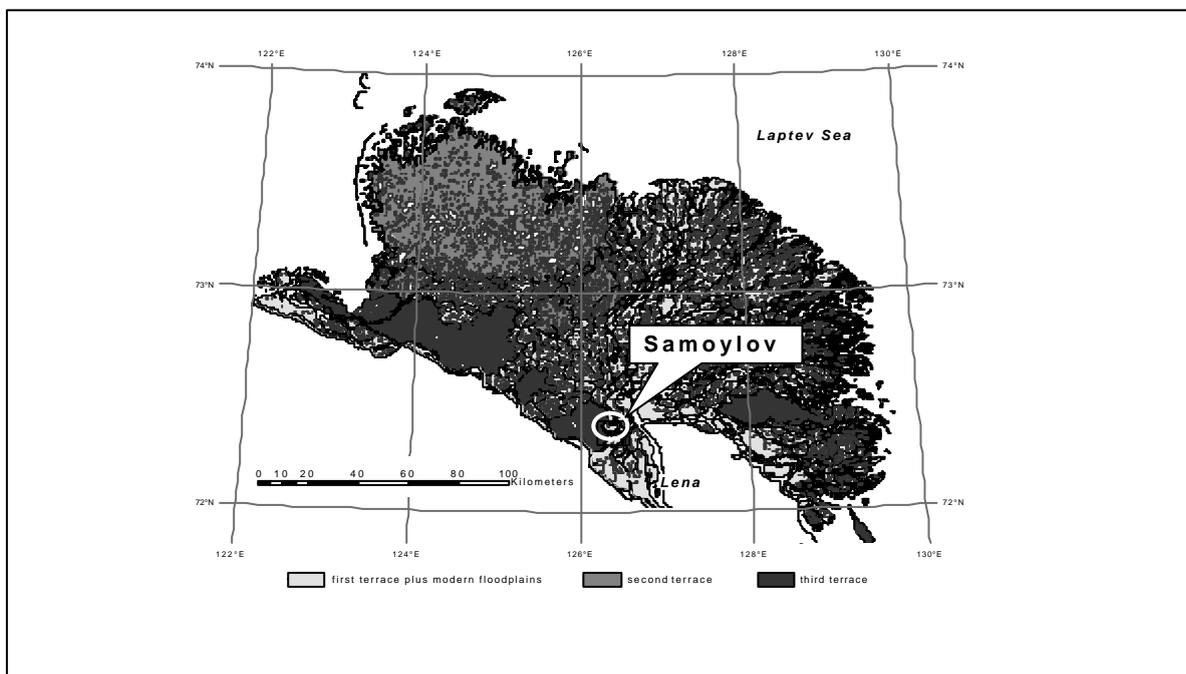


Abbildung 3-2.: Geomorphologische Terrassen und Lage der Insel Samoylov im Lena-Delta (N 72°22, O 126°28)

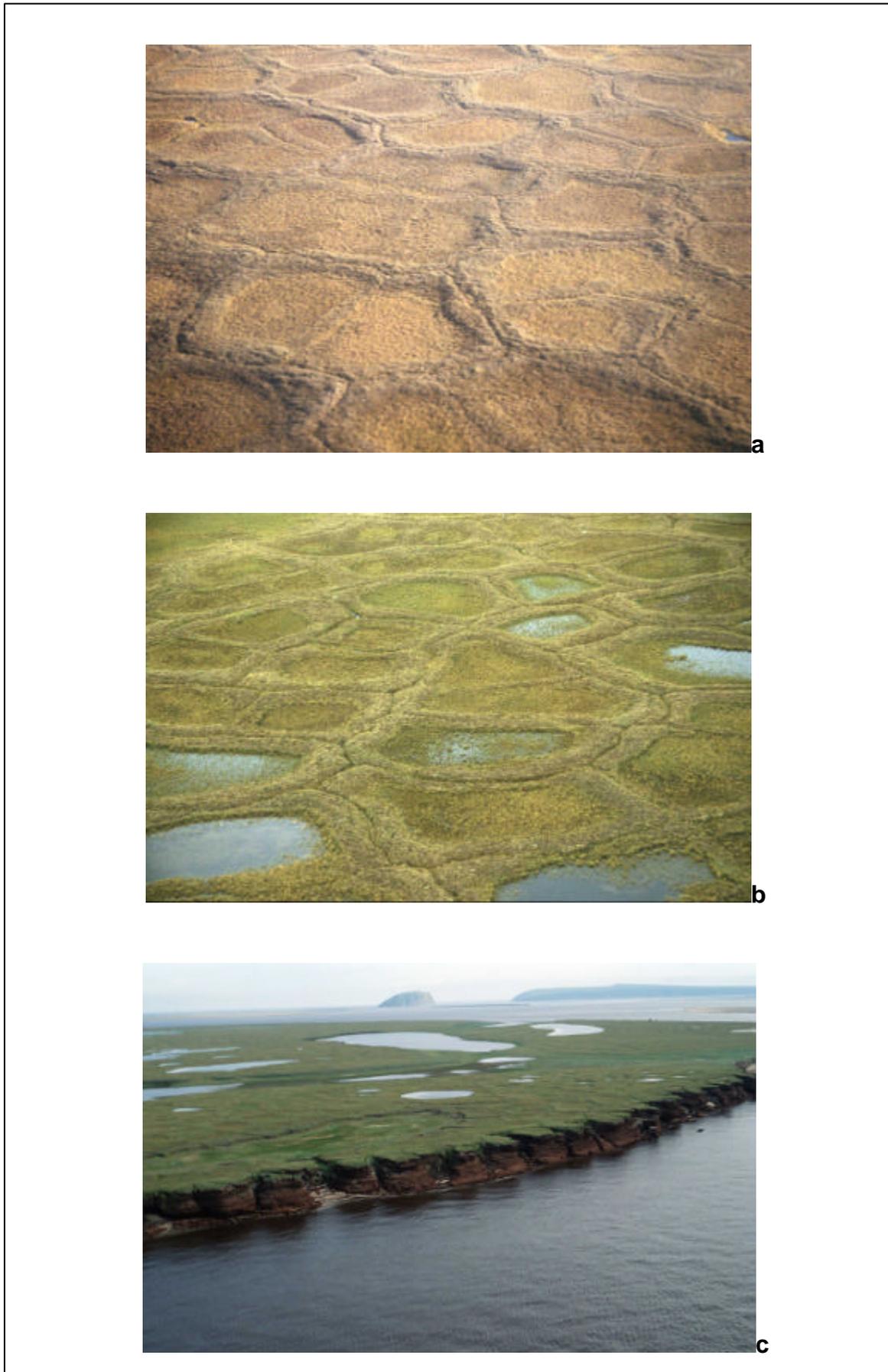


Abbildung 3-3.: Oberflächenstrukturen im Lena-Delta; **a:** verlandete, penta- bis hexagonale Polygone (Foto aus KUTZBACH 2000); **b:** offene, orthogonale Polygone, **c:** Küstenkliff der Insel Samoylov

Die Landoberflächen des Lena-Deltas sind durchgehend durch das Frostmuster der Eiskeilpolygone in verschiedenen Entwicklungsstadien geprägt (SCHWAMBORN et al. 2002; Abb. 3-3.). Das gesamte Delta liegt in der Zone des kontinuierlichen Permafrostes.

3.2 Die Insel Samoylov

Die Insel Samoylov (N 72°22, O 126°28) befindet sich im südlichen Teil des Lena-Deltas in einem seiner Hauptkanäle, dem Olenyok-Kanal (Abb. 3-4.) und repräsentiert den jüngsten (8000-9000 Jahre) und aktiven Teil des Deltas. Samoylov besitzt eine Fläche von 1200 ha, ihr höchster Punkt liegt 12 m über dem Meeresspiegel.

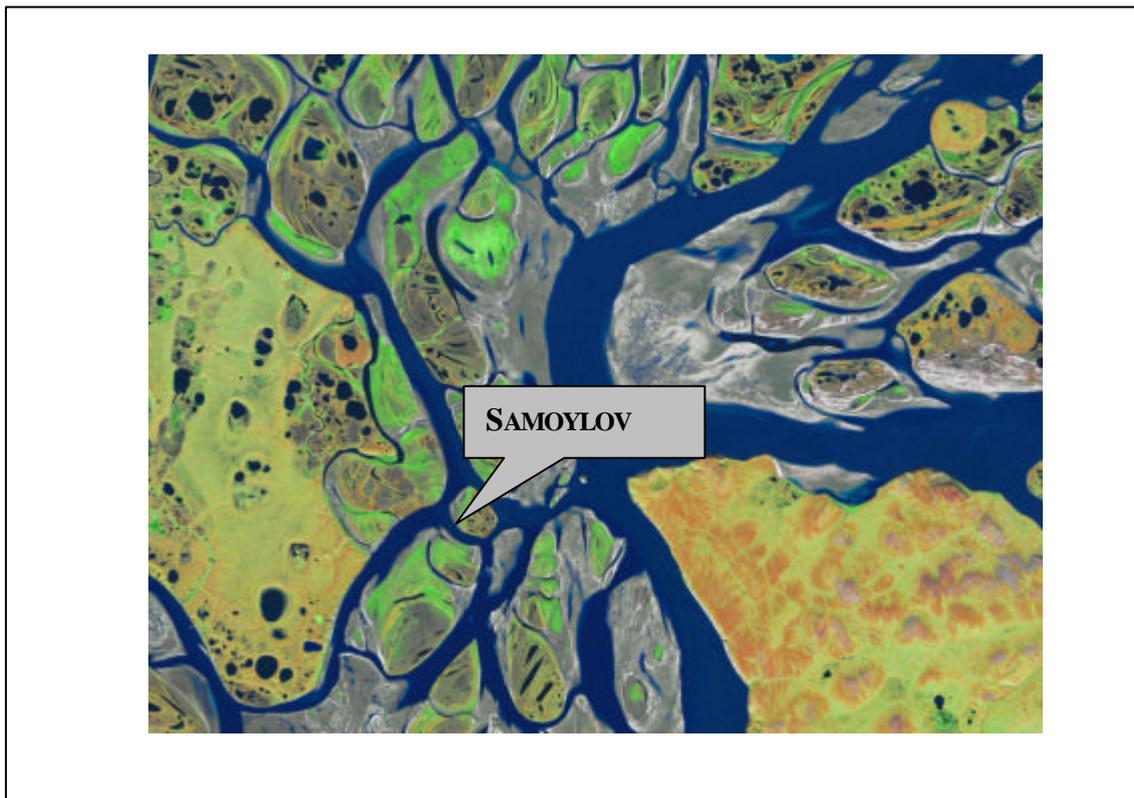


Abbildung 3-4.: Lage der Insel Samoylov im Lena-Delta (UNEP/GRID-ARENDAL AND LANDSAT 2000)

Der westliche Teil der Insel, der von rezenten fluvialen und aeolischen Sedimenten gekennzeichnet ist, kann in drei Überflutungsebenen verschiedener Höhe und Überflutungshäufigkeit gegliedert werden. Die niedrigste Überflutungsebene nimmt den westlichen Küstenstreifen ein und wird von

sandigen Flusssedimenten gebildet. Sie besitzt einen sehr geringen Bedeckungsgrad.

Die mittlere Überflutungsebene schließt sich unmittelbar an den westlichen Küstenstreifen an. Sie wird periodisch jedes Jahr während der Frühjahrshochflut überschwemmt und besteht aus sandigen bis schluffigen Sedimenten, die oft von Torf- und Schlammlagen durchsetzt sind. Die Deckung der Vegetation beträgt 20 bis 100 % (KUTZBACH 2000). In einer Abflussrinne im nördlichen Teil dieser Ebene wurde eines der Untersuchungsprofile dieser Arbeit (Permafrost-Auengley) angelegt (Kap. 4.1 und 5.1, Abb. 3-5).

Die hohe Überflutungsebene bildet einen Teil der Südküste der Insel und wird nur episodisch bei hohen Fluten überschwemmt. Ihr Substrat ist schluffig bis sandig, der Bedeckungsgrad beträgt 100 %. Auf dieser Überflutungsebene sind polygonale Frostmuster im Initialstadium zu erkennen (KUTZBACH 2000).

Der Ostteil der Insel wird von der mittelholozänen Flussterrasse (Kap. 3.1) gebildet, die nur bei extremem Hochwasser überflutet wird und etwa 70 % der Gesamtfläche der Insel einnimmt. Das Substrat des östlichen Teils der Insel wird von schluffig-sandigen Sedimenten mit Lagen kaum zersetzter organischer Substanz gebildet. Im Vergleich zu den Sedimentationsprozessen an der Westküste der Insel kann an der Süd-Ostküste eine massive Küstenerosion und die Ausbildung eines Küstenriffes beobachtet werden (Abb. 3-3.c). Darüber hinaus wird der östliche Teil Samoylovs von einem ausgeprägtes Eiskeil-Polygon-Netz und einer Vielzahl von Thermokarstseen charakterisiert.

Eines der Untersuchungsprofile dieser Arbeit (Tundra-Moorgley) wurde im Polygonzentrum eines Low-Centre-Polygons angelegt (Kap. 4.1 und Kap. 4.7) und besitzt die für Permafrostregionen charakteristischen Frostmusterböden. Da diesem Mikrorelief eine große ökologische Bedeutung zukommt, soll die **Entstehung und Struktur von Eiskeilpolygonen** kurz erläutert werden: Eiskeil-Polygonnetze entstehen in Regionen kontinuierlichen Permafrostes (Jahresmitteltemperatur tiefer -6 °C) und sind auf Spalten zurückzuführen, die im arktischen Winter durch Kältekontraktionen entstehen und in denen dann Reif sublimiert (FRENCH 1996). In diesen einige Millimeter breiten und Dezimeter bis Meter tiefen Rissen entstehen vertikale Eisadern im Permafrostkörper, die an der Oberfläche mehr oder weniger regelmäßige penta-, hexa- oder orthogonale Polygone (Frostmusterböden) bilden (Abb. 3-3.a+b). Im Sommer dehnt sich der Permafrostkörper bei Erwärmung wieder aus, jedoch wird dabei die horizontale

Ausdehnung aufgrund der Eisadern verhindert. Daher kommt es zu seiner Kompression, plastischen Verformung und Aufwölbung des Bodens an den Polygonrändern (Abb. 3-6.). Da sich die Frostspalten während des Auftauens im Sommer zusätzlich mit Schmelzwasser und Bodenpartikeln füllen und sich der Prozess der Kältekontraktion im Winter wiederholt, entstehen über die Jahrhunderte unter den Frostrissen keilförmige Eismassen mit einer Breite von einigen Metern.

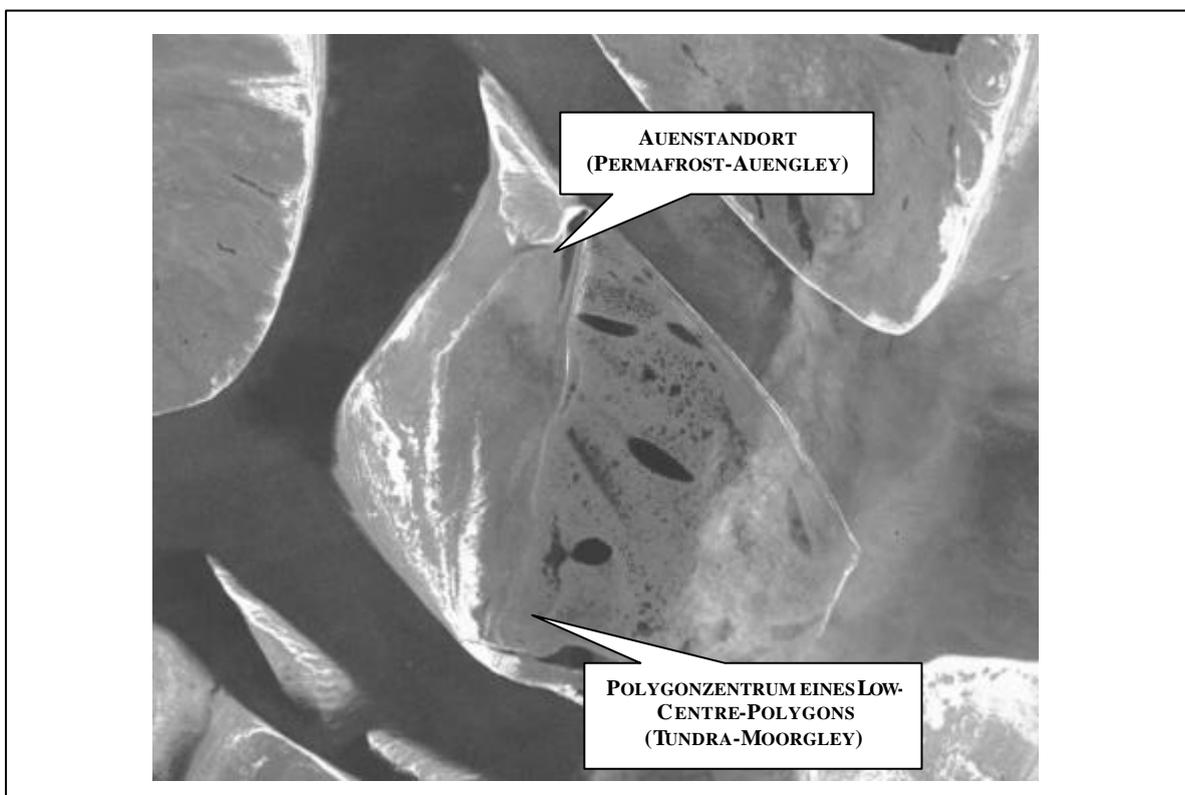


Abbildung 3-5.: Lage der Untersuchungsstandorte auf der Insel Samoylov (Luftbild des Satelliten CORONA, Koordinatensystem: UTM, Zone 52 N, WG584, 18. Juli 1964)

Polygone mit eingemuldetem Zentrum und randlichem Ringwall werden als 'Low-Centre-Polygone' bezeichnet (WASHBURN 1979). Das Polygonzentrum, das aufgrund des unterliegenden Permafrostes und des ihn umgebenden Walles eine abflusslose Senke darstellt, ist im Vergleich zum Polygonwall durch nahe der Geländeoberfläche anstehendes Grundwasser und weitestgehend reduzierende Bedingungen gekennzeichnet.



Abbildung 3-6.: Fotografie eines *Glacic Aquiturbel* mit Kryoturbationsmerkmalen auf dem Polygonwall eines Low-Centre-Polygons (aus KUTZBACH 2000)

3.3 Die Böden der Insel Samoylov

Die Böden Samoylovs werden maßgeblich vom Wasserspiegel, von der Permafrosttiefe und vom Mikrorelief bestimmt. Daher besteht ein direkter Zusammenhang zwischen den Bodentypen und den geomorphologischen Landschaftseinheiten der Insel Samoylov:

Im östlichen Teil der Insel, die von der mittelholozänen Flussterrasse gebildet wird (Kap. 3.2) und deren Relief von Low- und High-Centre-Polygonen geprägt wird, ist die Bodentypenverbreitung weitestgehend homogen. Hier dominiert die Bodenvergesellschaftung *Glacic Aquiturbels* / *Typic Historthels* (PFEIFFER et al. 2002; klassifiziert nach SOIL SURVEY STAFF 1998). Die *Typic Historthels* befinden sich in den eingemuldeten Polygonzentren der Low-Centre-Polygone. Sie sind durch einen nahe der Geländeoberfläche anstehenden Wasserspiegel und die Akkumulation organischer Bodensubstanz unter vorwiegend anaeroben Bedingungen charakterisiert.

Die *Glacic Aquiturbels* befinden sich auf den aufgewölbten Polygonwällen und besitzen einen wesentlich tieferen Grundwasserstand sowie eine geringere

Akkumulation an organischer Bodensubstanz. Die *Glacic Aquiturbels* weisen deutliche Kryoturbationsmerkmale auf (Abb. 3-6.)

Im erosiven Küstenbereich und insbesondere in der Nähe der Küstenriffe (Kap. 3.2) haben sich in Folge des noch niedrigeren Wasserspiegels verschiedene trockenere Böden herausgebildet. Repräsentativ für die im Küstenbereich verbreiteten High-Centre-Polygone ist die Bodenvergesellschaftung *Psammentic Aquorthels / Psammentic Aquiturbels*. Auf sandigem Substrat rezent aeolischer Ablagerungen haben sich *Typic Psammorthels* entwickelt (PFEIFFER et al. 2002).

Der westliche Teil Samoylovs mit seinen drei verschiedenen Überflutungsebenen (Kap. 3.2) weist viele verschiedene Bodentypen auf. In Küstennähe und auf höher gelegenen Sandlinsen haben sich wiederum *Typic Psammorthels* ausgebildet. In Abflussrinnen oder Senken befinden sich je nach Bodenfeuchteregeime *Typic Aquorthels*, *Ruptic-Histic Aquorthels* oder *Fluvaquentic Fibristels*.

3.4 Das Klima im Lena-Delta

Das Klima des Lena-Deltas wird von seiner arktischen Breitenlage (nördlich des 72ten Breitengrades), der kontinentalen Lage im zentralen Sibirien, der Nähe zum arktischen Ozean und der geringen Höhe über dem Meeresspiegel bestimmt. Es herrscht ein ausgeprägtes Jahreszeitenklima. Die mittlere Jahrestemperatur beträgt -12 °C , wobei die mittlere Januar-temperatur -30 °C , die mittlere Julitemperatur $+7\text{ °C}$ beträgt. Die Vegetationsperiode ist kürzer als 60 Tage. Die mittlere jährliche Niederschlagsmenge beträgt nur 190 mm. 75 % der Niederschläge fallen im Sommer, nur 25 % im Winter als Schnee.

4 Material und Methoden

4.1 Untersuchungsmaterial und Aufbereitung

4.1.1 Bodenproben der Insel Samoylov

Gegenstand der vorliegenden bodenmikrobiologischen Arbeit waren Bodenproben zweier unterschiedlicher Standorte der Insel Samoylov. Die Proben des ersten Profils stammen aus einem *Typic Aquortel* (Permafrost-Auengley) einer an der Nordspitze der Insel Samoylov gelegenen flachen Abflussrinne. Der Standort besitzt eine Geländehöhe von nur 7 m über dem Meeresspiegel. Das ist ausschlaggebend für die periodische Überflutung dieser Terrasse, infolgedessen fluviale Auensedimente das Substrat bestimmen.

Die **Probenahme** am Profil des *Typic Aquortel* erfolgte im Juli 2002 während der EXPEDITION LENA 2002 (WAGNER et al., im Druck). Die **bodenkundliche Merkmalsaufnahme** orientierte sich dabei an der 4ten Auflage der *Bodenkundlichen Kartieranleitung* (AG BODEN 1994). Die Bezeichnung der Horizonte sowie die Klassifikation jedoch erfolgte entsprechend der *Soil Taxonomy* (8te Auflage, SOIL SURVEY STAFF 1998).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Verteilung und Aktivität der Methan oxidierenden Mikroflora mittels mikrobiologischer, bodenchemischer und bodenphysikalischer Methoden untersucht. Eine Übersicht über Art und Lagerung sowie Behandlung und Verwendungszweck der Proben des *Typic Aquortel* gibt Tabelle 4-1.

Das zweite Profil (Tundra-Moorgley) wurde in einem Polygonzentrum angelegt und bereits von KUTZBACH (2000) nach SOIL SURVEY STAFF (1998) als *Typic Historthel* klassifiziert (siehe Kap. 4.7). Die Probennahme erfolgte im August 1999 während der Expedition LENA 1999 (PFEIFFER et al. 2000).

Tab. 4-1.: Übersicht zu Probenart, Aufbewahrung, Behandlung und Verwendungszweck

Probenart	Aufbewahrung	Behandlung	Verwendungszweck
Mischproben	1,5 l Tuppergefäße	Gefriertrocknung	Korngrößenverteilung Bodenchemie
	Nalgene Gefäße (250 + 125 ml)	luftdicht verschlossen, Lagerung bei -20°C	Mikrobiologische Versuche (FISH, MPN-Methode Aktivitätstests)
Proben in ungestörter Lagerung	PE-Flaschen (15 ml)	Extraktion des gelösten Kohlenstoffs (vor Ort), Lagerung bei 4°C	DOC-Gehalt
	Edelstahlzylinder (100 cm ³)	Verschluss mit PE-Folie und PVC-Deckeln zum Verdunstungsschutz	Porengrößenverteilung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die bodenkundlichen Untersuchungen von KUTZBACH (2000) durch mikrobiologische Analysen erweitert. Mit Hilfe der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) wurde dabei die Methan oxidierende Mikroflora des Tundra-Moorgleys (Polygonzentrum) charakterisiert.

4.1.2 Anreicherungskulturen

Zur weiteren Charakterisierung der Methan oxidierenden Mikroflora mittels FISH wurden Anreicherungskulturen aus beiden Bodenprofilen angesetzt. Für die Anreicherungskulturen wurde den einzelnen Horizonten je 2 g Bodenmaterial entnommen und in eine 120 ml Serumflasche gegeben. Der Boden wurde mit 30 ml Nitrat-Mineralsalz-(NMS)-Medium versetzt und anschließend 6-8 s mit einer Konzentration von 30.000 ppm Methan in synthetischer Luft begast. Bis zu einer Abnahme der Methanaustragskonzentration um 50 % wurden die Proben bei 28 °C inkubiert und anschließend fixiert, um sie für die Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung zu präparieren (siehe Kap. 4.5.2).

Das NMS-Medium nach WHITTENBERRY et al. (1970) hatte folgende Zusammensetzung: 900 ml Stammlösung, 100 ml Pufferlösung, 1 ml Spurenelementlösung. Die Zusammensetzung der einzelnen Lösungen kann Tabelle 4-2. entnommen werden.

Tabelle 42.: Zusammensetzung der Ausgangslösungen für das NMS-Medium nach WHITTENBURY et al. (1970)

Stammlösung	Pufferlösung (pH 6,8)	Spurenelementlösung
KNO ₃ 1g	KH ₂ PO ₄ 0,26g	EDTA 500 mg
MgSO ₄ * 7 1g	Na ₂ HPO ₄ * 2 0,41g	FeSO ₄ * 7 H ₂ O 200 mg
CaCl ₂ * 2 0,3g		ZnSO ₄ * 7 H ₂ O 10 mg
		MnCl ₂ * 4 H ₂ O 3 mg
Aqua deion. ad 900 ml	Aqua deion. ad 100 ml	H ₃ BO ₃ 30 mg
		CoCl ₂ * 6 H ₂ O 20 mg
		CuCl ₂ * 2 H ₂ O 1 mg
		NiCl ₂ * 6 H ₂ O 2 mg
		Na ₂ MoO ₄ * 2 3 mg
		Aqua deion. ad 1000 ml

4.2 Bodenphysikalische Analysen

4.2.1 Porengrößenverteilung

Die Porengrößenverteilung wurde nach der Überdruckmethode unter Verwendung keramischer Platten nach RICHARDS and FIREMAN (1943) in Zusammenarbeit mit dem Institut für Bodenkunde der Universität Hamburg bestimmt. Die Porengrößenverteilung und das Gesamtporenvolumen ermöglichen Rückschlüsse auf Körnung, Aggregatbildung, biotische Aktivität und das Klima eines Standortes. Darüber hinaus sind sie wichtige Größen zur Abschätzung des Wasserhaushaltes eines Bodens.

Bei der Bestimmung der Porengrößenverteilung wird an eine wassergesättigte Probe ein definierter Überdruck angelegt. Eine Entwässerung erfolgt solange, bis der angelegte Überdruck im Gleichgewicht mit der Wasserspannung ist. Durch sukzessive Erhöhung des Druckpotentials kann aus der Wasserabgabe einer anfangs wassergesättigten Probe auf die Porenanteile und zugleich auf die Poren mit definiertem Grenzdurchmesser geschlossen werden. Der Zusammenhang zwischen Wasserspannung äquivalenten Porendurchmessers, Porenbereich und Wasserhaushalt ist in Tabelle 4-3. dargestellt.

Tabelle 4-3: Übersicht zur Wasserspannung und äquivalenten Porendurchmessers, Porenbereich und Wasserhaushalt

Wasserspannung				Äquivalent- durchmesser (μm)	Porenbereich	Wasserhaushalt	
cm WS	~ bar	hPa	pF				
0	0	0	$-\infty$	∞			
3	0,003	3	0,5	1000	weite Grob- poren	Sicker- wasser	
20	0,02	20	1,3	150			
60	0,06	59	1,8	50	enge Grobporen		pflanzen- verfügbare s Wasser
100	0,1	98	2	30			
300	0,3	294	2,5	10			
1000	1	981	3	3	Mittel- poren	Haft- wasser	
3000	3	2942	3,5	1			
15000	15	8826	4,2	0,2	Fein- poren		Tot- wasser
∞	∞	∞	∞	0			

Im Niederdruckbereich (3 – 981 hPa, das entspricht 0,003 – 1 bar) erfolgte die Bestimmung der Porengröße an ungestörten Stechzylinderproben (100 cm^3). Diese wurden bis zur Gewichtskonstanz auf einem Sandbad gewässert, wobei der Wasserspiegel 5 mm unter der Sandoberfläche lag. Im Anschluss daran wurden die Stechringproben auf ebenfalls gewässerte keramische Platten (Soil Moisture Pressure Plate, 100 kPa) gestellt und in Drucktöpfe (Soil Moisture Pressure Plate Extractor #1600) überführt. Über einen externen Druckanschluss wurden schrittweise folgende Druckstufen und Entwässerungszeiten an die Drucktöpfe angelegt: 0,003 bar für 24 h, 0,06 bar für 3 d, 0,3 bar für 7 d und 1 bar für 10 d. Je horizont wurden 5 Parallelen untersucht. Vor und nach jeder Entwässerungsstufe wurden die Proben auf 0,1 g genau gewogen. Nach der letzten Entwässerungsstufe im Niederdruckbereich (1 bar) wurde mit Hilfe eines Vakuum-Luftpyknometers das Gesamtporenvolumen ermittelt. Abschließend wurden die Proben getrocknet. Aus dem Verhältnis Trockengewicht/Volumen (Rohdichte der Bodenproben) konnte die effektive Lagerungsdichte abgeleitet werden.

Die Entwässerung im Hochdruckbereich der Mittel- und Feinporen (3 – 15 bar) wurde an (gestörten) Mischproben durchgeführt. Feldfrischer Boden wurde mit Leitungswasser versetzt und 12 h quellen gelassen. Anschließend wurde die Probe in Plastikringe gegeben (Durchmesser 3 cm, Höhe 1 cm). Wässerung, Anlegen der Druckstufen, Entwässerung und Rückwage erfolgte wie im Niederdruckbereich.

4.2.2 Korngrößenverteilung

Die Korngrößenverteilung wurde durch Nass- und Trockensieben in Kombination mit dem VERFAHREN NACH ATTERBERG (1912) bestimmt. Zunächst wurde die in den Proben befindliche organische Substanz durch Zugabe von Wasserstoffperoxid herausgelöst. Dazu wurden 8 g gefriergetrockneter, homogenisierter Boden eingewogen und mit 100 ml 3 %igem Wasserstoffperoxid versetzt. Bei einer Geschwindigkeit von 175 U/min wurden die Proben im Anschluss unter mehrmaliger Zugabe von konzentriertem Wasserstoffperoxid so lange geschüttelt, bis keine Gasentwicklung mehr stattfand. Am Rhewum Schallfix erfolgte daraufhin durch Nasssieben eine Abtrennung der Sandfraktion (Korngröße > 0,063 mm). Diese Fraktion wurde am Sonic Sifter ATM trockengesiebt. So erfolgte eine Auftrennung der Sandfraktion in Feinsand (0,2-0,063 mm), Mittelsand (0,63-0,2 mm) und Grobsand (2-0,63 mm). Die Fraktion < 0,063 mm (Ton- und Schlufffraktion) wurde nach dem Atterbergverfahren bestimmt. Bei einer definierten Temperatur und Fallhöhe sedimentiert die Schlufffraktion vollständig, während sich die Tonfraktion noch in Suspension befindet und mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt werden kann. Die Schlufffraktion konnte am SediGraph 5100 Particle Size Analysis System unter Berücksichtigung des STOCKSchen GESETZES auf einzelne Bestandteile der Korngröße 0,063-0,002 mm untersucht werden. Zum Absinken der Teilchen der Tonfraktion wurde Magnesiumchlorid verwendet, das im Anschluss durch zweimaliges Zentrifugieren entfernt werden konnte.

4.3 Bodenchemische Analysen

4.3.1 pH-Wert

Der pH-Wert wurde elektrometrisch in einer Suspension mit Salzlösung bestimmt. Dazu wurden 10 g lufttrockener und homogener Boden mit 25 ml 0,01 M CaCl_2 -Lösung versetzt und mit einem Rührstab kräftig umgerührt. Nach einer Stunde erfolgte die Messung des pH-Wertes mit einer Einstab-Glas/Kalomel-Elektrode (Mikroprozessor pH-Meter, pH 537, Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH).

4.3.2 Kohlenstoff- und Stickstoffgehalte

Die Gehalte an Kohlenstoff und Stickstoff wurden an zwei unterschiedlichen Geräten, dem ELTRA-Vario ELIII und dem Leco CHNS-932, bestimmt. Am ELTRA-Vario ELIII wurde sowohl der Anteil des organischen Kohlenstoffs als auch der Gesamtkohlenstoffgehalt gemessen, am Leco CHNS Gesamtkohlenstoff und Gesamtstickstoff.

Mit einem Achatmörser und Pistil zerkleinertes und homogenisiertes Probenmaterial wurde in einer Mühle (Resch Mühle MM 200) bei einer Frequenz von 30 Hz ca. 5-10 Minuten zu einem feinen Mehl zermahlen. Zur Bestimmung des organischen Kohlenstoffes am Eltra versetzt man die Probe mit 10 %iger Salzsäure und erhitzt sie anschließend zwei Stunden bei 100 °C. Mit Hilfe der Säure werden bei dieser Temperatur die Carbonate herausgelöst. Die Methode zur Bestimmung von Kohlenstoff und Stickstoff beruht bei beiden Geräten auf der Verbrennung der Elemente im Sauerstoffstrom bei 1250-1400 °C. Kohlenstoff wird in Kohlenstoffdioxid überführt, Stickstoff wird thermisch zersetzt. Die bei diesem Verbrennungsprozess entstandenen Gase werden jeweils mit Hilfe eines Infrarot Absorptionsdetektors detektiert und in Gewichtsprozent angegeben.

Aus dem Anteil an organischem Kohlenstoff wurde durch Multiplikation mit dem Faktor 1,72 der Humusgehalt der einzelnen Horizonte bestimmt (SCHEFFER und SCHACHTSCHABEL 1998).

Zur Bestimmung des Gehaltes an gelöstem organischen Kohlenstoff (DOC) wurde zunächst im Feld 9 g frischer Boden in ein 50 ml Gefäß eingewogen und mit 45 ml aqua dest. versetzt. Die Bodensuspension wurde eine Stunde im Dunkeln geschüttelt und anschließend über einen Filter (0,45 µm Polyethersulfan-Filter, Fa. Gelman Science) filtriert. Bis zur Analyse im Labor erfolgte die Lagerung in 15 ml PE-Flaschen unter Zugabe von 0,15 ml Natriumazid.

Im Labor wurde der Gehalt an gelöstem organischen Kohlenstoff mit dem C-mat 550 (Fa. STRÖHLEIN, Labor-, Mess- und Umwelttechnik) nach DIN EN 1484-H3 (DEUTSCHE EINHEITSVERFAHREN ZUR WASSER-, ABWASSER- UND SCHLAMMUNTERSUCHUNG 1988) bestimmt. Zunächst wurde der anorganische Kohlenstoff ausgegast. Die flüssige Probe mit dem verbleibenden organischen Kohlenstoff wurde im reinen Sauerstoffstrom bei 1500 °C verbrannt. Der

Kohlenstoff wurde dabei in Kohlenstoffdioxid überführt, das wiederum mit einem Infrarotdetektor gemessen wurde.

4.4 Bodenmikrobiologische Analysen

4.4.1 Zellzahlbestimmung der Methan oxidierenden Bakterien

Die Zellzahl der methanoxidierenden Bakterien wurde nach der Methode der wahrscheinlichsten Zellzahl (**most probable number**, MPN) bestimmt. Das Prinzip dieser Methode beruht darauf, dass eine Bodensuspension soweit verdünnt wird, bis sowohl Verdünnungsstufen vorliegen, in denen noch Mikroorganismen enthalten sind, als auch Verdünnungsstufen, die keine Mikroorganismen mehr enthalten. (GRENZVERDÜNNUNG NACH ALEXANDER 1984). Durch Wahl eines geeigneten Mediums kann sichergestellt werden, dass nur die gesuchten Organismen wachsen und damit Stoffwechsel betreiben können. Verglichen mit Verdünnungen ohne Zellen kann in bewachsenen Flaschen diese Stoffwechselaktivität gemessen werden. Anhand der Anzahl bewachsener Parallelen der einzelnen Verdünnungsstufen ergibt sich nach der Tabelle nach MCCRADY (1919) die wahrscheinlichste Zellzahl.

In einer Clean Bench wurde 1 g feldfrischer Boden in eine sterile Serumflasche (25 ml) eingewogen und mit 5 ml physiologischer NaCl-Lösung versetzt. Ausgehend von dieser Suspension entstand eine dezimale Verdünnungsreihe bis zu einer Verdünnung von 10^{-6} . Dazu wurden der nächst niedrigeren Verdünnung jeweils 0,5 ml entnommen und auf 4,5 ml physiologische NaCl-Lösung gegeben. Pro Verdünnungsstufe wurden im Anschluss drei Serumflaschen, die je 4,5 ml Nitrat-Mineralsalz-(NMS)-Medium (siehe Tabelle 4-3.) enthielten, mit 0,5 ml der jeweiligen Verdünnungsstufe beimpft. Die Flaschen wurden gasdicht mit einem Gummistopfen verschlossen und mit 30.000 ppm Methan in synthetischer Luft begast. Die Ausgangskonzentration an Methan wurde am Gaschromatographen gemessen. Die Flaschen wurden 18 Wochen bei einer Temperatur von 20 °C im Dunkeln als Standkultur inkubiert. Im Abstand von 4 Wochen wurde die Methankonzentration bestimmt.

Als bewachsene Kulturen wurden diejenigen Flaschen definiert, in denen der Methangehalt um mindestens 10% der Anfangskonzentration sank.

4.4.2 Methanoxidationsaktivität

Die potentielle Methanoxidationsaktivität wurde sowohl in Abhängigkeit der Temperatur als auch des Substrates (Methankonzentration) bestimmt. Dies geschah exemplarisch anhand von Bodenproben für das Tiefenprofil des *Typic Aquortel* (Permafrost-Auengley).

Je Horizont wurden zunächst etwas mehr als 30 g feldfrischer Boden eingewogen und mit Hilfe eines Mörsers homogenisiert. Organische Bestandteile, wie Wurzeln, wurden mit einer Schere zerkleinert. In drei Parallelen pro Horizont wurden jeweils 10 g ($\pm 0,1$ g) des homogenisierten Bodens in sterile Serumflaschen (120 ml) gegeben, im Verhältnis 1:1 (v/v) mit aqua dest. versehen und mit einem Whirlmix ca. 20 sec lang geschüttelt.

Die Messungen bei verschiedenen Temperaturen bzw. Methankonzentrationen erfolgten im Anschluss daran nach unterschiedlichen Methoden:

4.4.2.1 Methanoxidationsaktivität in Abhängigkeit von der Temperatur

Für die Temperaturmessreihe wurde mit dem Hemmstoff Difluormethan (CH_2F_2) gearbeitet. Dieser hemmt selektiv den Prozess der Methanoxidation, ohne die Methanbildung zu beeinflussen (KRÜGER et al. 2001).

Die Suspension wurde zunächst über Nacht jeweils bei 0 °C, 4 °C, 10 °C bzw. 20 °C inkubiert. Durch Sedimentation der Bodenpartikel konnte die anstehende Wassersäule abpipettiert und somit die Bodengrenzschicht oxischen Verhältnissen ausgesetzt werden. Anschließend wurde eine Konzentration von 2000 ppm Methan im Headspace der Serumflaschen eingestellt. In einem Zeitraum von 0-150 h wurde die Methankonzentration in regelmäßigen Abständen im Gaschromatographen analysiert. Nach Beendigung einer Messreihe ohne Hemmstoff wurden die Flaschen evakuiert und in den je 3 Parallelen eine Hemmstoffkonzentration von 8000 ppm und wiederum eine Methankonzentration von 2000 ppm

eingestellt. Die Messungen am Gaschromatographen erfolgten in gleichen Intervallen.

Die Berechnung der Methanoxidationsraten erfolgte aus der linearen Regression der Methankonzentration, wobei die effektive Methanoxidationsaktivität durch die Methanbildungsrate unter Einsatz des Hemmstoffs korrigiert werden musste ($Ox_{eff.} = \text{Anstieg mit Hemmstoff} - \text{Anstieg ohne Hemmstoff}$).

4.4.2.2 Methanoxidationsaktivität in Abhängigkeit vom Substrat

Für die Messungen bei unterschiedlichen Methankonzentrationen wurde ohne Difluormethan gearbeitet. Die Bodensuspensionen wurden mit Konzentrationen von 1000 ppm, 2000 ppm, 5000 ppm bzw. 21000 ppm Methan begast und bei einer Temperatur von 21 °C inkubiert. Zwischen den Messungen am Gaschromatographen in einem Zeitraum von 0-50 h wurden die Proben ständig geschüttelt.

Auch hier berechnete sich die Oxidationsleistung aus der linearen Regression der Methankonzentration.

Aus der maximalen Oxidationsleistung (maximale Reaktionsgeschwindigkeit) wurde anschließend die MICHAELIS-MENTEN-KONSTANTE (K_m -Wert) berechnet:

$$K_m = c(S) \frac{V_{max}}{2}$$

(V_{max} = maximale Reaktionsgeschwindigkeit; $c(S)$ = Substratkonzentration)

4.5 Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH)

4.5.1 Sonden

Die Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) ermöglicht den spezifischen Nachweis einzelner Zellen in ihrem Habitat. Durch die Anwendung dieser Methode der Ganzzellhybridisierung konnte daher ein System entwickelt werden, mit dem in Anreicherungen und Bodenproben zwischen Typ I (γ -

Proteobakterien) und Typ II (α -Proteobakterien) Methan oxidierenden Bakterien differenziert werden kann. Das Detektieren Methan oxidierender Bakterien erfolgte durch **gleichzeitige** Hybridisierung mit der universell **alle** Eubakterien markierenden Eubakteriensonde (EubMix: Eub338 + Eub338II + Eub338III), der Typ I Sondenkombination (Mg 85 + Mg 705, ELLER 2000) und der Typ II Sonde (Ma 450, ELLER 2000) mit nachfolgender DAPI – Färbung. Die Sonden, die von ThermoHybaid (Ulm, Deutschland) hergestellt wurden, waren jeweils mit einem fluoreszierenden Carbocyaninfarbstoff konjugiert. Die Konzentration der Arbeitslösungen lag bei 30 ng/ μ l.

4.5.2 Fixierung der Boden – und Anreicherungskulturen

Bevor die DNA–Sonden die Zellmembranen passieren und an die jeweilige DNA-Sequenz der Zelle anhaften können, müssen die Zellen dahingehend präpariert werden, dass ihre Zellwände durchlässig werden. Das vollzieht sich während der Fixierung.

Sowohl die Anreicherungen als auch der feldfrische Boden wurden nach einem Protokoll von PERNTHALER und GLÖCKNER (2001) fixiert. In ein 2 ml Eppendorfgefäß wurden 0,5 g gut homogenisierter feldfrischer Boden bzw. 0,5 ml der Anreicherungskultur gegeben, mit 1,5 ml 4 %iger Paraformaldehydlösung (Zusammensetzung der Lösungen für Fixierung, Hybridisierung und Färbung sind in Tab. 4-4. dargestellt) versetzt und bei 4 °C 3-5 h inkubiert. Durch dreimaliges Zentrifugieren (5 min, 10000 Upm) und zweimaliges Waschen mit PBS-Puffer wird im Anschluss daran das Paraformaldehyd entfernt. Die fixierten Proben werden bis zur Hybridisierung bei –20 °C in einer 1:1 Lösung PBS-Puffer und 96 %iges Ethanol gelagert.

4.5.3 Hybridisierung

Die fixierten Bodenproben wurden zunächst mit 0,15 %iger Natriumpyrophosphat – Lösung (ZARDA et al. 1997) verdünnt und mit Ultraschall (20 s, 20 % Leistung) behandelt, um organische und mineralische Bestandteile voneinander zu trennen.

Jeweils 10 µl der fixierten Proben wurden auf Gelatine beschichtete Objektgläser (ZARDA et al. 1997) aufgetropft und bei 46 °C 10 Minuten im Trockenschrank getrocknet. In einer Ethanolreihe mit 50 %, 80 % und 96 % Ethanol wurden sie anschließend für je drei Minuten dehydriert und anschließend luftgetrocknet.

Auf jedes der zehn Felder des Objektgläschens wurden 10 µl Hybridisierungspuffer und anschließend 3 µl der Oligonucleotidsonde getropft. Die Hybridisierung erfolgte über zwei Stunden in einem mit Hybridisierungspuffer getränkten 50 ml PR-Röhrchen bei 46 °C. Nach der Hybridisierung wurde das Objektgläschen in einem vorgewärmten Waschpuffer für 10 Minuten bei 48 °C gewaschen. Mit eiskaltem, destilliertem Wasser wurde der Puffer abgewaschen und die Objektgläschen mit Druckluft getrocknet.

4.5.4 DAPI-Färbung

DAPI (4'6'Diaminodino-2-Phenylindol) besitzt die Fähigkeit, unspezifisch an jede DNA zu binden. Somit ermöglicht dieser Farbstoff die Visualisierung **aller** Zellen. Die Anregung im UV-Licht führt zur Fluoreszenz im Wellenbereich des blauen Lichts.

Die DAPI-Stammlösung wurde 1:1000 verdünnt und pro Feld eines Objektträgers 10 µl aufgetropft. Die Einwirkzeit betrug 10-15 Minuten bei 4 °C. Abschließend wurde der DAPI-Farbstoff mit kaltem Wasser abgespült und der Objektträger mit Druckluft getrocknet.

Tabelle 4-4.: Zusammensetzung der Lösungen für Fixierung, Hybridisierung und Färbung

PBS-Puffer (Phosphate Buffered Saline)		
NaCl	8,0	g
KCl	0,2	g
KH ₂ PO ₄	0,2	g
Na ₂ HPO ₄ * 2H ₂ O	1,44	g
in 1000 ml MQ* lösen, pH-Wert 7,2 – 7,5 einstellen		
Formaldehydlösung (4 %ig)		
PBS-Puffer (dreifach konzentriert)	16,5	ml
Paraformaldehyd (PFA)	2,0	g
10 N NaOH		
10 N HCl		
33 ml MQ werden auf 60-65 °C erhitzt und das PFA unter Rühren hinzugegeben. Durch wenige Tropfen 10 N NaOH löst sich das PFA vollständig. Abschließend wird der PBS-Puffer hinzugegeben, der pH-Wert mit Hilfe von 10 N HCl zwischen 7,2 und 7,4 eingestellt, die Lösung filtriert (0,45 µm Filter) und im Kühlschrank maximal 24 h gelagert.		
Hybridisierungspuffer		
5 M NaCl	360	µl
1 M Tris/HCl (pH 8)	40	µl
Formamid		
(20 % = Arbeitskonzentration für Sonden: EubMix, Mg84 und 705, Ma450)	400	µl
MQ (für Formamidkonzentration von 20%)	1200	µl
10 % (w/v) SDS	4	µl
Waschpuffer		
1 M Tris/HCl (pH 8)	1000	µl
5 M NaCl (für Formamidkonzentration von 20 %)	2150	µl
0,5 M EDTA	500	µl
10 % (w/v) SDS	50	µl
mit MQ auf 50 ml auffüllen		
DAPI-Stammlösung		
4'6'Diaminodino-2-Phenylindol (DAPI)	0,1	mg
DMSO	1,0	ml

* MQ steht für doppelt destilliertes Wasser

4.5.5 Epifluoreszenzmikroskopie

Die mit den Sonden markierten Proben wurden mit einem Mikroskop des Typs Axioskop 2 der Firma Zeiss, ausgestattet mit den Filtern Nummer 02 (DAPI), 10 (FLUOS, DTAF) und 20 (Cy3), analysiert. Es wurde mit einem Neofluotar Objektiv (Öl) 100fach bzw. 63fach gearbeitet. Die fotografische Dokumentation erfolgte mit einer in das Mikroskop integrierten Digitalkamera des Typs AxioCam Farbkamera (Fa. Zeiss).

4.6 Gasanalytik

Für die Gasanalytik im Labor wurde ein Gaschromatograph (Serie Agilent, 6890, Fa. Agilent Technologies) verwendet. Eine Auftrennung der Gase erfolgte durch eine Carbonplot-Säule (\varnothing 0,53 mm, Länge: 30 m) bei einem Gasfluss von 30 ml/min. Die Ofen- und die Injektortemperatur lag jeweils bei 45 °C, die des Detektors bei 250 °C. Die Gasanalytik im Feld erfolgte ebenfalls mit einem Gaschromatographen (Chrompack GC 9003). Zur Auftrennung der Gase diente eine Poraplot Q (100/120 mesh, 20 ft) Säule. Die Flussrate lag bei 20 ml min⁻¹. Die Methankonzentration wurde jeweils mit Hilfe eines Flammenionisationsdetektors (FID) gemessen; als Trägergas diente bei beiden Geräten Helium.

4.7 Fremddaten

Die Bestimmung der Zellzahlen methanoxidierender Bakterien und die Bodenklassifikation für den Tundra-Moorgleys eines Polygonzentrums (*Typic Historthel*) sind KUTZBACH (2000) entnommen. In Tabelle 4-5. ist die Profilbeschreibung des untersuchten Polygonbodens dargestellt. Das Profil des *Typic Historthel* wurde maßgeblich von einem nahe der Geländeoberfläche anstehenden Wasserspiegel (5 cm unter GOF) bestimmt, woraufhin es zur weitestgehend anaeroben Akkumulation organischer Bodensubstanz kam. Die Vegetation des Polygonzentrums wird von der „Wassersegge“ *Carex aquatilis* dominiert. Weitere Informationen zur Bodenchemie und -mikrobiologie des *Typic Historthels* sind in KUTZBACH (2000) beschrieben.

Die Ergebnisse von Messungen der Methanbildungs- und Oxidationsaktivität unter *in-situ*-Bedingungen, von *in-situ* Temperaturen und Methangehalten für den

Tundra-Moorgley (*Typic Historthel*) und für den Permafrost-Auengley (*Typic Aquorthel*) im Norden der Insel sowie Vergleichsdaten zum gelösten organischen Kohlenstoff (DOC) im *Typic Historthel* wurden von Herrn Dr. D. Wagner zur Verfügung gestellt. Die Daten wurden in den Jahren 1999 bzw. 2002 während der Expeditionen LENA 1999 und LENA 2002 erhoben.

Tab. 4-5.: Profilbeschreibung des *Typic Historthel* (Tundra-Moorgley; nach KUTZBACH 2000)

Ort: Samoylov, Lena-Delta		Datum der Profilaufnahme: 22.08.1999	
Koordinaten: 72° 22,2'N, 126° 28,5'O		Geländehöhe: 12,3 m über dem Meeresspiegel	
Lage im Gelände: Zentrum eines Low-Centre-Polygons			
Substrat: Flacher Laubmoostorf über Fluvisand (aus Deltasand) -og-Hlf-s(GF). Flugsandbänder - a-s(Sa)			
Permafrosttiefe: 31 cm		Tiefe des Wasserspiegels: 5 cm unter GOF	
Bemerkungen: keine Kryoturbationsmerkmale, Sedimentlagen-Grenzen waagrecht und ungestört. Im gesamten Profil kein CaCO ₃			
Horizontbezeichnung		Tiefe (cm)	Eigenschaften
nach KA4	nach Soil Taxonomy		
H	Oi	0-11	schwach zersetzter Laubmoostorf und lebende Moose
Gr-Aa	A	11-26	feinsandiger Mittelsand (mSfs), bräunlich-schwarz (10 YR 2/2), anmoorig (h6), Carex-Wurzelfilz (w6), kein Gefüge erkennbar, hoher Anteil schwach zersetzter organischer Substanz
Gr	Bg	26-31	feinsandiger Mittelsand (mSfs), Horizont entspricht mächtigem Sandband, oliv-braun (2,5 Y 4/4), mittel humos (h3), mittel durchwurzelt (w3), Einzelkorngefüge, α - α -Dipyridil-Reaktion positiv (reduziertes Fe)
P*	Bf	31-64	stark schluffiger Sand (Su3), bräunlich-schwarz (10 YR 3/2), stark humos (h4), keine Wurzeln (w0), Bänder schwach zersetzter organischer Substanz, Permafrost, Eislinsen linienförmig eingeregelt

* in der KA gibt es keine Bezeichnung für Permafrost

5 Ergebnisse

5.1 Der Permafrost-Auengley im Norden der Insel Samoylov: *Typic Aquorthel*

5.1.1 Bodenmorphologie und –klassifikation

Das Profil des Bodens wurde in einer flachen Abflusssrinne an der Nordspitze der Insel Samoylov angelegt (Abb. 3-5.). Nach SOIL SURVEY STAFF (1998) wurde er als *Typic Aquorthel* klassifiziert und gehört damit innerhalb der *Gelisole* der Untergruppe der *Orthels* an. Das Profil zeigt nach der bodenkundlichen Kartieranleitung (AG BODEN 1994) die Horizontierung **Ai – Ah – Gr** (eingelagertes Sandband) – **P** (Abb. 5-1.). Der Wasserspiegel ist anstehend, wodurch reduktive Verhältnisse dominieren. Mit Ausnahme des Ah-Horizontes ist die α - α -Dipyridil-Reaktion im gesamten Profil positiv. Das dominierende Substrat im gesamten Profil ist Schluff. Die Lagerungsdichte ist bis zu einer Tiefe von 40 cm sehr gering bis gering. Die Vegetation wird von *Arctophila fulva* dominiert, einem Gras, das ein ausgeprägtes Aerenchym besitzt, durch das Sauerstoff in den Wurzelbereich transportiert wird.

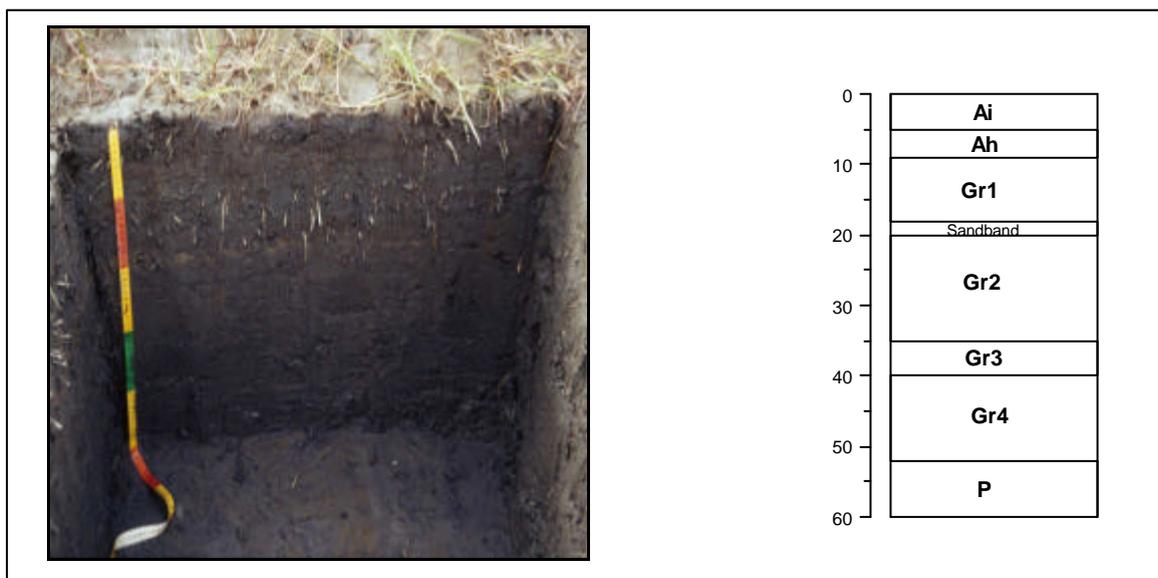


Abbildung 5-1.: Fotografie vom *Typic Aquorthel*, Das Bodenprofil ist an der Nordspitze der Insel Samoylov gelegen. rechts: Profilschema

Tabelle 5-1.: Profilaufnahme des *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley)

Ort: Samoylov, Lena-Delta		Datum der Profilaufnahme: 22.07.2002	
Koordinaten: 72° 23,11,9'N, 126° 28,54,0'O		Geländehöhe: 7,0 m über dem Meeresspiegel	
Lage im Gelände: flache Abflussrinne, Ebene			
Substrat: fluviale Auensedimente, Humusakkumulation, beginnende Gefügebildung			
Permafrosttiefe: 54 cm		Tiefe des Wasserspiegels: anstehendes Grundwasser	
Bemerkungen: Dipyridilreaktion fast im gesamten Profil positiv (reduziertes Eisen), kein CaCO ₃ im Profil			
Mittlerer Jahresniederschlag: 90 mm		Vegetation: Schachtelhalm, Wollgras	
Horizontbezeichnung		Tiefe (cm)	Eigenschaften
nach KA4	nach Soil Taxonomy(*)		
Ai	A1	0-5	einjährige Sedimentationsschicht , keine Redoxflecken schwach humos (h2), schwach durchwurzelt (w2) Kohärentgefüge, Lagerungsdichte sehr gering (LD1) gelb-graue Farbe (2.5Y3/1), sandig-lehmiger Schluff (Uls)
Ah	A2	5-9	alte Blattscheiden (2cm mächtig), Dipyridilreaktion negativ mittel humos (h3), mittelstark durchwurzelt (w3) Kohärentgefüge, geringe Lagerungsdichte (LD 1-2) gelblichgraue Farbe (2.3Y3/2), sandig-lehmiger Schluff(Uls)
Gr1	Bg1	9-18	Redoxflecken (1-2%), stark humos (h4), Wurzelfilz (w6) Kohärent-Subpolyedergefüge, geringe Lagerungsdichte grünlichgrau (5Y3/1), mittel schluffiger Sand (Su3)
Gr2	Bg2	18-20	Sandband, sehr schwach humos(h1), sehr schwach durchwurzelt (W1), Einzelkorngefüge, sehr geringe Lagerungsdichte, gelbl.grau (2,5Y3/2), mittelsandiger Feinsand(fSms)
Gr3	Bg3	20-35	Redoxflecken (1-2%), mittel humos (h3) sehr stark durchwurzelt (w5), Kohärent-Subpolyedergefüge geringe Lagerungsdichte (LD2), gelbgrau (2,5Y3/1) sandig-lehmiger Schluff (Uls)
Gr4	Bg4	35-40	schwach humos (h2), schwach durchwurzelt (w2), Kohärent-Subpolyedergef., geringe Lagerungsdichte (LD2), grünlichgrau (5Y3/1), lehmiger Schluff (UI)
Gr5	Bg5	40-52	humusfrei (h0), sehr schwach durchwurzelt(w1), von alten organ. Bändern durchzogen, Kohärent-Subpolydergef., mittlere Lagerungsdichte (LD3), Makrogrobggefüge vorhanden, grünlichgrau (5Y3/1), mittel lehmiger Sand (Sl3)
P	Bff	>52	Permafrost, Redoxflecken (10-30%), humusfrei (h0), keine Wurzeln, Einzelkorngefüge, grüngraue Farbe Flecken gelbbraun (10YR4/6), schwach lehmiger Sand (sl2)
Soil Taxonomy:		<i>Typic Aquorthel</i>	
World Reference Base:		<i>Gleyi-Histic Cryosol (Areni-Fluvic)</i>	
Bodenk. KA: (Permafrost) Auengley			

(*) Symbole nach Soil Taxonomie: g-Hydromorphie, f-gefroren

Die oberste Bodenschicht (0 bis 5 cm) besteht aus einer einjährigen fluvialen Sedimentationsschicht, ist schwach humos und noch schwach durchwurzelt. Der ältere Ah-Horizont (5 bis 9 cm) ist mittelhumos und mittelstark durchwurzelt. Keiner der beiden Horizonte weist Reduktionsflecken auf.

Der mächtige Gr-Horizont (9 bis 52 cm) besteht aus älteren teils sandigen, teils schluffigen Ablagerungen und enthält zwischen 40 bis 52 cm Tiefe feine organische Bänder. Der obere Bereich des Gr-Horizontes ist sehr stark durchwurzelt (Wurzelfilz).

In einer Tiefe von 18 cm wird der Gr-Horizont von einem 2 cm dicken, sehr schwach humosen Sandband durchzogen (fSms: mittelsandiger Feinsand), das aufgrund seines Einzelkorngefüges eine sehr geringe Lagerungsdichte aufweist. Mit Hilfe der α - α -Dipyridil-Reaktion wurden im gesamten Gr-Horizont freie Fe^{II}-Ionen und damit reduzierende Bedingungen nachgewiesen. Ab einer Tiefe von 52 cm ist das Profil von Permafrost geprägt. Dieser Bereich ist humusfrei und besitzt ein Einzelkorngefüge.

5.1.2 Bodenphysikalische Eigenschaften

Die **Korngrößenverteilung** wurde bis zu einer Tiefe von 52 cm bestimmt. Der Schluffanteil liegt im gesamten Profil höher als 50 %. Die Bodenartenklassifizierung im Feld wurde anhand der Laboranalysen korrigiert. Die Bodenart des Ai-Horizontes ist sandig-lehmiger Schluff (Uls), der prozentuale Masseanteil an Ton (11,1 %) ist deutlich geringer als an Sand (24,2 %). Die Bodenart des Ah-Horizontes bzw. des Gr-Horizontes (bis zu einer Tiefe von 40 cm) wurde als schluffiger Lehm (Lu) klassifiziert. Ton- und Sandgehalte sind annähernd gleich und betragen ca. 20 %. Die Korngrößenverteilung des untersten Bereiches des Gr-Horizontes (40-52 cm) ergibt als Bodenart stark tonigen Schluff (Ut4). Der Schluffanteil ist der höchste im Profil (67,7 %), der Sandanteil ist am geringsten (14,7 %). Die detaillierten Korngrößenzusammensetzungen (T, fU, mU, gU, fS, mS, gS) sind in Abb. 5-2. und Tab. A-2. dargestellt.

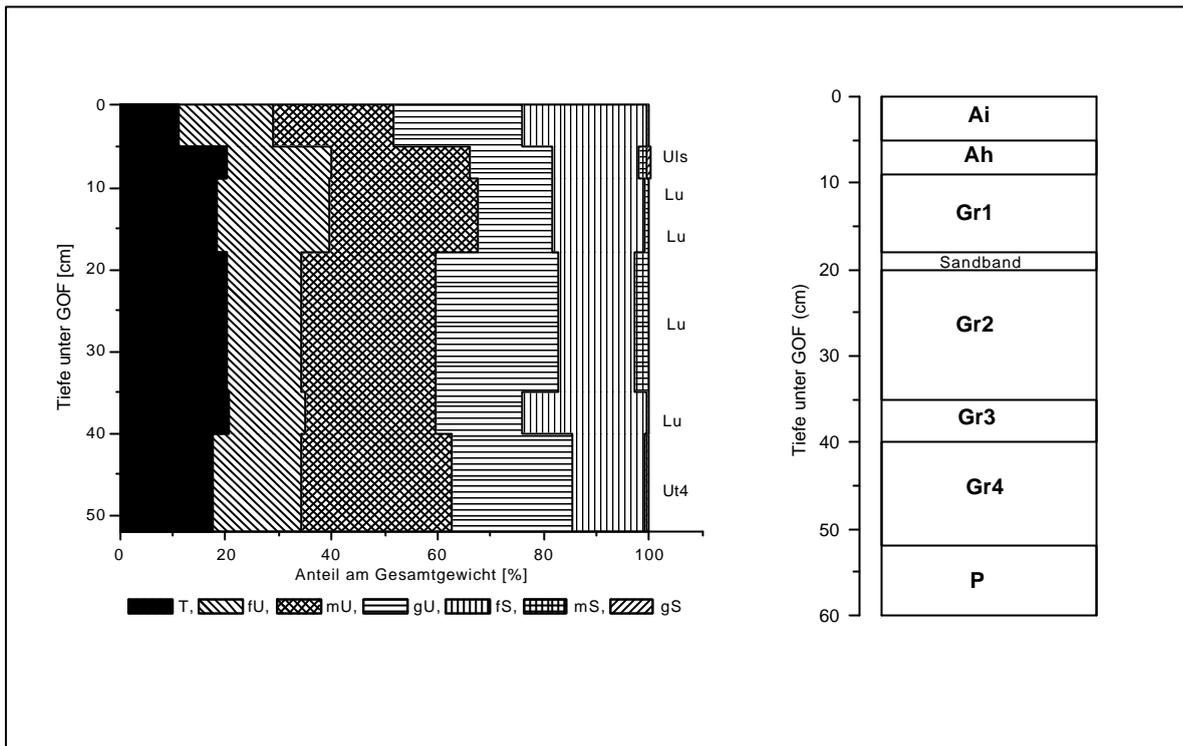


Abbildung 5-2.: Korngrößenverteilung des *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley)

Die **Porengrößenverteilung** und die **effektive Lagerungsdichte** zeigten direkte Zusammenhänge zwischen den unterschiedlichen Substratzusammensetzungen der einzelnen Horizonte. Der Ai-Horizont hob sich in Porengrößenverteilung und Lagerungsdichte deutlich von den anderen Horizonten ab. Das Gesamtporenvolumen war hier mit Abstand am größten (65,5 %), die Lagerungsdichte mit $1,0 \text{ g cm}^{-3}$ am geringsten (Abb. 5-3., 5-4.). Insbesondere der Kontrast zum Ah-Horizont ist prägnant. Dieser wies mit 55,5 % das geringste Gesamtporenvolumen auf und besaß gleichzeitig die größte Lagerungsdichte ($1,4 \text{ g cm}^{-3}$) des Profils. Der Anteil der Mittelporen hatte sich im Vergleich zu den oberen 5 cm (31,1 %) mehr als halbiert und betrug im Ah-Horizont (5-9 cm) nur noch 14,9 %. Innerhalb des Gr-Horizontes (9-52 cm) änderten sich Gesamtporenvolumen und Lagerungsdichte mit zunehmender Tiefe kaum. Die Anteile an engen und weiten Grobporen nahmen deutlich ab, wodurch der Anteil an Mittelporen signifikant wuchs.

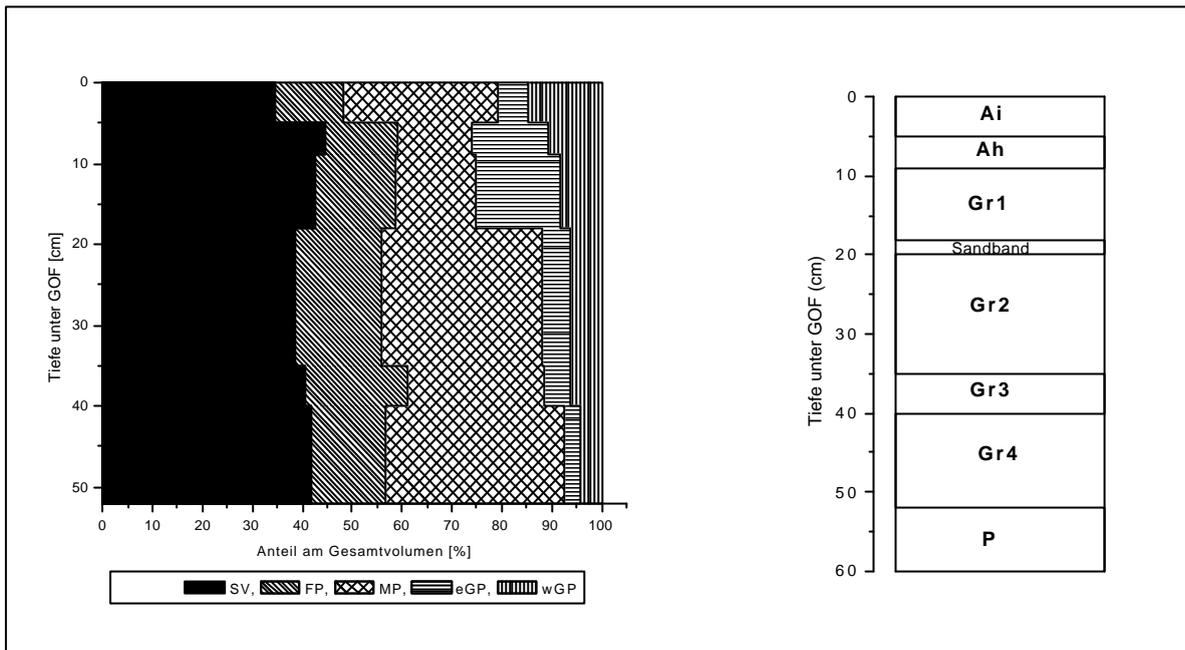


Abbildung 5-3.: Porengrößenverteilung des *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley); Volumenprozent des Substanzvolumens (SV), der Feinporen (FP), Mittelporen (MP), engen Grobporen (eGP) und der weiten Grobporen (wGP)

Gleichzeitig jedoch verringerte sich auch der Anteil an Feinporen. Das Gesamtporenvolumen im Gr-Horizont betrug zwischen 57,4 % und 61,4 %. Der Bereich zwischen 18 und 35 cm hob sich gegen den Rest des Gr-Horizontes ab: Substanzvolumen (38,6 %) und Lagerungsdichte ($1,2 \text{ g cm}^{-3}$) waren hier deutlich geringer als im übrigen Gr-Horizont.

5.1.3 Bodenchemische Eigenschaften

Die **pH-Werte** zeigten im Tiefenverlauf keine signifikanten Unterschiede. Im gesamten Profil schwankten sie zwischen pH 6,4 (Gr-Horizont, 35 bis 40 cm) und pH 6,7 (Ah-Horizont, 5 bis 9 cm; Abb. 5-5.). Mit zunehmender Tiefe nahm der pH-Wert zwar geringfügig ab, die Bodenreaktion jedoch war insgesamt schwach sauer.

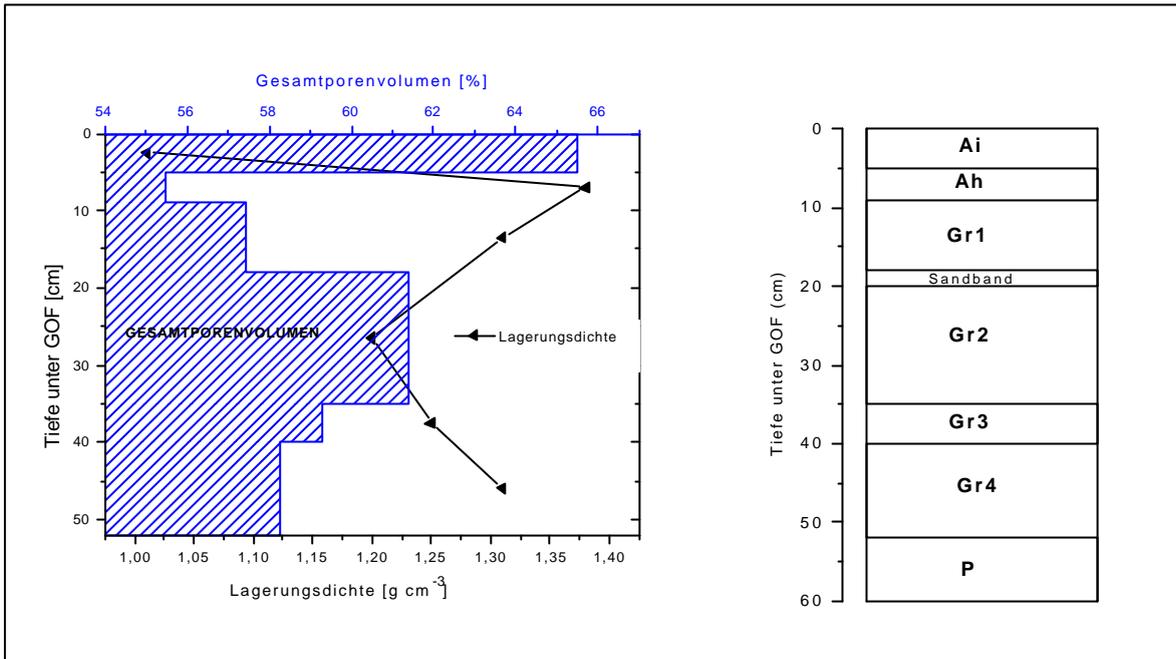


Abbildung 5-4.: Lagerungsdichte und Gesamtporenvolumen im *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley)

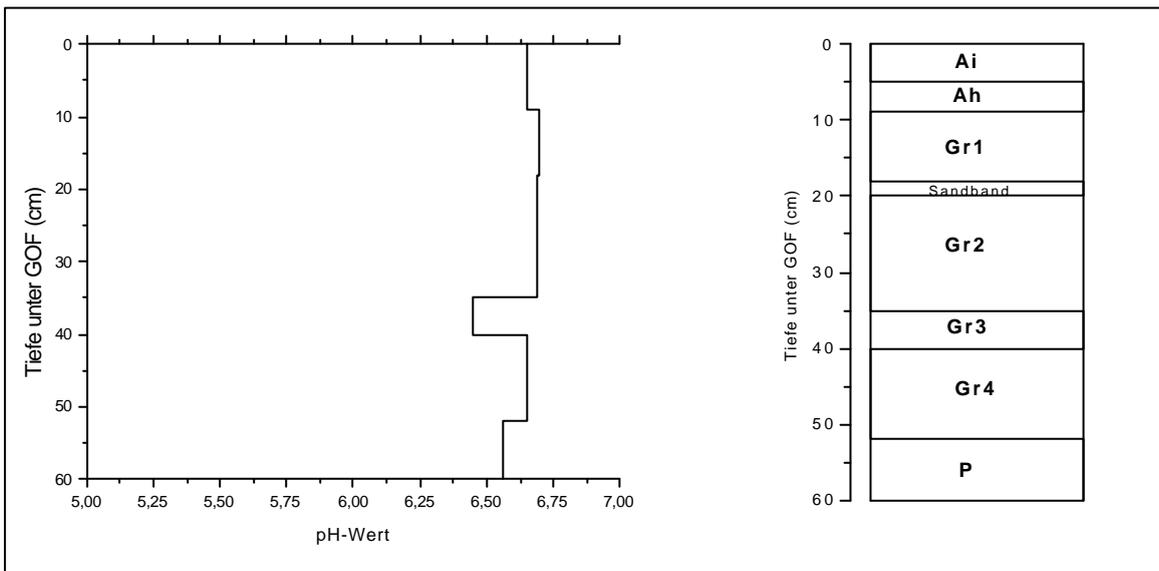


Abbildung 5-5.: pH-Werte im *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley)

Die höchsten Gehalte an **organischem Kohlenstoff** im *Typic Aquorthel* wurden mit 3,0 % in den obersten 5 cm Boden ermittelt, während die niedrigsten Gehalte an organischem Kohlenstoff mit 0,8 % im Permafrostbereich (>52 cm) gemessen wurden (Abb. 5-6.). Im Vergleich zum Ai-Horizont (0 bis 5 cm) verringerte sich der C_{org}-Anteil im angrenzenden Ah-Horizont (5 bis 9 cm) auf etwas mehr als ein Drittel, um dann in den Gr-Horizonten wieder deutlich anzusteigen.

Durch Multiplikation mit dem Faktor 1,72 wurde der Humusgehalt der einzelnen Horizonte ermittelt. Danach wurde der Ah-Horizont als schwach humos bezeichnet, während der Ai-Horizont als stark humos klassifiziert wurde. Der Bereich von 18 bis 40 cm Tiefe wurde ebenfalls als stark humos klassifiziert. Mit zunehmender Tiefe nahm der Humusgehalt wieder ab (Abb. 5-6.).

Der Gehalt an **gelöstem organischen Kohlenstoff (DOC)** lag im gesamten Profil unter 10 mg l⁻¹ (Abb. 5-7.). Wie schon der C_{org}-Anteil und damit der Humusgehalt, war auch der DOC-Gehalt im Ah-Horizont (3,8 mg l⁻¹) deutlich geringer als im Ai-Horizont (4,5 mg l⁻¹). Am größten war der Anteil an gelöstem organischen Kohlenstoff im Gr3-Horizont (35 bis 40 cm). Hier betrug er 7,8 mg l⁻¹, während er im Gr1-Horizont mit 2,7 mg l⁻¹ am geringsten war.

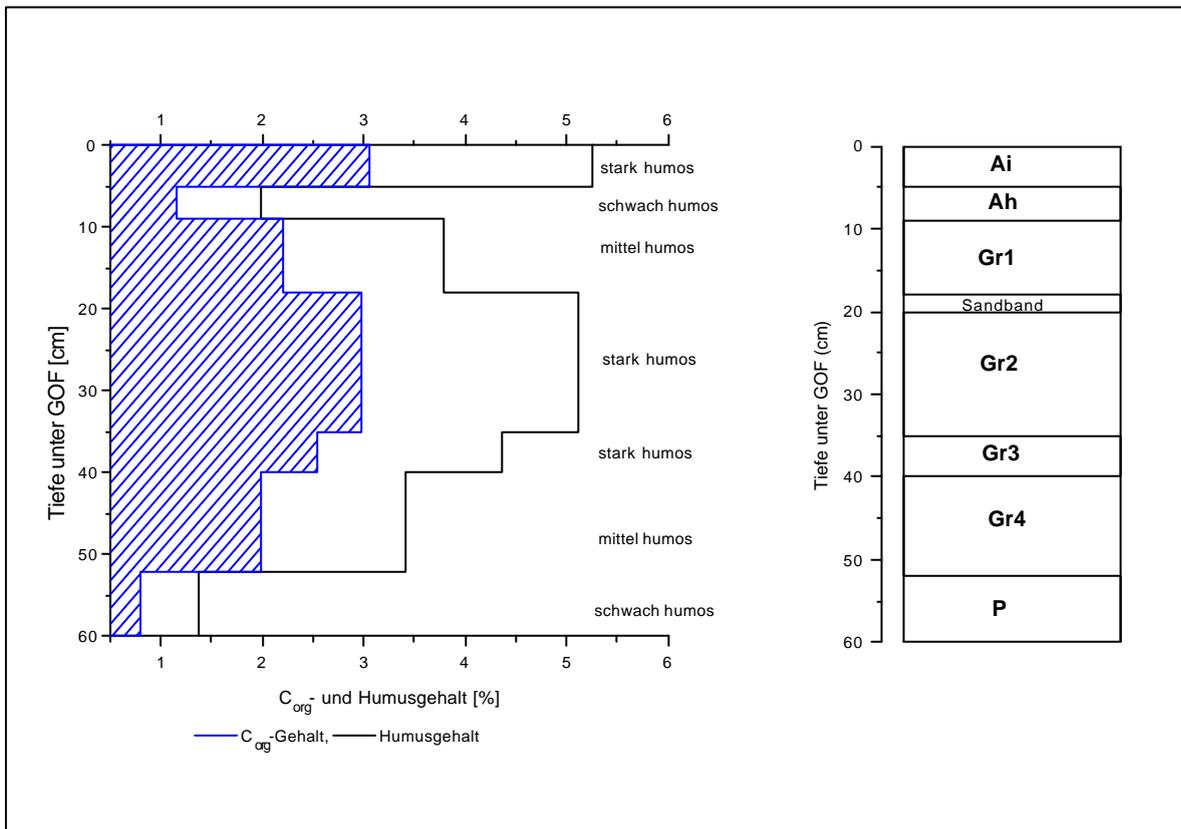


Abbildung 56.: Gehalte an organischem Kohlenstoff sowie Humusgehalt (Humusgehalt = C_{org} * 1,72) im *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley)

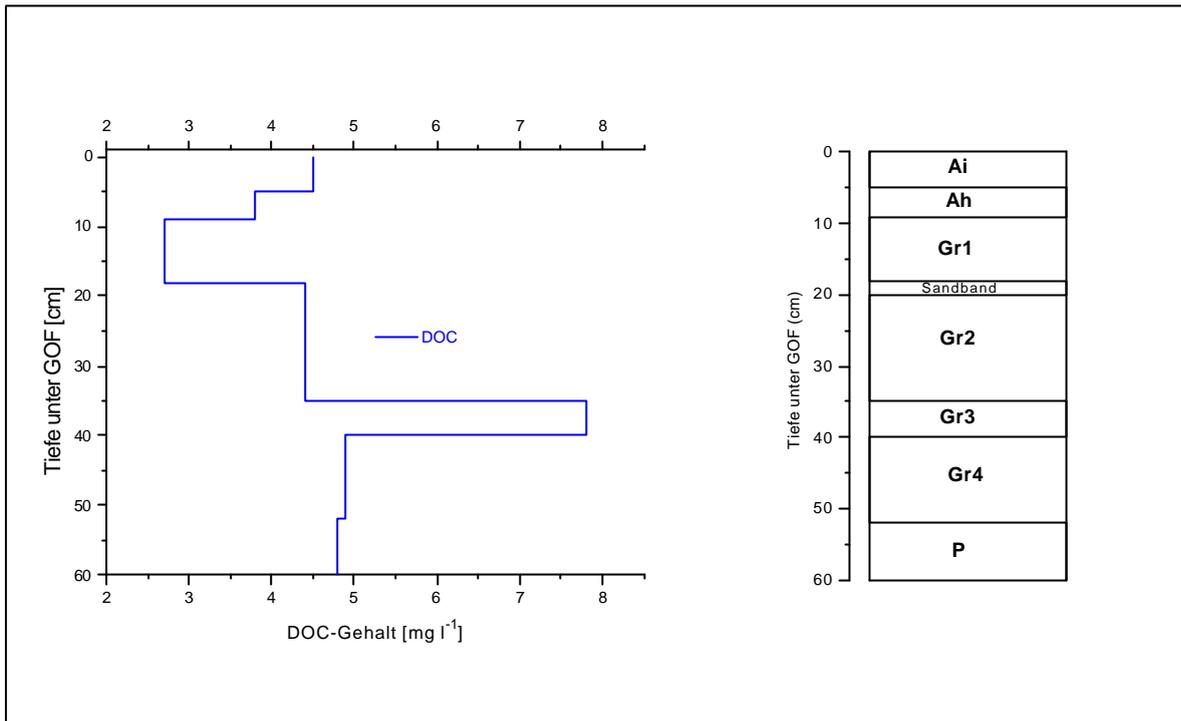


Abbildung 5-7.: Gehalt an gelöstem organischen Kohlenstoff (DOC) im *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley); bezogen auf mg l⁻¹ Bodenlösung,

Der **Gesamtkohlenstoffgehalt (C_{ges}-Gehalt)** ist fast identisch zum C_{org}-Gehalt; er wich maximal um ± 0,06 % vom C_{org}-Gehalt ab. Auf kaum vorhandenen anorganischen Kohlenstoff im *Typic Aquorthel* hatte bereits die Bodenansprache im Feld hingedeutet.

Die **Stickstoffgesamtgehalte (N_{ges} – Gehalte)** nahmen im *Typic Aquorthel* mit zunehmender Tiefe ab (Abb. 5-8.). Den höchsten Stickstoffgehalt besaß der Ai-Horizont mit 0,2 %, den geringsten der P-Horizont mit 0,08 %. Das **C/N-Verhältnis** war im gesamten Profil sehr eng (Abb. 5-8.).

Das günstigste C/N-Verhältnis wiesen dabei der Ah- (10,5) und der P-Horizont (9,1) auf. In den Gr-Horizonten sowie im Ai-Horizont, in denen es zwischen 13,2 und 15,4 variierte, war das C/N-Verhältnis deutlich höher.

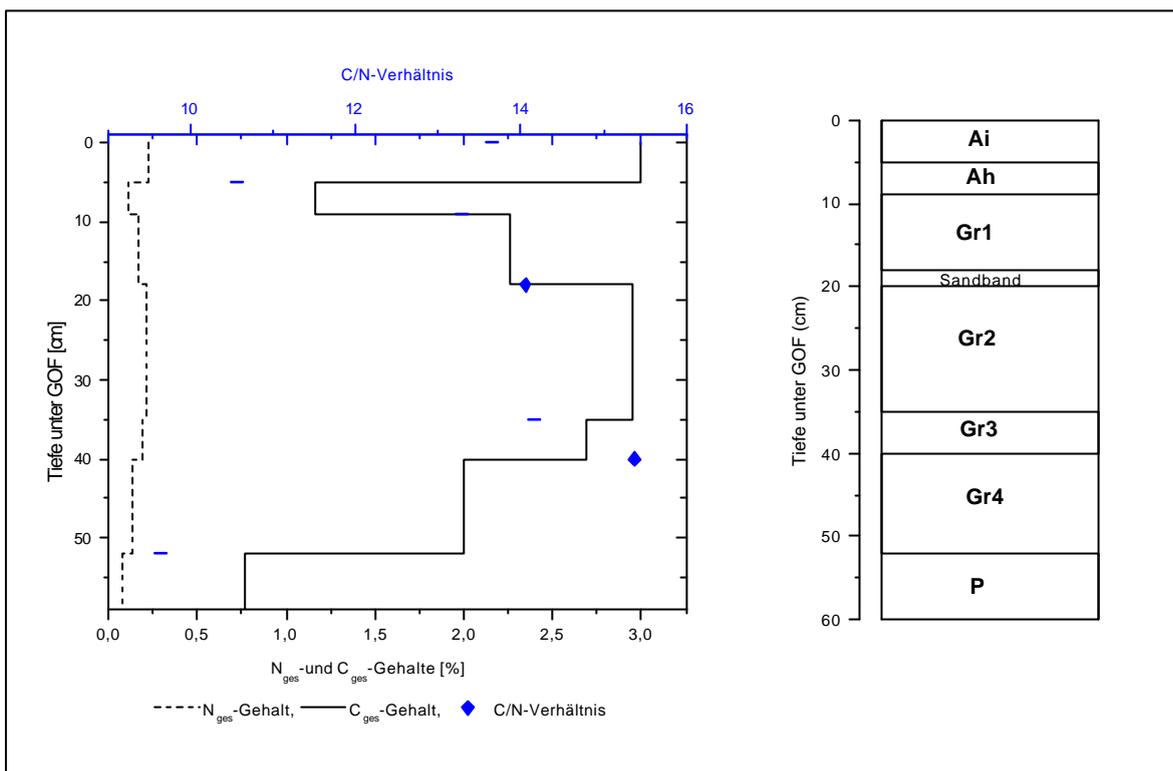


Abbildung 5-8.: Kohlenstoff- und Stickstoff – Gesamtgehalte sowie C/N-Verhältnis im *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley)

5.2 Zellzahlen der Methan oxidierenden Bakterien im *Typic Aquorthel*

Die höchsten Zellzahlen im *Typic Aquorthel* wurden für den Gr-Horizont in einer Tiefe von 18 bis 35 cm ermittelt und betragen $7500 \text{ Zellen g}^{-1}$ Boden. Anhand der MPN - Methode konnten im gesamten Profil Zellen von Methan oxidierenden Bakterien nachgewiesen werden, deren Anzahl im Tiefenprofil jedoch stark variierte. Die Zellzahl im obersten Horizont, dem Ai-Horizont, war mit $4300 \text{ Zellen g}^{-1}$ Boden fast doppelt so hoch wie im darunter gelegenen Ah-Horizont (5 bis 9 cm) mit $2300 \text{ Zellen g}^{-1}$ Boden. Gleichzeitig konnten im Ai-Horizont jedoch nur etwas mehr als halb so viele Zellen ermittelt werden wie im Gr-Horizont bei einer Tiefe von 18 bis 35 cm. Unterhalb 35 cm nahmen die Zellzahlen drastisch ab. Im Permafrostbereich ($< 52 \text{ cm}$) konnten mit $230 \text{ Zellen g}^{-1}$ Boden im Bezug zu den höchsten Zellzahlen im Gr-Horizont nur noch weniger als $\frac{1}{30}$ Methan oxidierende Zellen bestimmt werden.

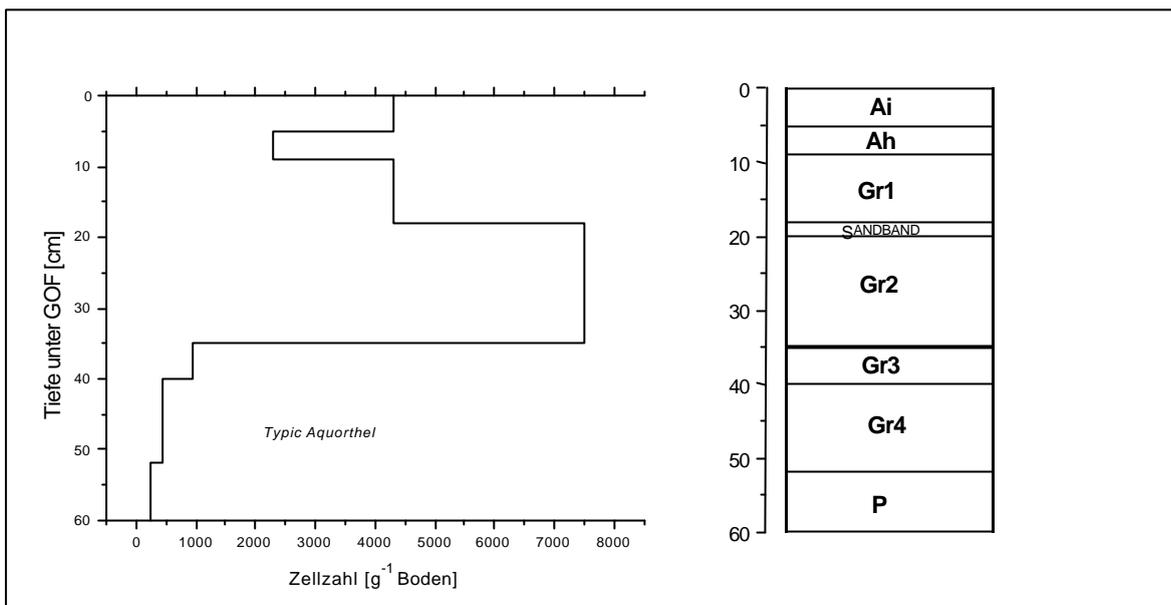


Abbildung 5-9.: Zellzahlen der Methan oxidierenden Bakterien im *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley)

5.3 Einfluss der Temperatur auf die Methanoxidationsaktivität

Die potentielle Methanoxidationsaktivität in Abhängigkeit von der Temperatur wurde an wassergesättigten Bodenproben des *Typic Aquorthel* gemessen, die als Standkultur bei 0 °C, 4 °C, 10 °C und 21 °C inkubiert wurden (Kap. 4.4.2.1). Die höchsten potenziellen Oxidationsleistungen zeigten der Ai-Horizont (0 bis 5 cm) bei 21 °C und ab einer Tiefe von 40 cm unter GOF die Gr-Horizonte bzw. der P-Horizont bei 4 °C (Abb. 5-10.). Bei einer Temperatur von 0 °C war die potentielle Methanoxidationsleistung im Tiefenprofil indifferent. Sie lag zwischen 9,4 und 14,6 nmol h⁻¹ g⁻¹. Bei 4 °C ließ sich eindeutig ein Anstieg der Methanoxidationsaktivität mit zunehmender Tiefe nachweisen. In 40 cm Bodentiefe, dem Übergangsbereich zum Permafrost, der durch konstant niedrige *in-situ* Temperaturen charakterisiert ist (Abb. 5-15. und 5-16.), war die potentielle Methanoxidationsaktivität bei 4 °C mehr als 2,5 mal so hoch wie im Ai- bzw. Ah-Horizont (0 bis 9 cm). Bei einer Inkubationstemperatur von 21 °C verhielten sich die Oxidationsaktivitäten im Tiefenprofil im Vergleich zu den Messungen bei 4 °C nahezu entgegengesetzt. Im Ai-Horizont, in dem die *in-situ* Temperaturen um mehr als 10 °C höher sind als in 40 cm Bodentiefe (Abb. 5-15. und 5-16.), war die Aktivität etwa dreimal so hoch wie im Gr- bzw. P-Horizont.

Auffällig am Kurvenverlauf der Methanoxidationsaktivität bei 21 °C ist der sprunghafte Abfall der Abbauleistung beim Übergang vom Ai- (45,6 nmol h⁻¹ g⁻¹) zum Ah-Horizont (17,5 nmol h⁻¹ g⁻¹). Der Kurvenverlauf bei 10 °C spiegelte den Übergangsbereich zwischen den beiden Extrema bei 21 °C bzw. 4 °C wieder. Die Oxidationsaktivitäten der oberen und untersten Horizonte hatten sich bei 10 °C angenähert und lagen zwischen 20 nmol h⁻¹ g⁻¹ (>52 cm) und 27,7 nmol h⁻¹ g⁻¹ (0 bis 5 cm).

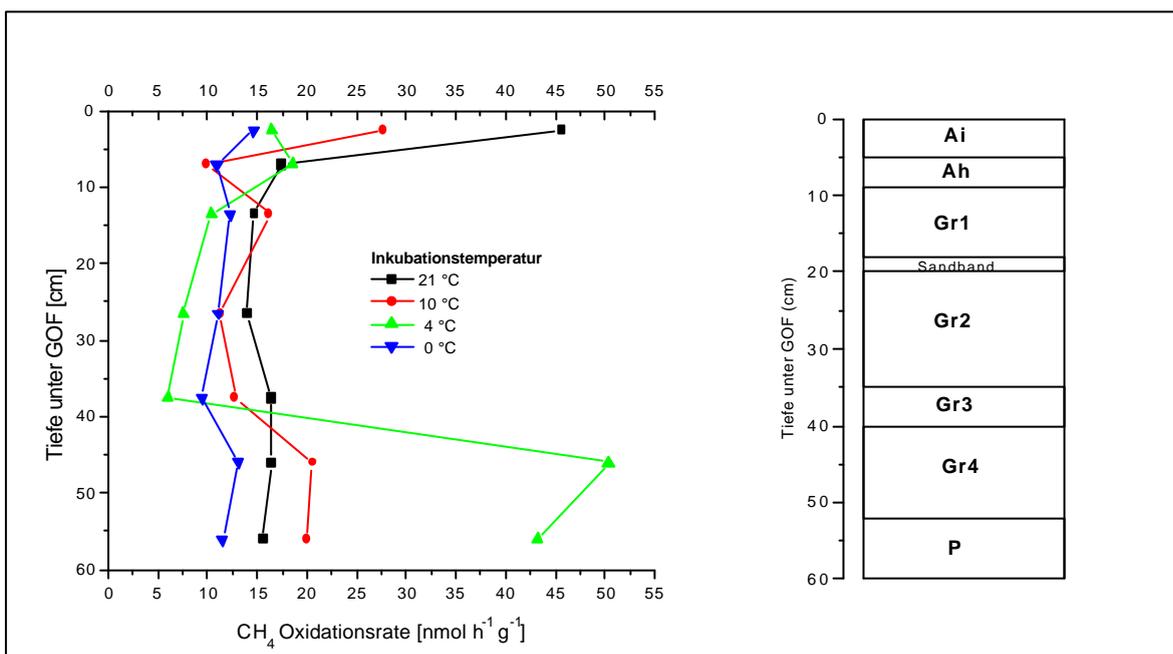


Abbildung 5-10.: Potentielle Methanoxidationsaktivität im *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley) bei 0 °C, 4 °C, 10 °C und 21 °C

Trägt man die Methanoxidationsaktivitäten der Horizonte bei den unterschiedlichen Inkubationstemperaturen auf, zeigt sich im Gr4-Horizont (40 bis 52 cm) und im P-Horizont (> 52 cm) ganz deutlich eine maximale potentielle Methanoxidationsaktivität bei 4 °C (Abb. 5-11.). Im Gegensatz dazu nahm die Methanoxidationsaktivität im Ai-Horizont (0 bis 5 cm) proportional zum Temperaturanstieg zu und erreichte auch bei 21 °C noch nicht ihr Maximum. Auffällig war der Kurvenverlauf für den Ah-Horizont (5 bis 9 cm). Er ließ auf mehr als ein Temperaturoptimum schließen, wobei eines bei 4 °C und ein weiteres jenseits von 21 °C lag. Die Horizonte Gr1, Gr2 und Gr3 (9 bis 40 cm) zeigten eine maximale Methanoxidationsaktivität bei 10 °C.

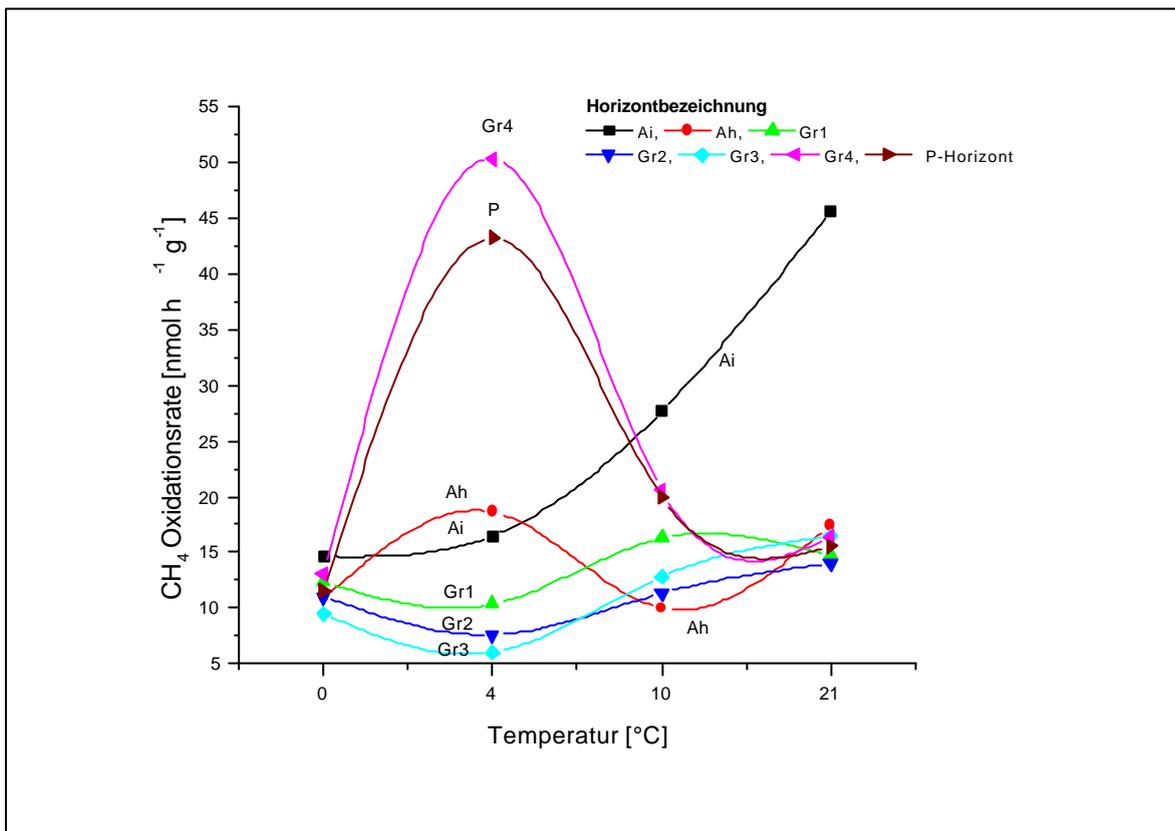


Abbildung 5-11.: Potentielle Methanoxidationsaktivität im *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley), Vergleich der Horizonte bei 0 °C, 4 °C, 10 °C und 21 °C

5.4 Einfluss des Substrates auf die Methanoxidationsaktivität

Die potentielle Methanoxidationsaktivität in Abhängigkeit vom Substrat wurde ebenfalls an wassergesättigten Bodenproben des *Typic Aquorthel* durchgeführt. Die Ausgangskonzentrationen von Methan betragen 1000 ppm, 2000 ppm, 5000 ppm und 21000 ppm, jedoch wurden die Proben zwischen den Messungen im Gegensatz zur Messreihe bei unterschiedlichen Temperaturen ständig geschüttelt (Kap. 4.4.2.2).

Bei einer Ausgangskonzentration an Methan von 1000 ppm (0,1 % CH₄) bzw. 2000 ppm (0,2 % CH₄) verhielt sich die Methanoxidationsaktivität im Tiefenprofil indifferent. Sie unterschied sich zwischen den einzelnen Horizonten kaum (Abb. 5-12.). Insgesamt betrachtet, lag die Aktivität bei einer Methankonzentration von 2000 ppm (105,2 – 132,6 nmol h⁻¹ g⁻¹) höher als bei einer Konzentration von 1000 ppm. (68,5 – 85,6 nmol h⁻¹ g⁻¹). Eine Erhöhung der Methanausgangskonzentration

auf 5000 ppm (0,5 % CH₄) führte mit Ausnahme des Bereiches von 18 bis 30 cm, wo die Aktivität nur von 105,2 auf 126,1 nmol h⁻¹ g⁻¹ anstieg, im gesamten Profil zu einem Anstieg der Methanoxidationsaktivität um mehr als das Doppelte. Zusammenfassend nahm demnach bei einer Erhöhung der eingesetzten Methankonzentration von 1000 ppm über 2000 ppm auf 5000 ppm auch die Methanoxidationsaktivität in allen Horizonten des *Typic Aquorthel* zu (Abb. 5-12. und 5-13.).

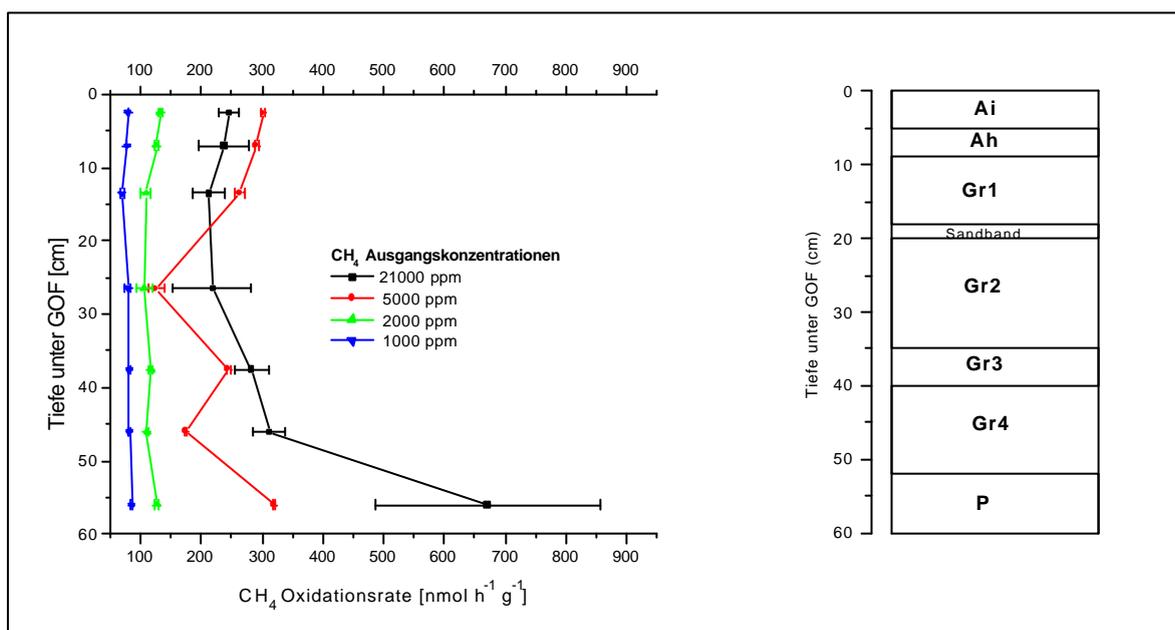


Abbildung 5-12.: Potentielle Methanoxidationsaktivität im *Typic Aquorthel* bei einer MethanAusgangskonzentration von 1000 ppm, 2000 ppm, 5000 ppm und 21000 ppm

Ein davon abweichendes Bild zeigte sich bei einer weiteren Erhöhung der eingesetzten Methankonzentration auf 21000 ppm (2,1 % CH₄). Während die Methanoxidationsaktivität ab einer Tiefe von 18 cm unter GOF weiterhin kontinuierlich anstieg und sich im P-Horizont sogar mehr als verdoppelte, nahm die Aktivität in den oberen Bodenhorizonten (0 bis 18 cm Tiefe), verglichen mit den Raten bei 5000 ppm, wieder ab. Abbildung 5-13. verdeutlicht, dass die maximale Methanoxidationsaktivität des Ai-, Ah- und des Gr1-Horizontes bei einer Methankonzentration >5000 ppm (>0,5 % CH₄), jedoch <10000 ppm (<1 % CH₄) lag. Demgegenüber nahm die Methanoxidationsaktivität im Gr2-, Gr3-, Gr4- und

im P-Horizont mit steigender Methankonzentration kontinuierlich zu (Abb.5-12. und Abb. 5-13.).

Trägt man wie in Abbildung 5-13. die potentielle Methanoxidationsaktivität für die jeweiligen Horizonte bei den unterschiedlichen Methan Ausgangskonzentrationen auf, so ist das Ergebnis für den Ai-, Ah- und den Gr1 – Horizont eine MICHAELIS-MENTEN-KINETIK. Bis zu einer Konzentration von 4000 ppm CH₄ stieg die Methanoxidationsaktivität in diesen Horizonten linear an und näherte sich dann mit einem geringeren Anstieg langsam dem Maximalwert der Oxidationsaktivität. Die K_m-Werte für den Ai- und Ah-Horizont waren fast identisch (57,1 bzw. 59,4 µmol CH₄ l⁻¹), während der K_m-Wert für den Gr1 Horizont deutlich geringer war (42,3 µmol CH₄ l⁻¹).

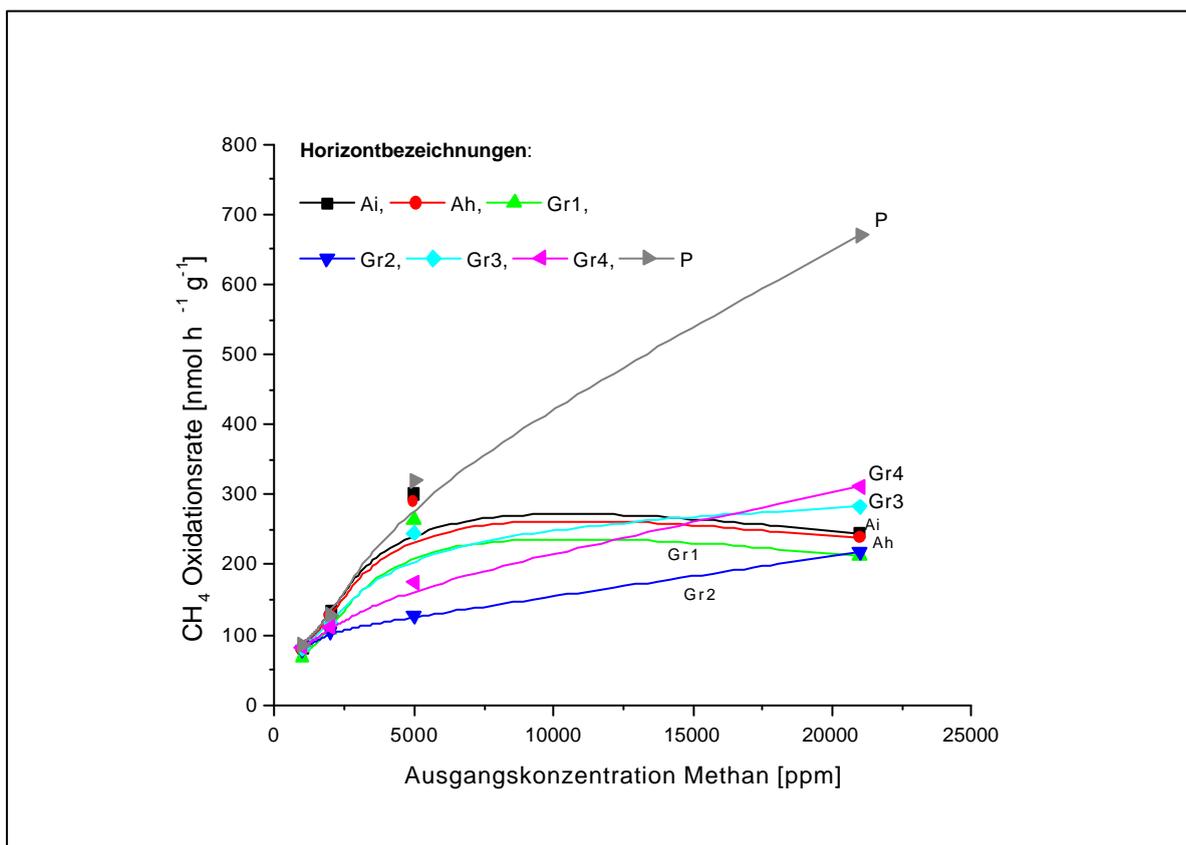


Abbildung 5-13.: Potentielle Methanoxidationsaktivität im *Typic Aquorthel*; Vergleich der Horizonte bei einer Methan Ausgangskonzentration von 1000 ppm, 2000 ppm, 5000 ppm und 21000 ppm

Für die Horizonte Gr2, Gr3, Gr4 sowie für den P-Horizont (18 bis > 52 cm) kann eine MICHAELIS-MENTEN-KINETIK nur angenommen werden, da die maximale Oxidationsaktivität dieser Horizonte bei einer Methan Ausgangskonzentration von

21000 ppm noch nicht erreicht war. Daraus resultiert, dass die oberen Bodenhorizonte (0 bis 18 cm) eine bedeutend höhere Substrataffinität besitzen als die tiefer gelegenen Horizonte (18 bis > 52 cm). Wie in Abbildung 5-14. dargestellt, nahmen die K_m -Werte mit zunehmender Tiefe zu und – davon abgeleitet – wurde die Substrataffinität im Tiefenprofil des *Typic Aquorthel* geringer. Für die Horizonte Gr2, Gr3, Gr4 und den P-Horizont wurden die K_m -Werte für eine Substratkonzentration von 21000 ppm CH_4 berechnet. Da bei dieser Konzentration noch nicht die maximale Oxidationsaktivität erreicht war, muss davon ausgegangen werden, dass die K_m -Werte dieser Horizonte in der Realität noch größer sind.

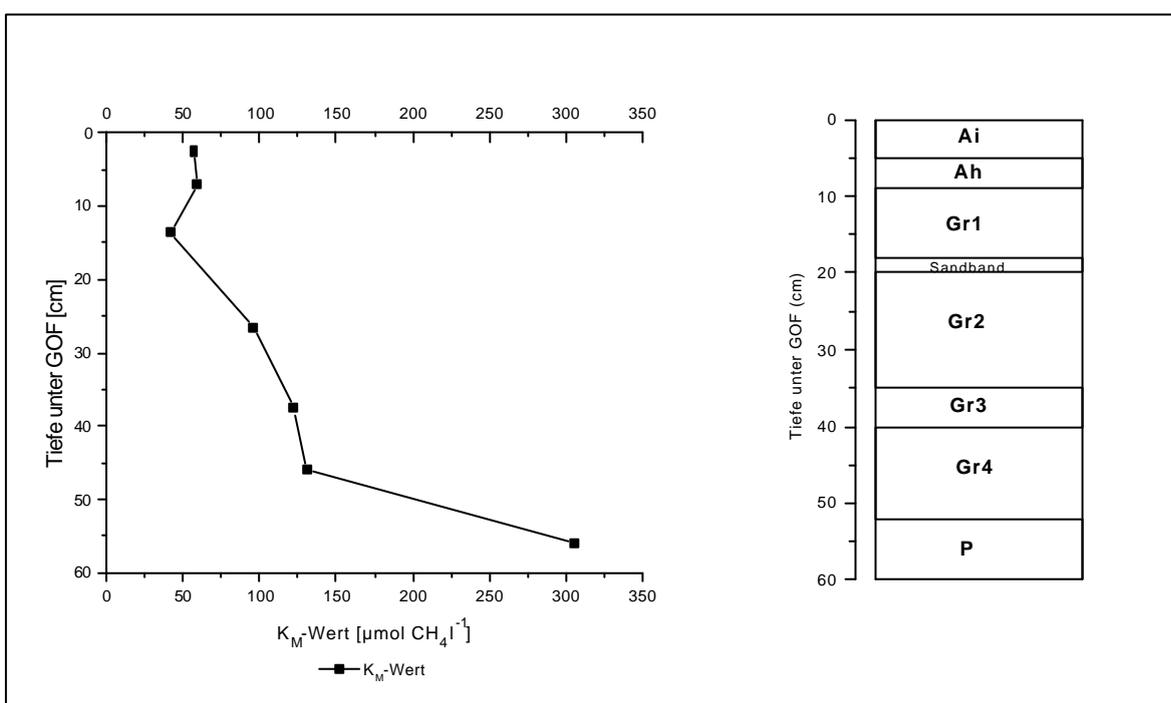


Abbildung 514: K_m -Werte (MICHAELIS-MENTEN-KONSTANTE) für das Tiefenprofil des *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley). Für den Gr2-, Gr3-, Gr4- und P-Horizont (18 bis 60 cm unter GOF) wurden die K_m -Werte für eine Substratkonzentration von 21000 ppm CH_4 berechnet, obwohl die maximale Methanoxidationsaktivität dieser Horizonte erst bei einer höheren Substratkonzentration erreicht wird. Somit liegen die realen K_m -Werte dieser Horizonte auch höher als in der Abbildung.

5.5 Methanoxidations- und Methanbildungsaktivität im *Typic Aquorthel* unter *in-situ*-Bedingungen

Die Messungen der **Methanoxidationsaktivitäten unter *in-situ*-Bedingungen** erfolgten ohne Vorinkubation bei *in-situ* Temperaturen und *in-situ*

Methangehalten im Tiefenprofil des *Typic Aquorthel*. Die Temperaturen im *Typic Aquorthel* nahmen mit der Tiefe von 17,5 auf 1,9 °C ab (Abb. 5-15. und 5-16.), die Methangehalte nahmen mit zunehmender Tiefe von 0,3 auf 344,8 $\mu\text{mol l}^{-1}$ zu (Abb. 5-17.).

Die Ergebnisse der Oxidationsaktivitäten unter *in-situ*-Bedingungen ergaben ein Bild, das von den potentiellen Methanoxidationsaktivitäten, die im Labor bestimmt wurden, abwich (Abb. 5-15.).

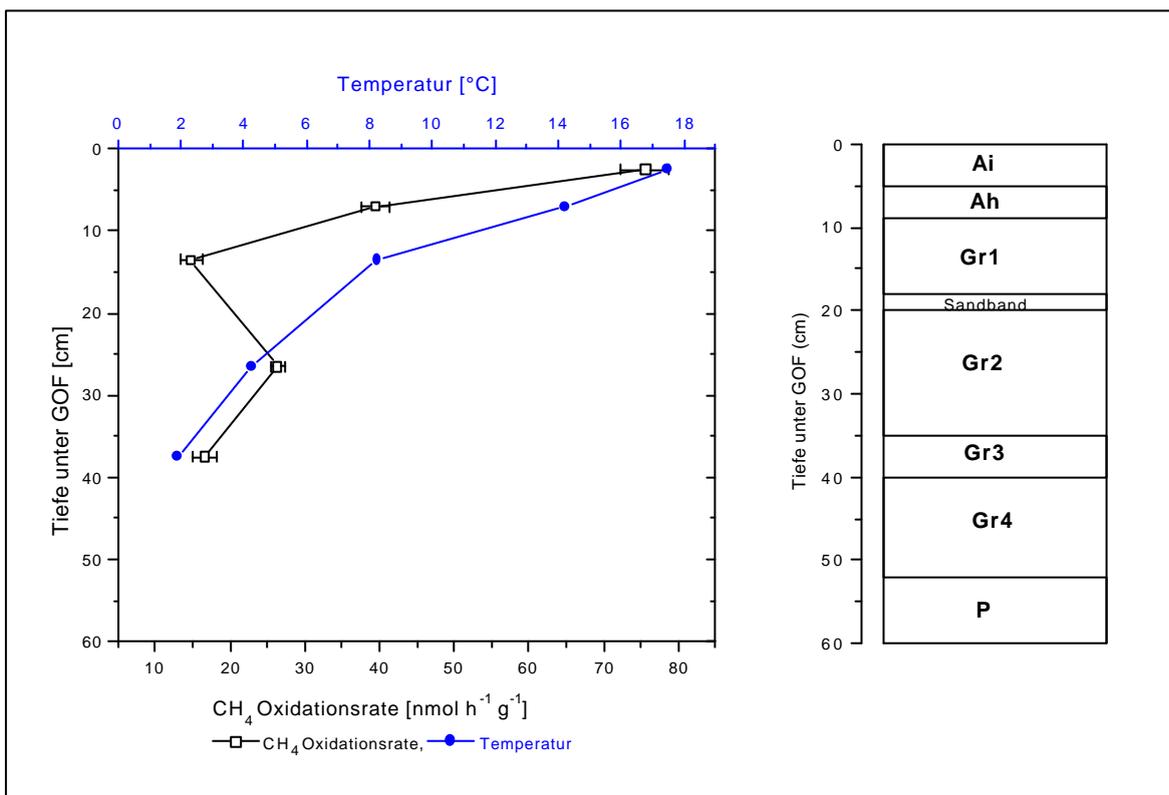


Abbildung 5-15.: Methanoxidationsaktivität unter *in-situ*-Bedingungen bei *in-situ* Temperaturen im Tiefenprofil des *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley); Ausgangskonzentration an Methan: 2000 ppm (Start der Messung: 22.07.02)

Die Methanoxidationsaktivität unter *in-situ*-Bedingungen konnte nur bis zu einer Tiefe von 40 cm, also nicht für den Gr- und den P-Horizont nachgewiesen werden. Mit zunehmender Tiefe und sinkender Bodentemperatur nahm die Methanoxidationsaktivität unter *in-situ*-Bedingungen fast kontinuierlich auf weniger als ein Viertel ab. Während sie bei 0 bis 5 cm $75,6 \pm 3,2 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ betrug, lag sie bei 35 bis 40 cm Tiefe nur noch bei $16,6 \pm 1,7 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$. Die kontinuierliche Abnahme der Methanoxidationsaktivität wurde lediglich bei einer Tiefe von 9 bis 18 cm unterbrochen, wo sie mit $14,7 \pm 1,4 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ den niedrigsten Wert erreichte.

Die **Methanbildungsaktivität unter *in-situ*-Bedingungen** wurde ebenfalls bei *in-situ* Temperaturen gemessen. Sie erreichte ihre höchsten Werte im Gr1-, Gr2- und Gr3-Horizont (Abb. 5-16.). Mit Werten zwischen 30 und 40 nmol h⁻¹ g⁻¹ lag sie in diesem Bereich deutlich über der Oxidationsaktivität. Im Ai- und Ah-Horizont dagegen, in denen die höchsten Oxidationsaktivitäten gemessen wurden, fand nahezu keine Methanbildung statt (Abb. 5-16.).

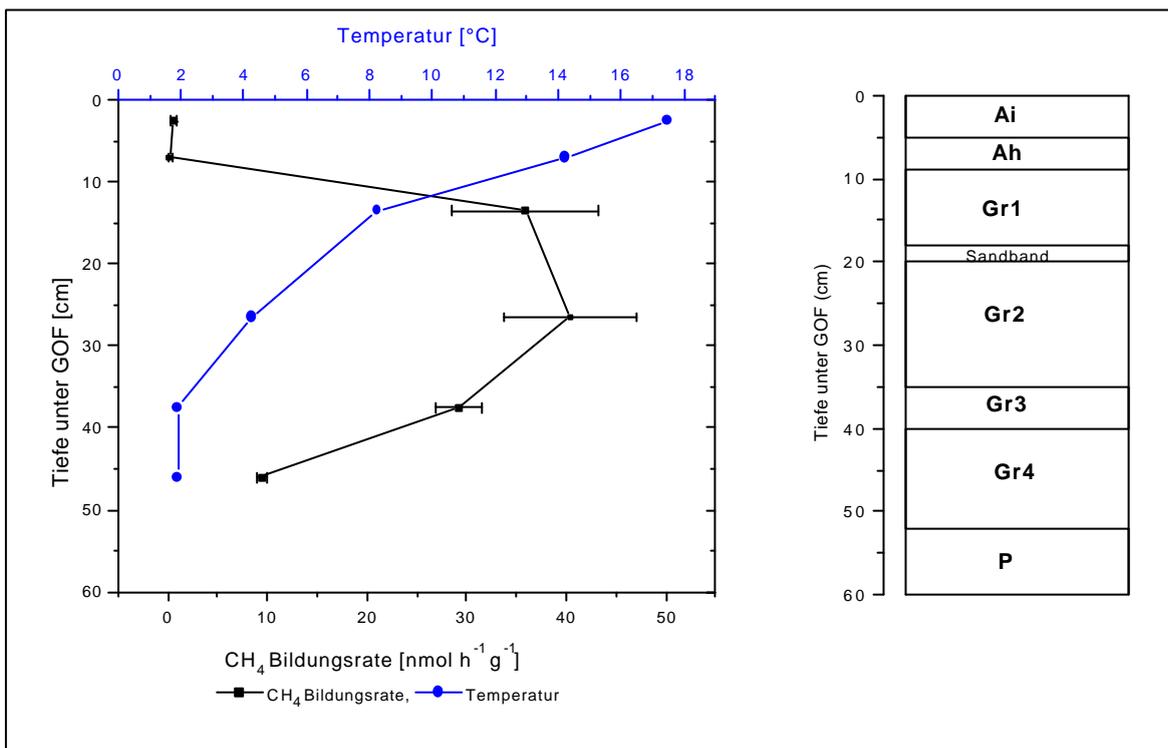


Abbildung 5-16.: Methanbildungsaktivitäten unter *in-situ*-Bedingungen bei *in-situ* Temperaturen im Tiefenprofil des *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley); Ausgangskonzentration an Methan: 0 ppm (Start der Messung: 22.07.02)

Abbildung 5-17. zeigt die *in-situ*-Methankonzentrationsgradienten im *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley) und im *Typic Historthel* (Tundra-Moorgley, Polygonzentrum). Im *Typic Aquorthel* ist die Methankonzentration bis zum Gr3-Horizont (35 cm Tiefe) sehr gering, steigt darunter jedoch signifikant an. Im *Typic Historthel* nimmt die Methankonzentration bereits ab dem Gr-Aa-Horizont (15 cm Tiefe) deutlich zu und ist insgesamt höher als im *Typic Aquorthel*.

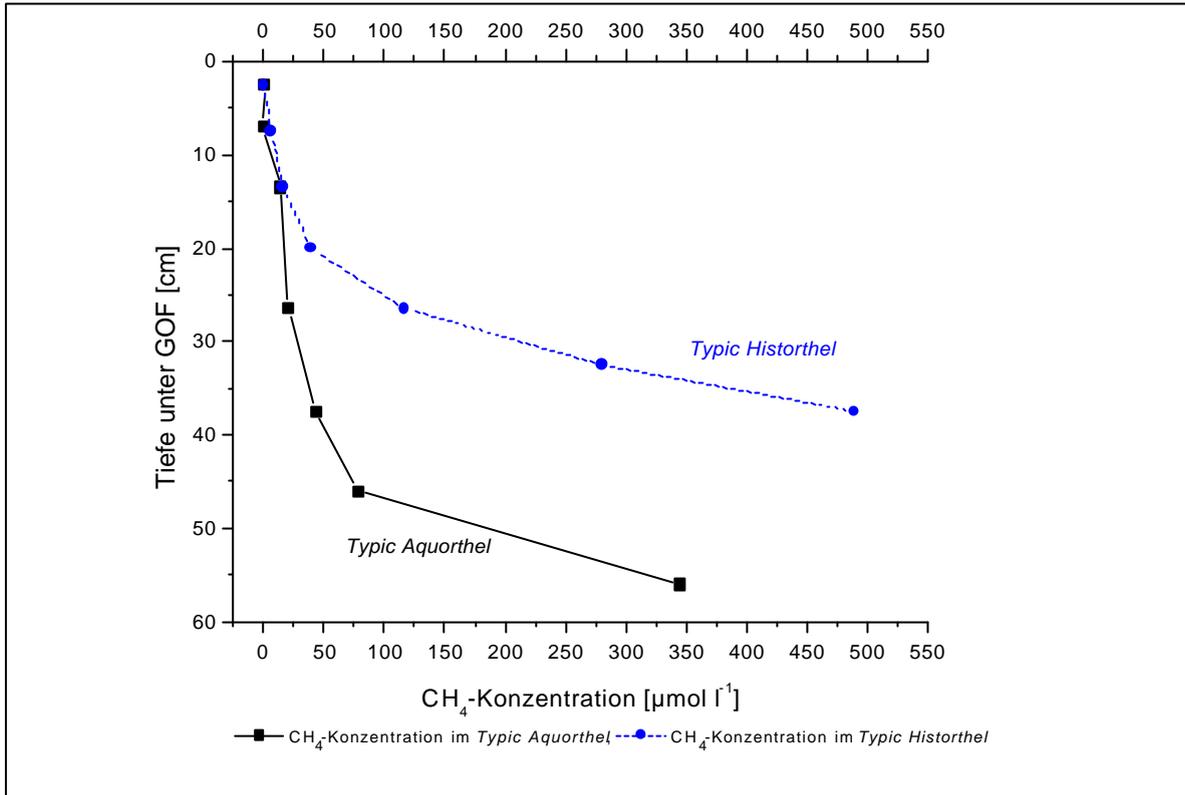


Abbildung 5-17.: *in-situ* Methankonzentration im *Typic Aquorthel* (Messung: Juli 2002) und im *Typic Historthel* (Messung: Juli 1999)

5.6 Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien

Die Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien im Tiefenprofil wurde sowohl für den Permafrost-Auengley (*Typic Aquorthel*) als auch für den Tundra-Moorgley (*Typic Historthel*) anhand von Anreicherungskulturen und feldfrischen Bodenproben nur qualitativ bestimmt. Eine Zählung der Zellen mit Hilfe der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung und damit eine quantitative Bestimmung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien konnte aus zeitlichen Gründen nicht durchgeführt werden. Es wurden verschiedene Methanoxidantensonden sowie ein Eubakteriensondenmix eingesetzt (Kap.4.5.1).

5.6.1 Anreicherungskulturen und Bodenproben des Permafrost-Auengleys (*Typic Aquorthel*)

Methan oxidierende Bakterien konnten für das gesamte Profil des *Typic Aquorthel*, einschließlich des Permafrostbereiches, nachgewiesen werden (Tab. 5-2., Abb. 5-18.). Typ I Methan oxidierende Bakterien konnten in den **feldfrischen Bodenproben** mit Ausnahme des Permafrostbereiches in allen Horizonten detektiert werden. Typ II Methan oxidierende Bakterien wurden nur im Unterboden, nicht jedoch im Oberboden und für den Permafrosthorizont nachgewiesen.

Tabelle 5-2.: Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien im Profil des *Typic Aquorthel*; Gegenüberstellung von Anreicherungskulturen und feldfrischen Bodenproben des *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley)

Anreicherungskulturen				feldfrischer Boden		
Tiefe unter GOF (cm)	Typ I	Typ II	Bemerkungen	Typ I	Typ II	Bemerkungen
0-5	+	-		+	-	DAPI-Färbung sehr schwach
5-9	+	-		+	-	
9-18	+	-		+	-	
18-35	+	+	Typ I: sehr kleine Coccen Typ II: Stäbchen	-	+	
35-40	+	+		+	-	
40-52	+	++	Typ I: Coccen Typ II Stäbchen	+	+	DAPI-Färbung sehr schwach
>52	+	-		-	-	keine MOB mit FISH nachgewiesen

Anhand der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung an **Anreicherungskulturen** der Horizonte des *Typic Aquorthel* konnte das Verbreitungsmuster Methan oxidierender Bakterien in den Proben des feldfrischen Bodens weitestgehend bestätigt und konkretisiert werden. Auch in den Anreicherungskulturen konnten Typ II Methan oxidierende Bakterien erst ab einer Tiefe von 18 cm detektiert werden. Im Vergleich zu den feldfrischen Bodenproben jedoch, in denen Typ II

Methan oxidierende Bakterien zwischen 35 und 40 cm nicht nachgewiesen werden konnten, wurden sie in den Anreicherungskulturen zwischen 18 und 52 cm durchgehend detektiert.

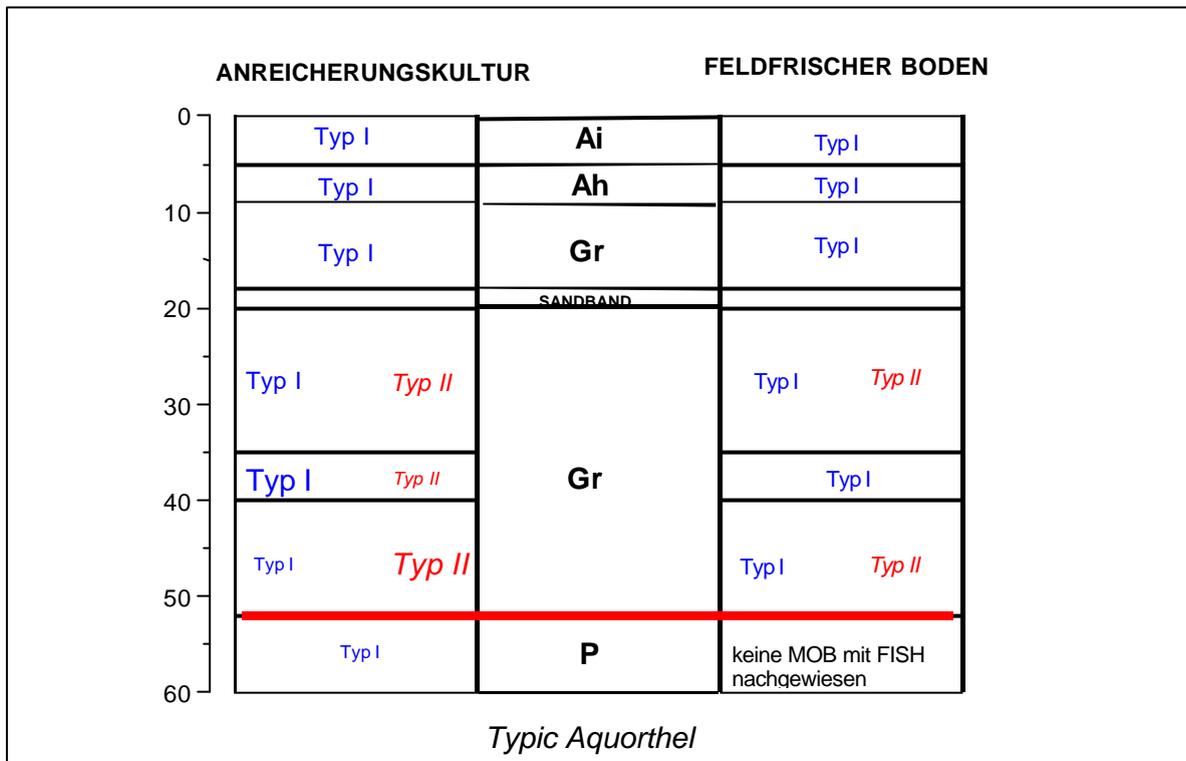
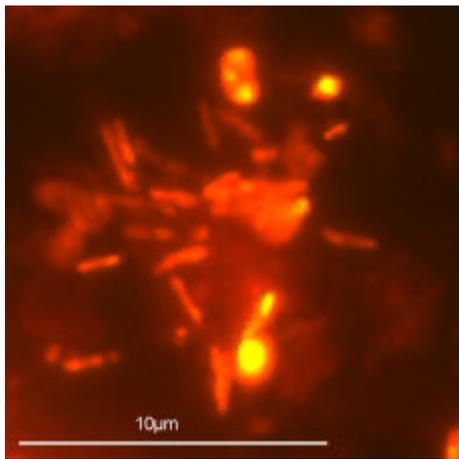
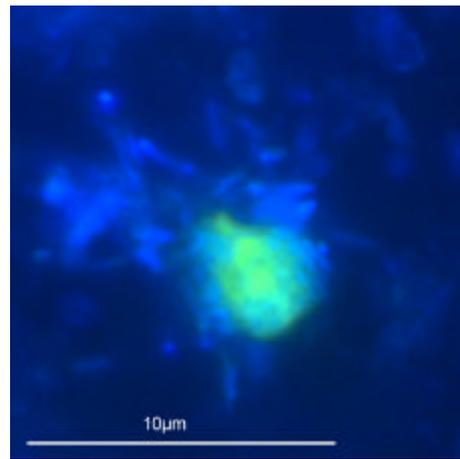


Abbildung 518: Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien im *Typic Aquorthel*; Gegenüberstellung von Anreicherungskulturen und feldfrischen Boden (schematisiert im Tiefenprofil des *Typic Aquorthel*)

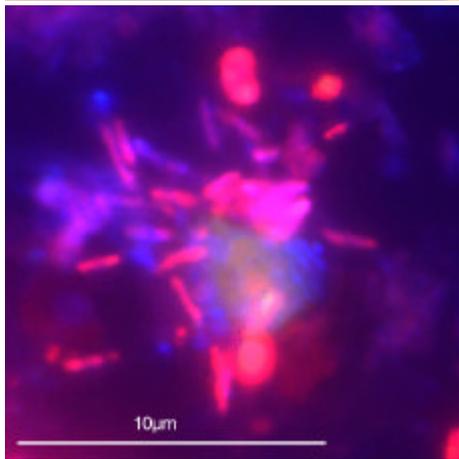
Weiterhin gestattete die Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung an Anreicherungskulturen Aussagen über die Morphologie der Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien im *Typic Aquorthel*. Während die Typ I Methan oxidierenden Bakterien als sehr kleine Coccen identifiziert werden konnten (Abb. 5-20. und 5-21.), waren die Typ II Methan oxidierenden Bakterien stäbchenförmig (Abb. 5-19.). Wenngleich Zellzahlen mittels FISH nicht bestimmt wurden, konnte durch einfaches Schätzen beim Mikroskopieren (Zellen im Gesichtsfeld) in den Anreicherungskulturen ein Wechsel in der Dominanz bezogen auf Typ I und Typ II Methan oxidierende Bakterien festgestellt werden. Im Gr3-Horizont (35 bis 40 cm) dominierten Typ I eindeutig über Typ II Methan oxidierende Bakterien. Diese Dominanz kehrte sich im Gr4-Horizont (40 bis 52 cm) um; hier dominierten eindeutig die Typ II über Typ I Methan oxidierenden Bakterien.



a



b

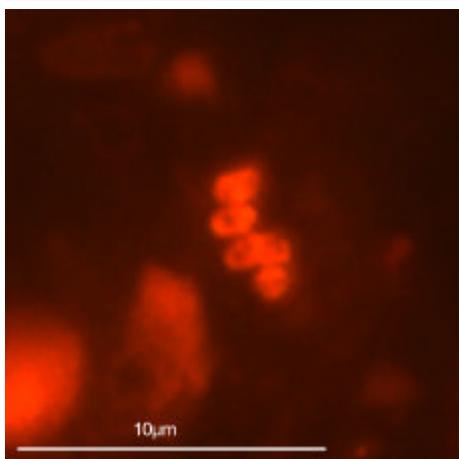


c

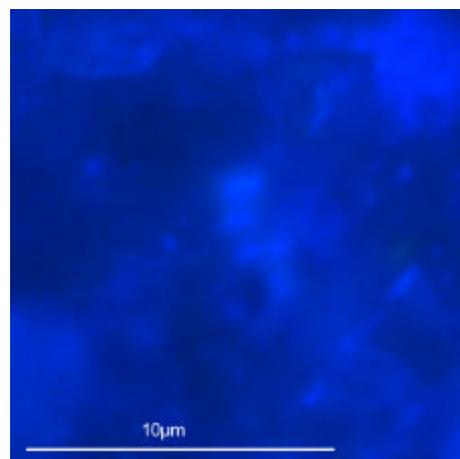
Abbildung 5-19.: Anreicherung aus dem Gr4-Horizont (40 bis 52 cm) des *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley); **a:** FISH mit Typ II MOB Sondenkombination (Mg 84 + Mg 705) konjugiert mit dem Farbstoff Cy3; **b:** DAPI Färbung; **c:** FISH und DAPI überlagert

a+b+c: Typ II Methan oxidierende Bakterien (stäbchenförmig)

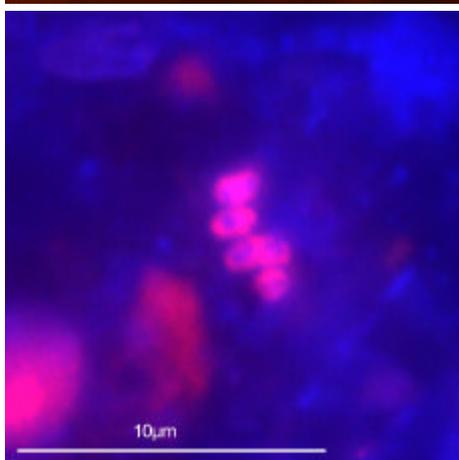
Neofluotar Objektiv 100/1,4 Öl



a



b



c

Abbildung 5-20.: Bodenprobe aus dem Ah-Horizont des *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley); **a:** FISH mit Typ I MOB Sonde (Ma 450) konjugiert mit dem Farbstoff Cy3; **b:** DAPI-Färbung; **c:** FISH und DAPI überlagert

a+b+c: Typ I Methan oxidierende Bakterien (Diplococcen)

Neofluotar Objektiv 100/1,4 Öl

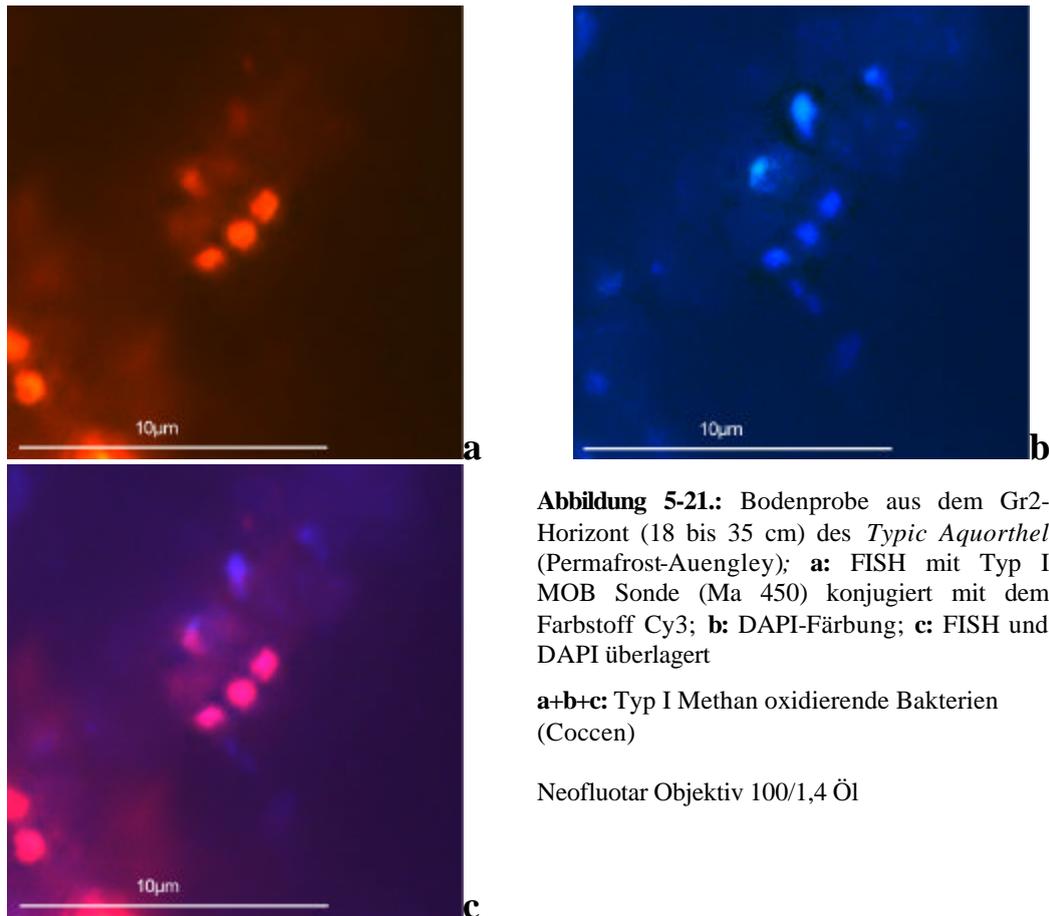


Abbildung 5-21.: Bodenprobe aus dem Gr2-Horizont (18 bis 35 cm) des *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley); **a:** FISH mit Typ I MOB Sonde (Ma 450) konjugiert mit dem Farbstoff Cy3; **b:** DAPI-Färbung; **c:** FISH und DAPI überlagert

a+b+c: Typ I Methan oxidierende Bakterien (Coccen)

Neofluotar Objektiv 100/1,4 Öl

5.6.2 Anreicherungskulturen und Bodenproben des Tundra-Moorgleys (*Typic Historthel*)

Im Tundra-Moorgley (*Typic Historthel*) konnten ebenfalls für nahezu alle Horizonte Methan oxidierende Bakterien nachgewiesen werden. Erst unterhalb 40 cm wurden keine Methan oxidierenden Bakterien mehr durch FISH detektiert. Damit gehörten sogar die oberen 19 cm des Permafrosthorizontes zum Lebensraum der Methan oxidierenden Bakterien. Äquivalent zu den **feldfrischen Bodenproben** des *Typic Aquorthel* waren die Typ I Methan oxidierenden Bakterien bis 40 cm Tiefe auch durchgängig im Tiefenprofil des *Typic Historthel* verbreitet. Typ II Methan oxidierende Bakterien konnten in den Bodenproben des *Typic Historthel* nicht detektiert werden (Tab. 5-3., Abb. 5-22.).

Tabelle 5-3.: Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien im Profil des *Typic Historthel*; Gegenüberstellung von Anreicherungskulturen und feldfrischen Bodenproben des *Typic Historthel* (Tundra-Moorgley)

Anreicherungskulturen				feldfrischer Boden		
Tiefe unter GOF (cm)	Typ I	Typ II	Bemerkungen	Typ I	Typ II	Bemerkungen
0-5	+	-	Typ I: Aggregatbildung	+	-	
5-10	+	-		+	-	Typ I: Aggregatbildung
10-15	+	-	Typ I: Stäbchen	+	-	Typ I: Aggregatbildung
15-26	-	-	keine MOB mit FISH nachgewiesen	+	-	
26-31	++	+	Typ I: Stäbchen	+	-	Typ I: Aggregatbildung
31-35	+	+	Typ I: Aggregatbildung	+	-	
35-40	+	-		+	-	Typ I: Aggregatbildung
40-60	-	-	keine MOB mit FISH nachgewiesen	-	-	keine MOB mit FISH nachgewiesen

Anhand der **Anreicherungskulturen** des *Typic Historthel* zeigte sich jedoch, dass auch im Tundra-Moorgley (*Typic Historthel*) Typ II Methan oxidierende Bakterien verbreitet waren, jedoch nur in dem schmalen Bereich zwischen 26 und 36 cm Tiefe. Wie im *Typic Aquorthel* waren demnach auch im Boden des Polygonzentrums die oberen Bodenhorizonte nur von Typ I nicht aber von Typ II Methan oxidierenden Bakterien besiedelt, während sich die Diversität in tieferen Bodenhorizonten zu einer Koexistenz von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien hin verschob. Anhand der Anreicherungskulturen des *Typic Historthel* konnte im Gr-Horizont (26 bis 31 cm), in dem sowohl Typ I als auch Typ II Methan oxidierende Bakterien nachgewiesen wurden, eine deutliche Dominanz an Typ I Methan oxidierenden Bakterien festgestellt werden. Im unmittelbar darunter liegenden, obersten Bereich des Permafrosthorizontes (31 bis 35 cm) verschwand diese Dominanz. In diesem Bereich war das Verhältnis zwischen Zellen von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien schätzungsweise ausgeglichen.

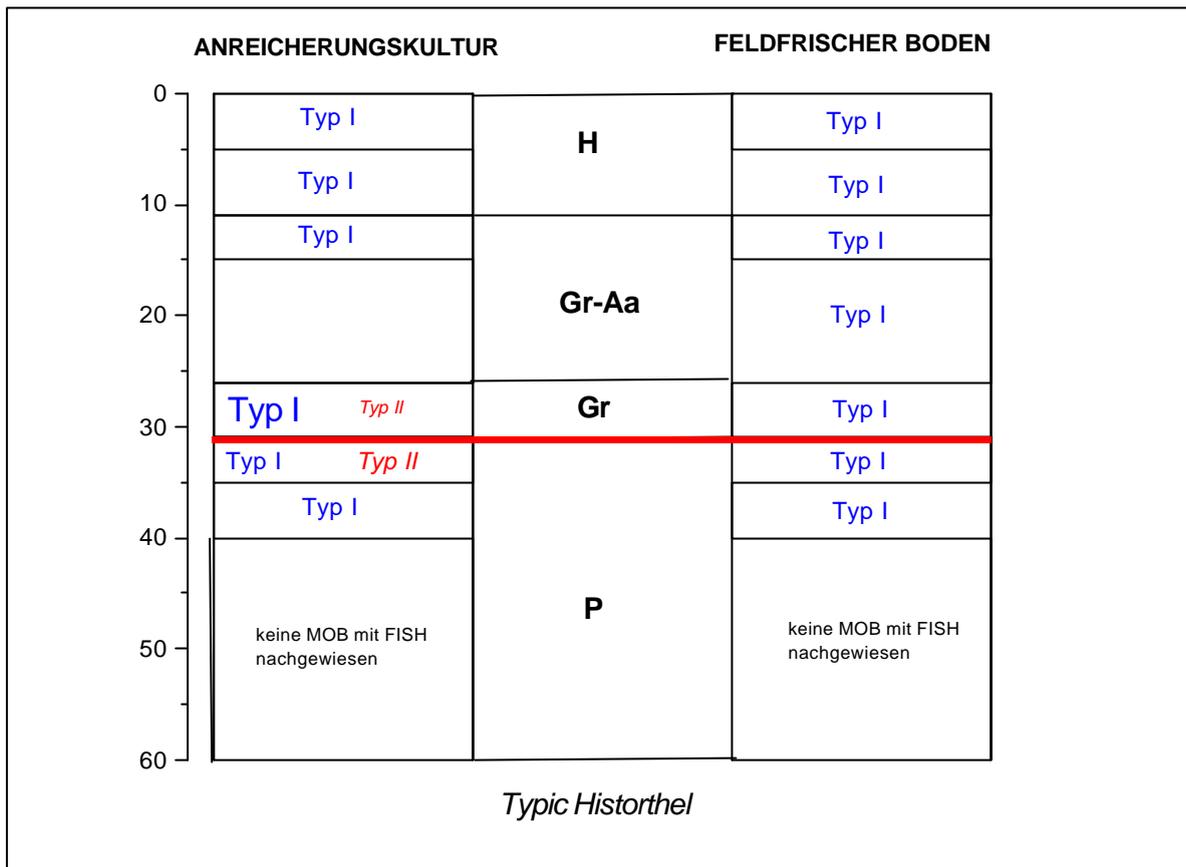


Abbildung 522.: Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien im *Typic Historthel*; Gegenüberstellung von Anreicherungskulturen und feldfrischen Boden (schematisiert im Tiefenprofil des *Typic Historthel*)

Ein signifikanter Unterschied zwischen den Typ I Methan oxidierenden Bakterien des *Typic Aquorthel* und denen des *Typic Historthel* konnte in Bezug auf ihre Morphologie nachgewiesen werden: Während die Typ I Methan oxidierenden Bakterien im *Typic Aquorthel* ausschließlich als sehr kleine Coccen identifiziert wurden, hatten die Typ I Methan oxidierenden Bakterien im Gr-Horizont (26 bis 31 cm) des *Typic Historthel* zum Teil Stäbchenform (Abb. 5-23.). Weiterhin bildeten die Typ I Methan oxidierenden Bakterien des Polygonzentrums im Vergleich zum Boden des Permafrost-Auengleys Aggregate (Abb. 5-24.), die jedoch im Unterboden nicht eindeutig zu identifizieren waren (Abb. 5-25.). Sowohl in den Anreicherungskulturen als auch in den feldfrischen Bodenproben wurden unter dem Mikroskop mehr oder weniger große Zellhaufen Typ I Methan oxidierender Bakterien sichtbar, die von einer schleimartigen Substanz umgeben wurden.

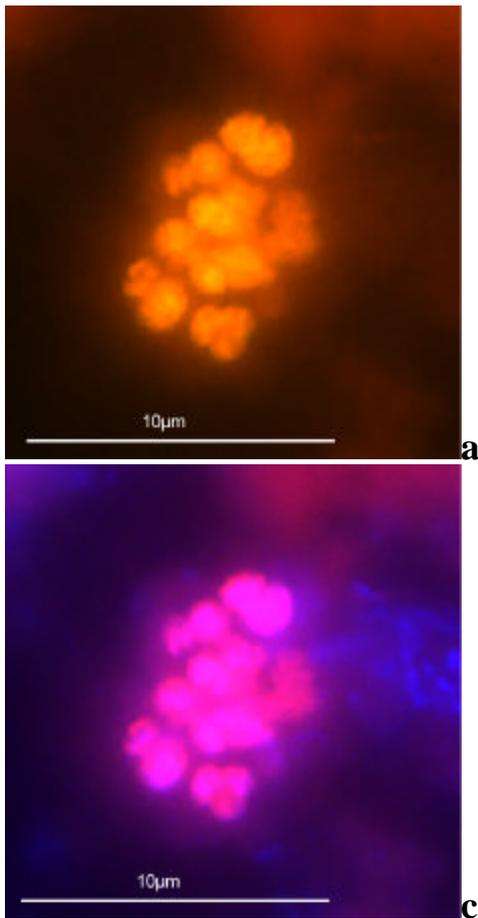


Abbildung 523.: Bodenprobe aus dem Gr-Aa-Horizont (15 bis 23 cm) des *Typic Historthel* (Tundra-Moorgley); **a:** FISH mit Typ I MOB Sonde (Ma 450) konjugiert mit dem Farbstoff Cy3; **b:** DAPI-Färbung; **c:** FISH und DAPI überlagert

a+b+c: Typ I Methan oxidierende Bakterien (in Aggregaten)

Neofluotar Objektiv 100/1,4 Öl

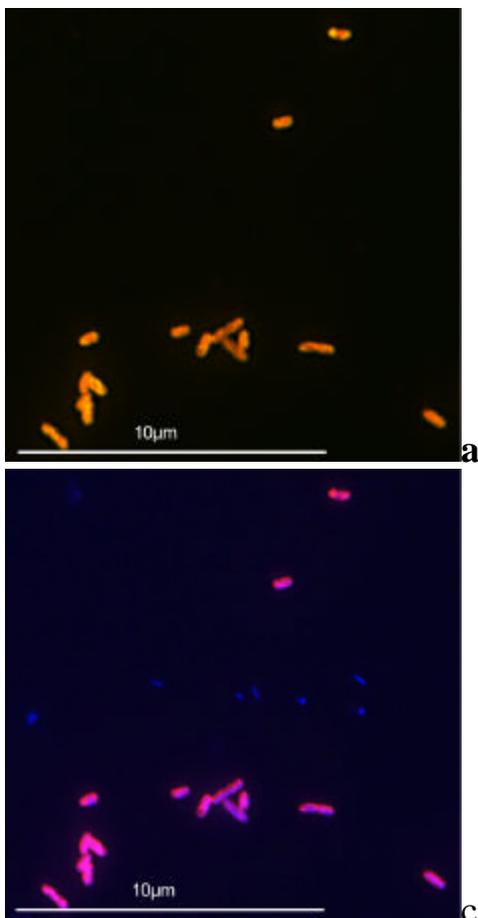
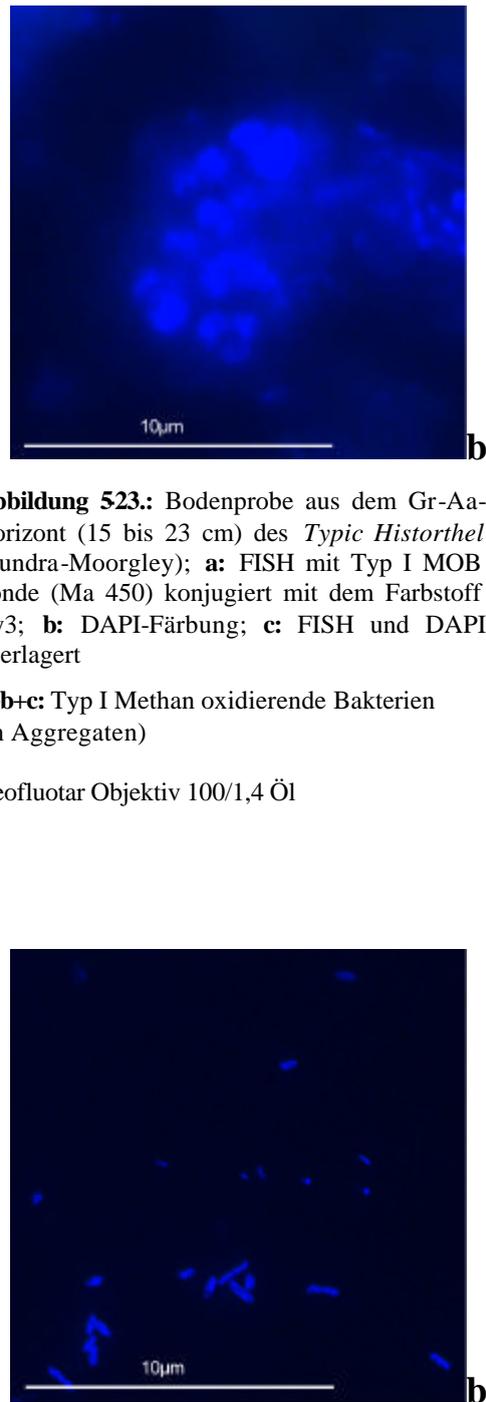


Abbildung 5-24.: Anreicherung aus dem Gr-Aa-Horizont des *Typic Historthel* (Tundra-Moorgley); **a:** FISH mit Typ I MOB Sonde (Ma 450) konjugiert mit dem Farbstoff Cy3; **b:** DAPI-Färbung; **c:** FISH und DAPI überlagert

a+b+c: Typ I Methan oxidierende Bakterien (stäbchenförmig)

Neofluotar Objektiv 100/1,4 Öl



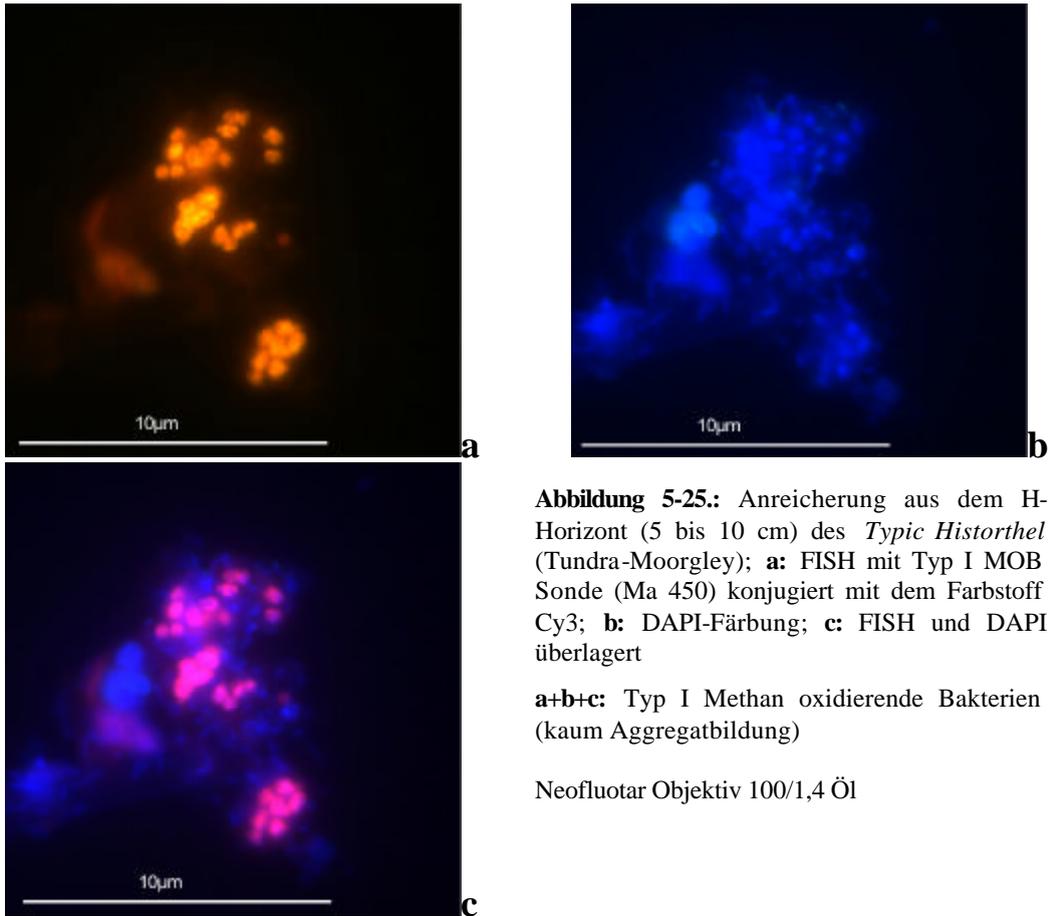


Abbildung 5-25.: Anreicherung aus dem H-Horizont (5 bis 10 cm) des *Typic Historthel* (Tundra-Moorgley); **a:** FISH mit Typ I MOB Sonde (Ma 450) konjugiert mit dem Farbstoff Cy3; **b:** DAPI-Färbung; **c:** FISH und DAPI überlagert

a+b+c: Typ I Methan oxidierende Bakterien (kaum Aggregatbildung)

Neofluotar Objektiv 100/1,4 Öl

6 Diskussion

6.1 Anpassung der Methan oxidierenden Bakterien an unterschiedliche Standortbedingungen in Permafrostböden

Die Anpassung der Methan oxidierenden (methanotrophen) Mikroflora an unterschiedliche Standortbedingungen in Permafrostböden wurde im Rahmen dieser Arbeit durch Gegenüberstellung zweier Standorte auf der Insel Samoylov im Lena-Delta, Sibirien. untersucht. Dazu wurde ein Permafrost-Auengley (*Typic Aquorthel*) bodenmikrobiologisch detailliert untersucht und mit den Ergebnissen im Rahmen anderer Studien der Arbeitsgruppe (KUTZBACH 2000, WAGNER et al. 2003) am Boden eines Tundra-Moorgleys (*Typic Historthel*) verglichen. Es konnten Zusammenhänge zwischen den bodenphysikalischen und bodenchemischen Eigenschaften beider Standorte und den Zellzahlen an Methan oxidierenden Bakterien sowie den Methanoxidations- und Methanbildungsaktivitäten unter *in-situ*-Bedingungen festgestellt werden, die wie folgt diskutiert werden:

Sowohl im *Typic Aquorthel* (im Folgenden als Permafrost-Auengley bezeichnet) als auch im *Typic Historthel* (im Folgenden als Tundra-Moorgley bezeichnet) konnten Methan oxidierende Bakterien im gesamten Profil einschließlich der oberen Bereiche der Permafrosttafel nachgewiesen werden. Vergleichbare Ergebnisse ermittelten VECHERSKAYA et al. (1993), die in einem arktischen Tundren-Torfmoor ebenfalls für den gesamten 'active layer' bis zum Permafrostbereich Methanoxidation durch methanotrophe Bakterien nachwiesen. Innerhalb des Untersuchungsgebietes wurden im Permafrost-Auengley mehr als dreimal so viele Methan oxidierende Bakterien mit der MPN-Methode ermittelt wie im Tundra-Moorgley (Abb. 5-9. und Abb. A-2.). Im Vergleich zu anderen Feuchtgebieten wie beispielsweise Reisböden mit Zellzahlen von 10^6 Zellen g^{-1} Boden (BOSSE und FRENZEL 1997, ELLER und FRENZEL 2001) waren die Zellzahlen Methan oxidierender Bakterien im Permafrost-Auengley mit einem Maximum von 7800 Zellen g^{-1} Boden um mehr als zwei Zehnerpotenzen niedriger. Die Methanoxidationsaktivität unter *in-situ*-Bedingungen des Permafrost-Auengleys betrug darüber hinaus etwa das Zehnfache der Oxidationsaktivität des Tundra-Moorgleys (Abb. 5-15. und Abb. A-3.). Demnach ist davon auszugehen, dass die

Bedingungen des Permafrost-Auengleys wesentlich günstiger für die Verbreitung der methanotrophen Mikroflora sind, als die des Tundra-Moorgleys.

Beide Standorte wiesen einen nahe an der Geländeoberfläche anstehenden Wasserspiegel auf und besaßen demzufolge weitestgehend reduzierende Verhältnisse. Für den Boden des Tundra-Moorgleys ermittelten FIEDLER et al. (2003) Redoxpotentiale von ~ -50 mV im Oberboden und ~ -80 mV im Bereich direkt über der Permafrosttafel. Die Redoxpotentiale müssen aufgrund des ebenfalls an der Geländeoberfläche anstehenden Wasserspiegels auch im Permafrost-Auengley schon im Oberboden negativ gewesen sein. Von signifikanten Unterschieden in der Mächtigkeit des aeroben Bodenbereiches und damit in der Sauerstoffkonzentration zwischen beiden Standorten kann daher nicht ausgegangen werden. Daraus ergeben sich zwei Schlussfolgerungen: *Zum einen* sind die unterschiedlichen Aktivitäten und Zellzahlen beider Standorte nicht auf die Sauerstoffkonzentration zurückzuführen. Das bedeutet, dass die Sauerstoffkonzentration für die Verbreitung und Aktivität der Methan oxidierenden Bakterien in beiden Profilen unmaßgeblich ist. *Zum anderen* zeigen Methan oxidierende Bakterien auch bei geringen Sauerstoffgehalten und negativen Redoxpotentialen im Boden noch signifikante Aktivitäten. Zwar ist erwiesen, dass sich ein länger anhaltender Rückgang des Wasserspiegels in Feuchtgebieten und Reisfeldern deutlich zugunsten der Methanoxidationsraten auswirkt und die Emission von Methan damit mindert (ROSLEV und KING 1996, JÄCKEL et al. 2001). Dennoch stützen Untersuchungen von HENCKEL et al. (2000) zu den Effekten unterschiedlicher Sauerstoff/Methan Konzentrationen auf die Aktivität Methan oxidierender Bakterien in Reisfeldern die zuvor beschriebene These, dass geringe Sauerstoffkonzentrationen im Boden sich nicht negativ auf die Aktivität und Verbreitung der Methan oxidierenden Bakterien auswirken. Im Gegenteil: HENCKEL et al. (2000) fanden heraus, dass sich zu hohe Sauerstoffkonzentrationen bei gleichzeitig geringen Methankonzentrationen sogar hemmend auf die Methanoxidation auswirken, während die höchste Aktivitäten bei niedrigen Sauerstoff- aber hohen Methankonzentrationen gemessen wurden. WHITTENBURY et al. (1975) konnten auch bei Reinkulturen Methan oxidierender Bakterien eine hohe Sensibilität gegenüber der Sauerstoffkonzentration nachweisen. Die Gründe dafür sind bislang noch unklar (HENCKEL et al. 2000). Aufgrund der Erscheinung, dass die Methanoxidation durch zu hohe Sauerstoffgehalte gehemmt und im

Gegensatz dazu bei niedrigen Sauerstoffkonzentrationen maximale Werte erreichen kann, werden Methan oxidierende Bakterien auch als funktionell fakultativ mikroaerophile Organismen bezeichnet (HANSON UND HANSON 1996). Dennoch sind Wachstum und Aktivität dieser obligat aeroben Bakterien immer an das Vorhandensein von Sauerstoff gebunden und finden unter streng anaeroben Verhältnissen nicht statt. Eine in diesem Sinne ausreichende Sauerstoffversorgung ist in beiden Untersuchungsstandorten gegeben. Sowohl der Permafrost-Auengley als auch der Tundra-Moorgley werden von einer Vegetation mit ausgeprägtem Aerenchym- und Wurzelsystem dominiert (*Arctophila fulva* bzw. *Carex aquatilis*), durch die ausreichend Sauerstoff auch in die anaeroben Bodenbereiche transportiert wird. Abbildung A-2. verdeutlicht, dass die Bakterienzellen bevorzugt an Wurzelbestandteilen anhaften, womit ihre Sauerstoffversorgung gewährleistet ist.

Neben Sauerstoff ist Methan für den Energie- und Kohlenstoffwechsel der methanotrophen Bakterien essentiell. Die Methankonzentration (Substratkonzentration) im Boden wird maßgeblich vom mikrobiellen Prozess der Methanbildung bestimmt. Sowohl im Permafrost-Auengley als auch im Tundra-Moorgley gab es einen direkten Zusammenhang zwischen den höchsten Zellzahlen Methan oxidierender Bakterien und den Zonen der höchsten Methanbildungsraten unter *in-situ*-Bedingungen (Abb. 5-16. und Abb. A-4.). Im Permafrost-Auengley lag diese Zone zwischen 18 und 35 cm Tiefe, während im Tundra-Moorgley die höchste Methanbildung und die höchsten Zellzahlen innerhalb der oberen 25 cm Bodentiefe ermittelt wurden. Ein direkter Zusammenhang zwischen den Zellzahlen Methan oxidierender Bakterien und der Methanoxidationsaktivität konnte jedoch nicht aufgezeigt werden. Dies wirft die Frage auf, welchen Einfluss die Methanbildung und damit die Methankonzentration auf die Methanoxidationsaktivität hat. Diese Frage wird später im Zusammenhang mit dem Einfluss unterschiedlicher Methankonzentrationen auf die Oxidationsaktivitäten beantwortet.

An dieser Stelle bleibt festzuhalten, dass die Methanbildung unter *in-situ*-Bedingungen in beiden Standorten annähernd gleiche Werte besaß, während die Methanoxidation im Permafrost-Auengley jedoch deutlich höher als im Tundra-Moorgley war. Damit können auch die im Vergleich zum Tundra-Moorgley deutlich

geringeren Methankonzentrationen im Permafrost-Auengley mit zunehmender Tiefe erklärt werden.

Im Permafrost-Auengley korrelierten die Zonen der höchsten Methanbildung nicht nur mit den höchsten Zellzahlen, sondern auch mit den Regionen der größten Wurzel-dichte. Der Zusammenhang zwischen der Wurzel-dichte, der Verfügbarkeit an Substraten für die Methan bildende Mikroflora und der Methanbildungsaktivität in arktischen Feuchtgebieten bzw. der Rhizosphäre und den Zellzahlen Methan oxidierender Bakterien in Reisfeldern wurde auch bereits von anderen Autoren beschrieben (JOABSSON und CHRISTENSEN 2001, ELLER und FRENZEL 2001). Die Verfügbarkeit an Substraten für die Methan bildende Mikroflora wird von der Qualität und Quantität des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) bestimmt. Die Konzentration des DOC war im Tundra-Moorgley (7,2 – 17,2 mg l⁻¹; Abb. A-1.) wesentlich höher als im Permafrost-Auengley (2,5 – 8 mg l⁻¹), dessen Oberboden nur etwa ein Viertel an gelöster organischer Substanz besaß als der des Tundra-Moorgleys. Die Tatsache jedoch, dass die Methanbildungsaktivität in beiden Standorten annähernd gleich und die Zellzahlen, die von der Methanbildung beeinflusst werden, sogar weitaus höher im Permafrost-Auengley mit den geringeren DOC-Gehalten waren, lässt darauf schließen, dass die Quantität des DOC nicht ausschlaggebend für die Methanoxidation ist. Vielmehr ist die Bioverfügbarkeit und die Abbaubarkeit der Verbindungen des gelösten organischen Kohlenstoffes entscheidend. Das C/N-Verhältnis im Permafrost-Auengley liegt zwischen 10 und 15 und ist deutlich enger und damit biologisch günstiger als im Tundra-Moorgley (30 bis 40). Dadurch ist der prozentuale Anteil an Stickstoff im Permafrost-Auengley signifikant höher. Stickstoff ist Bestandteil vieler polarer, funktioneller Gruppen chemischer Verbindungen wie zum Beispiel den Aminosäuren. Neben Kohlenhydraten tragen diese zu einer qualitativen Aufwertung des DOC bei, da sie von Mikroorganismen leicht abbaubar sind (MARSCHNER und KALBITZ 2003). Die Verfügbarkeit von Stickstoff ist in Tundren oft limitiert. Da ihnen aus Verwitterung und Luftpfaden von außen nur wenig Stickstoff und Phosphor zugeführt werden und die Nährstoffversorgung ausschließlich von der Rückführung der Nährstoffe aus der organischen Bodensubstanz abhängt, werden Tundren auch als 'Nährstoffwüsten' bezeichnet (CHAPIN III et al. 1975, CHEN et al. 2003). Die Methanbildung unter *in-situ*-Bedingungen korrelierte im Permafrost-Auengley direkt mit dem C/N-Verhältnis (Abb. 5-16. und Abb. 5-8.) und

nicht, wie im Tundra-Moorgley, mit dem DOC selbst (WAGNER et al. 2003). Demzufolge deutet alles darauf hin, dass die Qualität des DOC im Permafrost-Auengley wesentlich höher ist, was sich positiv auf die methanogene und methanotrophe Mikroflora auswirkt. Eine ausreichende Erklärung dafür, warum der Permafrost-Auengley in Bezug auf die Methan oxidierende Mikroflora ein weitaus günstigeres Habitat darstellt, ist damit jedoch noch nicht gegeben.

Die signifikantesten bodenphysikalischen Unterschiede beider Standorte bestehen im Substrat und der damit verbundenen Porengrößenverteilung.

Das dominierende Substrat im Permafrost-Auengley ist Schluff. Sein Anteil ist in allen Horizonten höher als 50 %, während er im sandigen Tundra-Moorgley weniger als 15 % ausmacht. Der damit verbundene mehr als dreimal so große Mittelporenanteil des Permafrost-Auengleyes (15 bis 40 %) im Vergleich zum Tundra-Moorgley (~5 %) wirkt sich zugunsten der Zellzahlen der Methan oxidierenden Bakterien aus, da ein hoher Anteil an Mittelporen sowohl den Bodenwasser- und Bodenlufthaushalt begünstigt, als auch die Verfügbarkeit von Substraten. Diese beispielsweise ist bei einem zu hohen Anteil an Feinporen durch starke Sorptionskräfte gehemmt (MARSCHNER und KALBITZ 2003), während ein hoher Grobporenanteil wiederum die Ausbildung von Biofilmen verhindert und dadurch ungünstige Bedingungen für Mikroorganismenpopulationen schafft. Die Zellzahlen sind im Permafrost-Auengley ebenfalls mehr als dreimal so hoch wie im Tundra-Moorgley. Eine positive Korrelation zwischen dem Volumen der Mittelporen und der Zellzahl von Mikroorganismen hatten schon WAGNER et al. (1999) für die methanogenen Archaeen beschrieben. Auch innerhalb des Permafrost-Auengleyes wird dieser Zusammenhang deutlich. Im Vergleich zum Ai-Horizont halbieren sich im Ah-Horizont nicht nur die Zellzahlen Methan oxidierender Bakterien (von 4300 auf 2300 Zellen g⁻¹ Boden), sondern auch der Anteil an Mittelporen (31,1 % auf 14,9 %).

Ein weiterer Aspekt in der Beurteilung beider Standorte als Lebensraum der methanotrophen Mikroflora stellt die Bodenreaktion dar. Der optimale pH-Wert für das Wachstum der methanotrophen Mikroflora liegt zwischen pH 6 und 7 (KING 1990). Exakt dieses annähernd neutrale Bodenmilieu konnte im Labor für den Permafrost-Auengley bestimmt werden. Das Bodenmilieu, das für den Tundra-Moorgley nach der gleichen Methode (VDLUFA 1991) im Labor bestimmt wurde, war zwar durchweg stark sauer (pH 4,7 bis 5,1), die pH-Werte jedoch, die anhand

der Porenwasseranalytik im Feld bestimmt wurden, lagen im neutralen bis alkalischen Milieu (KUTZBACH 2000). Ein Vergleich beider Standorte bezüglich der Bodenreaktion ist daher schwierig, da nicht vorhersehbar ist, inwieweit die pH-Werte des Permafrost-Auengleys durch die Messung im Labor verfälscht wurden.

6.2 Einfluss der Temperatur und der Substratkonzentration auf die Aktivitätspotentiale der Methan oxidierenden Bakterien

Die Aktivität der methanotrophen Bakterien hängt von der Synthese von Enzymen, dem Aktivwerden von Dauerstadien und/oder dem Wachsen der Populationen ab (HENCKEL et al. 2000). Diese Faktoren werden entscheidend von der Temperatur und von der Substratkonzentration beeinflusst.

Im Übergangsbereich zum Permafrost (> 40 cm Tiefe), der durch konstant niedrige *in-situ* Temperaturen gekennzeichnet ist, wurde die maximale Oxidationsaktivität bei einer Temperatur von 4 °C ermittelt. In der gleichen Tiefe zeigten die Methan oxidierenden Bakterien bei 10 bzw. 21 °C jedoch weniger als die Hälfte ihrer Aktivität bei 4 °C. Dies wird durch Untersuchungen von OMELCHENKO et al. (1993) bestätigt, die erstmals eine psychrophile methanotrophe Art der Gattung *Methylococcus* (Typ I) aus einem Tundrenboden isolieren konnten. Dieser Organismus zeigte ein ideales Wachstum bei 3,5-10 °C, während er bei 15 °C wesentlich langsamer und bei 20 °C kaum noch wuchs. Enzymologische Analysen zeigten, dass das Enzym der Methan oxidierenden Bakterien, die Methan-Monooxygenase, ein Temperaturoptimum > 20 °C hat. ZAVARZIN (1994) konnte jedoch zeigen, dass die Aktivität von psychrophilen Organismen mit sinkenden Temperaturen steigt. Er postulierte, dass obligat Organismen eine gewissermaßen 'defekte' Protein- (Enzym-) Synthese besitzen, die dafür verantwortlich ist, dass ihre Aktivität mit sinkenden Temperaturen zunimmt.

Im Gegensatz zu den tieferen und kälteren Bodenhorizonten besaßen die Methan oxidierenden Bakterien der obersten 5 cm ein Aktivitätsmaximum, das über 20 °C lag. Das spricht ebenso für eine sehr gute Anpassung der methanotrophen Mikroflora an die *in-situ* Temperaturen, da die oberen Horizonte im Permafrost-Auengley eine um mehr als 10 °C höhere Bodentemperatur als der Übergangsbereich zum Permafrost aufwiesen. Dennoch zeigten auch die Methan oxidierenden Bakterien der obersten Bodenbereiche bei 10 °C mehr als die Hälfte, bei 4 bzw. 0 °C immerhin noch etwa ein Drittel der Aktivität bei 21 °C. Diese

Wachstumscharakteristik psychrotoleranter Organismen (Kap. 2.3) lässt darauf schließen, dass diese Methan oxidierenden Bakterien entweder der Gruppe der psychrotoleranten Organismen selbst oder einer Mischflora aus psychrophilen und mesophilen Organismen angehören. Diese Temperaturanpassung ermöglicht eine Methanoxidation, die über die Sommermonate hinaus geht und auch im Herbst und Frühjahr eine Senke für Methan darstellt.

Eine besondere ökologische Bedeutung hat der Umstand, dass die Organismen ab 40 cm Bodentiefe nach Auftauen (Lagerung im Labor im gefrorenen Zustand) und Vorinkubation mit Methan bei 4 °C eine mehr als doppelt so hohe Aktivität zeigten, als bei 10 bzw. 21 °C, obwohl die Methanoxidationsaktivitäten unter *in-situ*-Bedingungen mit zunehmender Tiefe und abnehmenden Temperaturen geringer wurden. Die Laborergebnisse zeigen, dass die Methan oxidierenden Bakterien in den tieferen, konstant kälteren Horizonten des Permafrost-Auengleys durch ein psychrophiles Wachstum ($T_{opt} < 15$ °C) an die extremen Bedingungen des Permafrostes angepasst sind.

Zusätzlich tritt hier ein Effekt in Erscheinung, den SCHIMEL und CLEIN (1996) bei Gefrier- und Auftauprozessen in Tundren beobachten konnten. Durch Gefrierprozesse sterben und lysieren Zellen, wobei niedermolekulare Zucker und Aminosäuren abgegeben werden. Die Konzentration dieser Substanzen, die maßgeblich für die Qualität des DOC und damit für die Aktivität sämtlicher Mikroorganismengemeinschaften verantwortlich sind, steigt dabei in der Bodenlösung deutlich an. Während des Auftauprozesses, bei dem die Zellen wieder aktiv werden, kommt es infolgedessen zu einem regelrechten Aktivitätsimpuls.

Auch die Ergebnisse der Methanoxidationsaktivitäten unter *in-situ*-Bedingungen weisen deutlich auf eine Anpassung der methanotrophen Mikroflora an die Temperaturverhältnisse in Permafroststandorten hin. Die Methanoxidationsraten unter *in-situ*-Bedingungen im Tundra-Moorgley waren unabhängig von der Temperatur, die innerhalb des Profils von 8 °C auf etwa 0,5 °C sank, bis zu einer Tiefe von 25 cm gleichbleibend hoch (Abb. A-3., rechts). Die Tatsache, dass die Methanoxidationsaktivität mit sinkenden Temperaturen nicht abnahm, ist ein weiteres Indiz dafür, dass die methanotrophe Mikroflora in den tieferen und kälteren Bodenhorizonten an die *in-situ* Temperaturen angepasst ist.

Im Permafrost-Auengley nimmt die Methanoxidation unter *in-situ*-Bedingungen zwar mit zunehmender Tiefe entlang des Temperaturgradienten ab. Das jedoch lässt sich mit dem Zeitraum der Messungen erklären. Im Permafrost-Auengley wurde die Methanoxidation unter *in-situ*-Bedingungen bereits Mitte Juli ermittelt, im Tundra-Moorgley erst Anfang August. Innerhalb der Gruppe der Methan oxidierenden Bakterien ist die Ausbildung von Dauerstadien weit verbreitet. Im Verlauf des Auftauprozesses des 'active layers' im Sommer nach der permanenten Bodengefrorenis im Winter werden diese Dauerstadien mit zunehmender Auftautiefe aktiv. Im Permafrost-Auengley war in den tieferen Regionen Mitte Juli ein Großteil der Dauerstadien demzufolge noch inaktiv.

Während die Temperatur die Synthese der Methan-Monooxygenase beeinflusst, wirkt sich die Methankonzentration auf die Anzahl der an der Oxidation beteiligten Enzyme aus und beeinflusst damit die Aktivität der Methan oxidierenden Bakterien. Je höher die Methankonzentration ist, desto mehr Enzyme sind bis zum Erreichen der Grenzkonzentration an der Umsetzung beteiligt und desto höher ist ihre Aktivität. Die Aktivitätsmessungen am Profil des Permafrost-Auengleys bestätigen diesen Zusammenhang. Mit zunehmender Methankonzentration von 1000 ppm auf 5000 ppm nimmt auch die Methanoxidationsaktivität in fast allen Horizonten um mehr als das Doppelte zu. Eine Zunahme der Aktivität von methanotrophen Bakterien in Reisfeldern durch Inkubation bei hohen Methankonzentrationen konnten auch HENCKEL et al. (2000) beobachten. Bei einer weiteren Erhöhung der Methankonzentration auf 21000 ppm jedoch stieg nur in den Horizonten ab 18 cm Bodentiefe auch die Aktivität weiter an, während sie in den oberen Horizonten des Permafrost-Auengleys stagnierte bzw. sogar wieder leicht abnahm. In Anbetracht der *in-situ* Methankonzentrationen, die mit zunehmender Bodentiefe deutlich anstiegen, bedeutet das eine Anpassung der Methan oxidierenden Bakterien an die Methankonzentrationsgradienten im Tiefenprofil. Die Substrataffinität nimmt innerhalb des Profils mit zunehmender Tiefe deutlich ab, was sich in den K_m -Werten widerspiegelt. Diese haben sich im Übergangsbereich zum Permafrost im Vergleich zum Ai-Horizont mehr als versechsfacht. Organismen mit einer hohen Substrataffinität erreichen ihre maximale Stoffwechselaktivität bei niedrigeren Substratkonzentrationen, als Organismen mit einer niedrigen Substrataffinität. BENDER UND CONRAD (1992) unterschieden zwischen einem *low-affinity* und einem *high-affinity*-

Aufnahmesystem für Methan. Das erste System ist charakteristisch für Bodenproben, die bei hohen Methankonzentrationen vorinkubiert wurden, hohe K_m -Werte und eine erhöhte Schwellenkonzentration besaßen. Das zweite ist charakteristisch für Böden, die an geringe atmosphärische Methankonzentrationen angepasst sind. Sie besitzen kleine K_m -Werte und eine niedrige Schwellenkonzentration. Eine hohe Substrataffinität und damit kleine K_m -Werte sprechen für einen effizienten Energiestoffwechsel, da schon geringe Substratkonzentrationen für eine maximale Aktivität ausreichen (BENDER und CONRAD 1992, MACALADY et al. 2002).

Die niedrigen K_m -Werte in den oberen Horizonten des Permafrost-Auengleys deuten demzufolge auf eine Anpassung der Methan oxidierenden Bakterien an die geringeren Methankonzentrationen im Oberboden sowie einen in Bezug auf die Substratkonzentration effizienteren Energiestoffwechsel hin, als den der Bakterien in den tieferen Horizonten, die durch die Methanbildungsaktivität durch hohe Methankonzentrationen versorgt werden.

6.3 Einfluss von Temperatur und Substratkonzentration auf die Zusammensetzung der Methan oxidierenden Bakterien im Tiefenprofil von Permafroststandorten

Sowohl im Permafrost-Auengley als auch im Tundra-Moorgley konnten mit Hilfe der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung Typ I Methan oxidierende Bakterien im gesamten Profil nachgewiesen werden, während Typ II Methan oxidierende Bakterien im Permafrost-Auengley erst ab 18 cm Tiefe und im Tundra-Moorgley ab 25 cm detektiert wurden. Das Auftreten von Typ II Methan oxidierenden Bakterien scheint direkt mit der Zunahme der *in-situ* Methankonzentration korreliert zu sein. In beiden Standorten stieg diese ab einer Tiefe von 20 cm deutlich an. Im Permafrost-Auengley erhöht sich die Methankonzentration ab 40 cm Bodentiefe sogar sprunghaft. In diesem Übergangsbereich zur Permafrosttafel dominierten quantitativ Typ II über Typ I Methan oxidierende Bakterien. Typ II Methan oxidierende Bakterien sind schlechter an niedrige Substratkonzentrationen angepasst, weil sie durch eine weitaus geringere Substrataffinität gekennzeichnet sind, jedoch besser an ungünstige Lebensbedingungen wie mit zunehmender Tiefe abnehmende Sauerstoffgehalte und Temperaturen (MACALADY et al. 2002).

HENCKEL et al. (2000) ermittelten in Reisfeldern eine Dominanz von Typ I Methan oxidierenden Bakterien bei niedrigen Methankonzentrationen (1000 ppm), während mit zunehmenden Methankonzentrationen Typ I und Typ II methanotrophe Bakterien gleichermaßen an der Oxidationsaktivität beteiligt waren. Offensichtlich werden Typ II methanotrophe Bakterien später aktiv, reagieren langsamer auf veränderte Umweltbedingungen und besitzen eine stabilere Population, während Typ I methanotrophe Bakterien bei ungünstigen Bedingungen zwar schneller in Dauerstadien übergehen, jedoch auch wesentlich schneller wieder aktiv werden, sobald sich die Lebensbedingungen verbessern (VECHERSKAYA et al. 1993).

Bislang ist noch ungeklärt, ob sich die physiologischen Unterschiede zwischen Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien auf ihre Verbreitung auswirken (MACALADY et al. 2002). Die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse jedoch lassen durchaus Zusammenhänge zwischen den physiologischen Merkmalen von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien einerseits und ihrer Verbreitung im Tiefenprofil, die Resultat unterschiedlicher Aktivitäts- und Anpassungspotentiale an verschiedene Standortfaktoren ist, erkennen.

Die Tatsache, dass im Oberboden beider Standorte nur Typ I, jedoch keine Typ II Methan oxidierenden Bakterien nachgewiesen werden konnten, deutet darauf hin, dass Typ I methanotrophe Bakterien für die hohe Substrataffinität der Oberbodenorganismen verantwortlich sind. Demzufolge besitzen sie einen effizienteren Energiestoffwechsel. Diese Effizienz könnte Resultat ihres Enzyms sein, denn im Unterschied zu Typ II, besitzen Typ I Methan oxidierende Bakterien ausschließlich eine partikuläre Methan-Monooxygenase (pMMO). Diese kann im Vergleich zur löslichen Methan-Monooxygenase (sMMO) nur Methan, nicht jedoch Methanol, Formiat oder Methylamine oxidieren (TROTSENKO und KHMELLENINA 2003). Demzufolge sind Typ I methanotrophe Bakterien in ihrer Substratverfügbarkeit gegenüber Typ II methanotrophen Bakterien, die zu einem großen Teil auch die sMMO besitzen, eingeschränkt.

Typ I Methan oxidierende Bakterien sind offensichtlich nicht nur besser an das Substrat, sondern auch an die Temperaturen in arktischen Feuchtgebieten angepasst. Alle bislang isolierten psychrophilen Arten methanotropher Bakterien gehören der Gruppe der Typ I Methan oxidierenden Bakterien an (TROTSENKO und KHMELLENINA 2003). Die psychrophile Art der Gattung *Methylococcus*, die von OMELCHENKO et al. (1993) aus einem Tundren-Boden im Ural isoliert werden

konnte, besaß die Zellform kleiner Coccen bzw. Diplococcen. Die in dieser Arbeit mittels FISH nachgewiesenen Typ I methanotrophen Bakterien des Permafrost-Auengleys und auch des Tundra-Moorgleys waren zum großen Teil ebenfalls kleine Coccen und Diplococcen, die sich offenbar durch Teilung in zwei neue Zellen reproduzieren (Abb. 5-20.). Nur in zwei Horizonten des Tundra-Moorgleys (10-15 cm bzw. 26-31 cm Tiefe) wurden stäbchenförmige Typ I methanotrophe Bakterien detektiert (Abb. 5-24.).

Psychrophile und psychrotolerante Mikroorganismen weisen einen höheren Anteil an ungesättigten Fettsäuren in Membranen auf als meso- und thermophile Organismen (NEDWELL 1999). In der Ausbildung der Membranen scheint daher ein wichtiger Faktor der Anpassung von Organismen an tiefe Temperaturen zu liegen. Typ I und Typ II Methan oxidierende Bakterien unterscheiden sich in der Anordnung ihrer intrazellulären Membranen. In den Typ I Methan oxidierenden Bakterien ist diese stapelförmig, bei Typ II jedoch entlang der Cytoplasmamembran angeordnet. Bei nicht kälteangepassten Organismen werden die Membranen bei tiefen Temperaturen viskos und starr, wodurch ihre Funktionstüchtigkeit verloren geht. NEDWELL (1999) stellte einen Zusammenhang zwischen dieser verminderten Funktionstüchtigkeit der Membranen und der verminderten Substrataffinität bei niedrigen Temperaturen für nicht kälteangepasste Organismen her. Die Zellform der Typ I methanotrophen Bakterien im Permafrost-Auengley und im Tundra-Moorgley als auch die geringe Substrataffinität der Typ II Methan oxidierenden Bakterien, die ausschließlich in tieferen Bodenhorizonten detektiert werden konnten, sowie die hohen Aktivitäten bei niedrigen Temperaturen im Labor nach Vorinkubation lassen demzufolge auf Folgendes schließen:

Die abnehmende Substrataffinität der Methan oxidierenden Bakterien mit zunehmender Bodentiefe in den untersuchten Permafroststandorten ist auf Typ II Methan oxidierende Bakterien und deren Selektionsvorteil bei ungünstigen Lebensbedingungen zurückzuführen. Die hohe Substrataffinität der Methan oxidierenden Bakterien der oberen Horizonte hat ihre Ursache in der Dominanz der Typ I Methan oxidierenden Bakterien und deren effizienteren Stoff- und Energiewechsel bei günstigen Lebensbedingungen. Die psychrophilen Organismen im Übergangsbereich zum Permafrost bzw. im Permafrostbereich selbst gehören der Gruppe der Typ I Methan oxidierenden Bakterien an. Da diese Organismen kälteangepasst sind, ihre maximale Aktivität bei niedrigen

Temperaturen haben und darüber hinaus schnell aktiv werden, sobald sich die Lebensbedingungen bessern, sind die Typ I methanotrophen Bakterien für die hohen Aktivitäten im Labor bei 4°C verantwortlich. Da sie unter ungünstigen Bedingungen schnell inaktiv werden, sind sie jedoch auch der Grund dafür, warum die Oxidationsaktivitäten unter *in-situ*-Bedingungen im Permafrost-Auengley im Übergangsbereich zum Permafrost sehr gering waren.

6.4 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit zur Verbreitung und den Aktivitätspotentialen Methan oxidierender Bakterien im Tiefenprofil zweier Permafrostböden zeigen, dass diese Mikroflora sehr gut an die Temperaturen und Methankonzentrationen in Böden arktischer Feuchtgebiete angepasst ist. Methan oxidierende Bakterien sind im gesamten Tiefenprofil beider Böden nachgewiesen worden. Die unterschiedlichen physiologischen Eigenschaften und Anpassungspotentiale von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien führen zu einer unterschiedlichen Verbreitung und Zusammensetzung dieser Mikroflora, die es ermöglichen, dass Methan oxidierende Bakterien nicht nur in den Oberbodenhorizonten, sondern im gesamten Tiefenprofil der Böden als Senke für Methan fungieren können. Im Übergangsbereich zum Permafrost und im Permafrosthorizont selbst, den Bodenhorizonten, die konstant durch Temperaturen um den Gefrierpunkt und hohe Methangehalte gekennzeichnet sind, existieren psychrophile (kälteangepasste) Typ I Methan oxidierende Bakterien ($T_{opt} < 15 \text{ °C}$) sowie Typ II Methan oxidierende Bakterien mit einer geringen Substrataffinität. Diese Mischflora von Typ I und Typ II Organismen in den tieferen Bodenhorizonten ist von großer ökologischer Bedeutung für den Methankreislauf dieser Habitate. Die Typ I Methan oxidierenden Bakterien sind zwar kälteangepasst, bevorzugen jedoch geringe Methan- und höhere Sauerstoffkonzentrationen, wie sie in den Oberbodenhorizonten, nicht jedoch in den tieferen Bodenhorizonten gegeben sind. Ihre Bedeutung für die Methanoxidation nimmt also aufgrund der Methan- und Sauerstoffgradienten im Tiefenprofil ab. Demgegenüber sind die Typ II Methan oxidierenden Bakterien zwar weniger kälteangepasst, besitzen jedoch eine maximale Aktivität bei hohen Methangehalten. Darüber hinaus zeigten Typ II

Methan oxidierende Bakterien die Eigenschaft, fakultativ mikroaerophil zu sein und können daher auch bei sehr geringen Sauerstoffkonzentrationen noch aktiv sein.

In den Oberbodenhorizonten ist die Ausbildung einer Mischflora aus Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien nicht notwendig, da die Methankonzentrationen hier sehr gering und die Sauerstoffversorgung durch die Vegetation ausreichend gewährleistet ist. Hier existierten ausschließlich die an geringe Methankonzentrationen angepassten Typ I Methan oxidierenden Bakterien, die entweder den psychrotoleranten Organismen oder einer Mischflora aus psychrophilen und mesophilen Bakterien angehören.

Die vorliegenden Ergebnisse ermöglichen wichtige Aussagen zur Methanemission aus arktischen Feuchtgebieten. Methan oxidierende Bakterien fungieren in arktischen Feuchtgebieten nicht nur im Sommer, sondern auch im Frühjahr und Herbst als Senke für Methan.

Die Methanoxidation durch Methan oxidierende Bakterien ist ein bedeutender Prozess zur Regulierung der Methanemission aus arktischen Feuchtgebieten. Damit liefert die vorliegende Arbeit einen weiteren wichtigen Baustein zum Verständnis der heutigen Kohlenstoffdynamik und der zukünftigen Entwicklung von Permafrostgebieten als Quelle oder Senke für klimarelevante Treibhausgase.

6.5 Kritische Betrachtung und Forschungsbedarf

Die Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) hat sich als geeignete molekularökologische Methode zur Markierung der Methan oxidierenden Mikroflora in Bodenproben von Permafroststandorten erwiesen. Aufgrund der hohen Spezifität und Signalintensität der gewählten Methanoxidantensonden Ma 450, Mg 85 und Mg 705 (ELLER et al. 2001) konnte die Verbreitung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien im Tiefenprofil von Permafrostböden anhand von feldfrischen Bodenproben bestimmt und durch einen Vergleich mit Anreicherungen der selben Proben verifiziert werden. Indem diese Ergebnisse mit Aktivitätsmessungen und Standortfaktoren zweier von Permafrost beeinflusster Böden in Beziehung gesetzt wurden, konnten wichtige Ergebnisse zur Anpassung von Typ I und Typ II Methan oxidierenden Bakterien gewonnen werden.

Als weiterer Baustein zum Verständnis der Kohlenstoffflüsse in Permafrostböden müssen diese Ergebnisse in Folgeuntersuchungen sowohl durch quantitative

Untersuchungen, wie Zellzahlbestimmungen mittels FISH, als auch durch qualitative Untersuchungen zur Diversität der methanotrophen Mikroflora erweitert werden.

Zellzahlbestimmungen mit der FISH-Methode konnten im Rahmen dieser Arbeit zum einen aufgrund der begrenzten Zeit nicht vorgenommen werden. Zum anderen ist dafür die konfokale Lasermikroskopie besser geeignet als die dieser Arbeit zugrunde liegende Epifluoreszenzmikroskopie. Eine Zellzahlbestimmung müsste darüber hinaus durch ergänzenden Einsatz mindestens eines weiteren Sondenfarbstoffes, wie beispielsweise des Carbocyaninfarbstoffes Cy5, vorgenommen werden. Die Markierung eines Objekträgerfeldes mit mindestens zwei Farbstoffen ermöglicht einen direkten Vergleich spezifischer Methan oxidierender Bakteriengruppen mit der gesamten methanotrophen Mikroflora bzw. mit allen Bakterien. Eine Zellzahlbestimmung mittels FISH würde darüber hinaus eine sehr gute Vergleichsgrundlage zur MPN-Methode darstellen.

Im Rahmen dieser Arbeit beschränkte sich die Charakterisierung der methanotrophen Mikroflora auf eine Unterscheidung in Typ I und Typ II Methan oxidierende Bakterien. Für konkrete Diversitätsstudien müssten Anreicherungskulturen und Isolate Methan oxidierender Bakterien gewonnen und durch Polymerase Kettenreaktion (PCR) mit anschließender Sequenzanalyse taxonomisch bestimmt werden. Eine Charakterisierung anhand von Fettsäuremustern wäre ebenso denkbar.

Difluormethan (CH_2F_2), ein selektiver Hemmstoff der Methanoxidation (KRÜGER et al. 2002), konnte durch Optimierung der Methode erst im Rahmen der Aktivitätsmessungen bei unterschiedlichen Methankonzentrationen sinnvoll eingesetzt werden, nicht jedoch innerhalb der Messreihe bei unterschiedlichen Temperaturen. Daher können die Ergebnisse beider Messreihen nur untereinander, nicht jedoch miteinander verglichen werden. Der Einsatz des Hemmstoffes hat sich bewährt, da in den Parallelen mit CH_2F_2 nahezu keine Methanoxidation zu beobachten war. Um realistischere Aktivitäten der Methanoxidation zu ermitteln, die auch den Prozess der Methanbildung berücksichtigen, sollte der Hemmstoff CH_2F_2 in Folgeuntersuchungen daher bei allen Aktivitätsmessungen eingesetzt werden.

7 Literaturverzeichnis

ADAMSEN, A.P.S. & KING, G.M. (1993) Methane consumption in temperate and subarctic forest soils: Rates, vertical zonation, and responses to water and nitrogen. *Applied Environmental Microbiology* **59(2)**, 485-490

AMANN; L. (2000) Ribosomal RNA-targeted nucleic acid probes for studies in microbial ecology. *FEMS Microbiology Reviews* **24**, 555-565

AMANN, R.; BINDER, B.J.; OLSON, S.W.; CHISHOLM, S.W.; DEVEREUX, R.; STAHL, D.A. (1990) Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. *Applied Environmental Microbiology* **56**, 1919-1925

AMANN, R.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K.-H. (1995) Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *FEMS Microbiology Reviews* **59**, 143-169

AMARAL, J.A. & KNOWLES, R. (1995) Growth of methanotrophs in oxygen and methane counter gradients. *FEMS Microbiological Letters* **126**, 215-220

ARE, F. & REIMNITZ, E. (2000) An Overview of the Lena River Delta Setting: Geology, Tectonics, Geomorphology, and Hydrology. *Journal of Coastal Research* **16(4)**, 1083-1093

A SELMAN, I. & CRUTZEN, J. (1989) Global distribution of natural freshwater wetlands and rice paddies, their net primary productivity, seasonality and possible methane emissions. *Journal of Atmospheric Chemistry* **8**, 307-358

BAKKEN, L.R. & LINDAHL, V. (1995) Recovery of Bacterial Cells from Soil in: *Trevors & van Elsas 'Nucleic Acids in the Environment - Methods and Applications'*, **Kap. 2**, SPRINGER –Verlag

- Barsch, H.; Billwitz, C.; Bork, H.-R. (2000) Arbeitsmethoden in Physiogeographie und Geoökologie *Klett-Perthes-Verlag*
- BARTLETT, K.B.; CRILL, P.M.; SASS, R.L.; HARRISS, R.C.; DISE, N.B. (1995) Methane emissions from tundra environments in the Yukon-Kuskokwim Delta, Alaska. *Journal of Geophysikal Research* **97**, 16645-16660
- BEDARD, C. & KNOWLES, R. (1989) Physiology, Biochemistry and Specific Inhibitors of CH₄, NH₄ and CO Oxidation by Methanotrophs and Nitrifiers. *Microbiological Reviews*, 68-84
- BENDER, M. & CONRAD, R. (1992) Kinetics of CH₄ oxidation in oxic soils exposed to ambient air or high CH₄ mixing ratios. *FEMS Microbiology Ecology* **101**, 261-270
- BENDER, M. & CONRAD, R. (1995) Effects of methane concentration and soil conditions on the induction of methane oxidation activity. *Soil Biol. Biochem.* **27**, 1517-1527
- BENSTAED, J. & KING, G., M. (1997) Response of methanotrophic activity in forest soil to methane availability. *FEMS Microbiology Ecology* **23**, 333-340
- BIANCHI, T.S.; FREE, M.E.; WETZEL, R.G. (1996) Temporal and spatial variability, and the role of dissolved organic carbon (DOC) in methane fluxes from the Sabine River Floodplain (Southeast Texas, U.S.A.). *Archiv für Hydrobiologie* **136**, 261-287
- BLÖCHL, E.; BURGGRAF, S.; FIALA, G.; LAUERER, G.; HIBER, G.; HUBER, R.; RACHEL, R. et al. (1995) Isolation, taxonomy and phylogeny of hyperthermophilic microorganisms. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **11**, 9-16
- BOSSE, U.; FRENZEL, P.; CONRAD, R. (1993) Inhibition of methane oxidation by ammonium in the surface layer of a littoral sediment. *FEMS Microbiology Ecology* **13**, 123-134
- BOURNE, D. G.; HOLMES, A. J.; MERSEN, N.; MURRELL, J.C. (2000) Florescent oligonucleotide rDNA probes for specific detection of methane oxidising bacteria. *FEMS Microbiology Ecology* **31**, 29-38

BOUVIER, T. & PAUL, A. DEL G. (2003) Factors influencing the detection of bacterial cells using fluorescence in situ hybridization (FISH): A quantitative review of published reports. *FEMS Microbiology Ecology* **44**, 3-15

BOWMAN, J. (1999) The Methanotrophs - The families Methylococcaceae and Methylocystaceae In: *The Prokaryotes* (Dworkin, M., Hrsg.) Springer-Verlag, New York

BRUNE, A.; FRENZEL, P.; CYPIONKA, H. (2000) Life at the oxic-anoxic interface: microbial activities and adaptations. *FEMS Microbiology Review* **24**, 691-710

BUNDESANSTALT FÜR GEOWISSENSCHAFTEN UND ROHSTOFFE UND DEN GEOLOGISCHEN LANDESÄMTERN IN DER BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND (1994) *Bodenkundliche Kartieranleitung*. 4. Auflage, Hannover

CAI, Z. & YAN, X. 1999 Kinetic model for methane oxidation by paddy soil as affected by temperature, moisture and N addition. *Soil Biology and Biochemistry* **31**, 715-725

CHAPIN III, F.S.; VAN CLEVE, K.; TIEZEN, L.L. (1975) Seasonal nutrient dynamics of tundra vegetation at Barrow, Alaska. *Arctic and Alpine Research* **7**, 209-226

CHEN, G.; ZHU, H.; ZHANG, Y. (2003) Soil microbial activities and carbon and nitrogen fixation. *Research in Microbiology* **154**, 393-398

CHRISTENSEN, T. (1993) Methane emission from arctic tundra. *Biochemistry* **21**, 117-139

CHRISTENSEN, T.R.; JONASSON, S.; CALLAGHAN, T.V.; HAVSTRÖM, M. (1995) Spatial variation in high-latitude methane flux along a transect across Siberian and European tundra environments. *Journal of Geophysical Research* **100**, 21035-21045

CHRISTENSEN, T.R.; FRIBORG, T.; SOMMERKORN, M.; KAPLAN, J.; ILLERIS, L.; SOEGAARD, H.; NORDSTROEM, C.; JONASSON, S. (2000) Trace gas exchange in a high-arctic valley: 1. variations in CO₂ and CH₄ flux between tundra vegetation types. *Global Biochemical Cycles* **14**, 701-713

CICERONE, R. J. & OREMLAND, R.S. (1988) Biochemical aspects of atmospheric methane. *Global Biochemical Cycles* **2** 299-327

CONRAD, R. (1999) Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments (review). *FEMS Microbiology Ecology* **28**, 193-202

CYPIONKA, H. (1999) *Grundlagen der Mikrobiologie*, Springer-Verlag

DEDYSH, S. N.; DERAKSHANI, M.; LIESACK, W. (2001) Detection and Enumeration of Methanotrophs in Acidic Sphagnum Peat by 16S rRNA Fluorescence In Situ Hybridization, Including the Use of Newly Developed Oligonucleotide Probes for *Methylocella palustris*. *Applied and Environmental Microbiology* **Vol. 67**, 4850-4857

DEDYSH, S., N.; DUNFIELD, P., F.; DERAKSHANI, M.; STUBNER, S.; HEYER, J.; LIESACK, W. (2003) Differential detection of type II methanotrophic bacteria in acidic peatlands using newly developed 16S rRNA-targeted fluorescent oligonucleotide probes. *FEMS Microbiology Ecology* **43**, 299-308

DUNFIELD, P.; KNOWLES, R.; DUMONT, R.; MOORE, T. R. (1993) Methane production and consumption in temperate and subarctic peat soils: Response to temperature and pH. *Soil Biol. Biochem.* **Vol. 25 No. 3**, 321-326

ELLER, G. (2000) Aktivität, Populationsdynamik und Diversität Methan oxidierender Bakterien im Reisfeld (Dissertation), Marburg/Lahn

ELLER, G. & FRENZEL, P. (2001) Changes in Activity and Community Structure of Methane Oxidising Bacteria over the Growth Period of Rice. *Applied and Environmental Microbiology* **67**, 2395-2403

ELLER, G.; STUBNER, S.; FRENZEL, P. (2001) Group-specific 16 rRNA targeted probes for detection of type I and type II methanotrophs by fluorescence in situ hybridisation. *FEMS Microbiology Letters* **198**, 91-97

FIEDLER, S.; WAGNER, D.; KUTZBACH, L.; PFEIFFER, E.-M. (2003) Element Redistribution along Redox Gradients of Low-Centred-Polygons, Lena Delta, Northern Siberia. (eingereicht)

FLEMMING, C. (2001) Geochemische und korngößenbestimmende Untersuchungen von Seesedimenten aus dem Polar Ural (Lehrlingsarbeit, unveröffentlicht). angefertigt im Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung Potsdam

FRANZMANN, P.D.; LIU, Y.; BALKWILL, D.L.; ALDRICH, H.C.; BOONE, D.R. (1997) Isolation and characterization of psychrophilic, H₂-using methanogen from Ace Lake, Antarctica. *Int. Journal Syst. Bacteriol.* **47**, 1068-1072

FRENCH, H.M. (1996) *The Periglacial Environment*. Longman Singapore Publishers, Singapore

FRENZEL, P. & BOSSE, U. (1996) Methyl fluoride, an inhibitor of methane oxidation and methane production. *FEMS Microbiology Ecology* **21**, 25-36

FUNG, I.; JOHN, J.; LERNER, J.; MATTHEWS, E.; PRATHER, M.; STEELE, L.P.; FRASER, P.J. (1991) Three -dimensional model synthesis of the globale methane cycle. *Journal of Geophysical Research* **96 D**, 13033-13065

GEBERT, J. (1998) Methanabbau in einem Biofiltersystem (Diplomarbeit), Hamburg

GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER/FACHGRUPPE WASSERCHEMIE (1988) *Deutsche Einheits-verfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung*, VCH Weinheim

GREGORICH, E.G.; BEARE, M.H.; STOKLAS, U.; ST-GEORGES, P. (2003) Biodegradability of soluble organic matter in maize-cropped soils. *Geoderma* **113**, 237-252

GUNDELWEIN, A. (1998) Eigenschaften und Umsetzung organischer Substanz in nordsibirischen Permafrostböden. *Hamburger Bodenkundliche Arbeiten* **39**, 162 S.

HAHN, D.; AMANN, R.; LUDWIG, W.; AKKERMANS, A.D.L.; SCHLEIFER, K.-H. (1992) Detection of microorganisms in soil after in situ hybridization with rRNA targeted fluorescently labeled oligonucleotides. *Journal Gen. Microbiol.* **138**, 879-887

HANSON, R.S. & HANSON, T.E. (1996) Methanotrophic Bacteria. *Microbiological Review* **60** No. 2, 439-471

HARGRAVES, K.J. & FOWLER, D. (1998) Quantifying the effects of water table and soil temperature on the emission of methane from peat wetland at the field scale. *Atmospheric Environment* **32**, 3275-3282

HARTKE, K.H. & HORN, R. (1989) *Die physikalische Untersuchung von Böden*. Ferdinand-Verlag Stuttgart

HENCKEL, T.; JÄCKEL, U.; CONRAD, R. (2001) Vertical distribution of the methanotrophic community after drainage of rice field soil. *FEMS Microbiology Ecology* **34**, 279-291

Henckel, T.; Roslev, P.; Conrad, R. (2000) Effects of O₂ and CH₄ on presence and activity of the indigenous methanotrophic community in rice field soil. *Environmental Microbiology* **2** (6), 666-679

HORIKOSHI, K. & GRANT, W. D. (1998) *Extremophiles - Microbial Life in Extreme Environments*. John Wiley & Sons (Hrsg.)

HORZ, H.-P.; RAGHUBANSHI, A. S.; HEYER, J.; KAUFMANN, C.; CONRAD, R.; DUNFIELD, P. F. (2002) Activity and community structure of methane-oxidising bacteria in a wet meadow soil. *FEMS Microbiology Ecology* **41**, 247-257

- JOABSSON, A. & CHRISTENSEN, T. R. (2001) Methane emissions from wetlands and their relationship with vascular plants: an Arctic example. *Global Change Biology* **7**, 919-932
- KALBITZ, K.; SCHMERWITZ, J.; SCHWESIG, D.; MATZNER, E. (2003) Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties. *Geoderma* **113**, 273-291
- KASSENS, H.; BAUCH, H.; DMITRENKO, I.; EICKEN, H.; HUBBERTEN, H.-W.; Melles (1999) *Land-Ocean systems in the Siberian Arctic. dynamics and history*. Springer-Verlag Berlin
- KHALIL, M.A.K.; RASMUSSEN, R.A.; SHEARER, M.J. (1998) Effects of production and oxidation processes on methane emissions from rice fields. *Journal of Geophysical Research* **103**, 25233-25239
- KING, G.M. (1990) Dynamics and controls of methane oxidation in a Danish wetland sediment. *FEMS Microbiology Ecology* **74**, 309-323
- KNOBLAUCH, C. (1994) Bodenkundlich-mikrobiologische Bestandsaufnahme zur Methanoxidation in einer Flußmarsch der Tide-Elbe (Diplomarbeit), Hamburg
- KOBABE, S. (2001) Vergleichende Untersuchungen zu den Methanflüssen verschiedener arktischer Habitate des Lenadeltas/Laptevsee (Sibirien) (Diplomarbeit), Hamburg
- KOTSYURBENKO, O.R.; NŌZHEVNIKOVA, A.N.; ZAVARZIN, G.A. (1993) Methanogenic degradation of organic matter by anaerobic bacteria at low temperature. *Chemosphere* **27**, 1745-1761
- KRÜGER, M. (2000) Mikrobielle Regulation der Methanemission aus Reisfeldern (Dissertation), Marburg

- KRÜGER, M.; ELLER, G.; CONRAD, R.; FRENZEL, P. (2002) Seasonal variation in pathways of CH₄ production and in CH₄ oxidation in rice fields determined by stable carbon isotopes and specific inhibitors. *Global Change Biology* **8**, 265-280
- KUTZBACH, L.; WAGNER, D.; PFEIFFER, E.-M. (2003) Effect of microrelief and vegetation on methane emission from wet polygonal tundra, Lena Delta, Northern Siberia. *Biochemistry* (eingereicht)
- KUTZBACH L. (2000) Die Bedeutung der Vegetation und bodeneigener Parameter für die Methanflüsse in Permafrostböden (Diplomarbeit), Hamburg
- LARA, R.J.; RACHOLD, V.; KATTNER, G.; HUBBERTEN, H.W.; GUGGENBERGER, G.; SKOOG, A.; THOMAS, D.N. (1998) Dissolved organic matter and nutrients in the Lena River, Siberian Arctic: Characteristics and distribution. *Marine Chemistry* **59**, 301-309
- LEAK, D.J.; DALTON, H. (1986) Growth yields of methanotrophs. *Applied Microbiology Biotechnology* **23**, 477-481
- LINDAHL, V. & BAKKEN, L.R. (1995) Evaluation of methods for extraction of bacteria from soil. *FEMS Microbiology Ecology* **16**, 135-142
- MACALADY, J. L.; McMILLAN, A. M. S.; DICKENS, A. F.; TYLER, S. C.; SCOW, K. M. (2002) Population dynamics of type I and II methanotrophic bacteria in rice soils. *Environmental Microbiology* **4(3)**, 148-157
- MARSCHNER, B. & KALBITZ, K. (2003) Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma* **113**, 211-235
- MATTHEWS, E. & FUNG, I. (1987) Methane emissions from natural wetlands: global distribution, area, and environmental characteristics of sources. *Global Biochemical Cycles* **1**, 61-86

- MCDONALD; UPTON, M.; HALL, G.; PICKUP, R.W.; EDWARDS, C.; SAUNDERS, J.R.; RITCHIE, D.A.; MURRELL, J.C. (1999) Molecular Ecological Analysis of Methanogens and Methanotrophs in Blanket Bog Peat. *Microbial Ecology* **38**, 225-233
- MER, J. LE & ROGER, P. (2001) Production, oxidation, emission and consumption of methane by soils: A review. *Eur. J. Soil Biol.* **37**, 25-50
- MORITA, R. Y. (1975) Psychrophilic bacteria. *Bacteriol. Rev.* **29**, 144-167
- MOTER, A. & GÖBEL, U.B. (2000) Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms (invited review). *Journal of Microbiological Methods* **41**, 85-112
- MÜLLER, K. (1997) Oberflächenstrukturen und Eigenschaften von Permafrostböden im nordsibirischen Lena-Delta. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* **160**, 497-503
- MURRELL, J., C.; MCDONALD, R.; BOURNE (1998) Molecular methods for the study of methanotrophic ecology. *FEMS Microbiology Ecology* **27**, 103-114
- NAKANO, T.; KUNIYOSHO, S.; FUKUDA, M. (2000) Temporal variation in methane emission from tundra wetlands in a permafrost area, northeastern Siberia. *Atmospheric Environment* **34**, 1205-1213
- NEDWELL, D.B. (1999) Effect of low temperature on microbial growth: lowered affinity for substrates limits growth at low temperature. *FEMS Microbiology Ecology* **30**, 101-111
- NOLD, S.,C.; BOSCHKE H. T.; PEL, S. R.; LAANBROEK, J. (1999) Ammonium addition inhibits ¹³C-methane incorporation into methanotroph membrane lipids in a freshwater sediment. *FEMS Microbiology Ecology* **29**, 81-89
- NOZHEVNIKIVA, A., N.; ZEPPE, K.; VAZQUEZ, F.; ZEHNDER, A., J., B.; HOLLIGER, C. (2003) Evidence for the Existence of Psychrophilic Methanogenic Communities in

Anoxic Sediments of Deep Lakes. *Applied and Environmental Microbiology* **69**, 1832-1835

OMELCHENKO; VASILYEVA; ZAVARZIN (1993) Psychrophilic Methanotroph from Tundra Soil. *Current Microbiology* **27**, 255 – 259

OREMLAND, R.S. (1988) Biochemistry of methanogenic bacteria. In: *Biology of anaerobic microorganisms*, (Zehnder AJB, Hrsg.), John Wiley and Sons, New York

PANIKOV, N.S. & DEDYSH, S.N. (2000) Cold season CH₄ and CO₂ emission from boreal peat bogs (West Siberia): winter fluxes and thaw activation dynamics. *Global Biochemical Cycles* **14**, 1071-1080

PERNTHALER, J.F.O.; GLOECKNER, W.; SCHÖNHUBER, W.; AMANN, R. (2001) Fluorescence in situ hybridization (FISH) with rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Methods in Microbiology: Marine Microbiology* **30**, 207-226

PFEIFFER, E.-M. (1998) Methanfreisetzung aus hydromorphen Böden verschiedener naturnaher und genutzter Feuchtgebiete (Marsch, Moor, Tundra, Reisanbau). *Hamburger Bodenkundliche Arbeiten* **37**, 208 S.

PFEIFFER, E.-M.; GRIGORYEV, M. (2002) Russian-German Cooperation SYSTEM LAPTEV-SEA 2000: The Expedition Lena 2001. *Reports on Polar and Marine Research* **426**, Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, Bremerhaven

PFEIFFER, E.-M.; WAGNER, D.; KOBABE, S.; KUTZBACH, L.; KURCHATOVA, A.; STOOF, G.; WILLE, C. (2002) Modern processes in permafrost affected soils. In: *Expeditions in Siberia in 2001* (Pfeiffer, E.-M. & Grigoryev, N.; Hrsg.) Reports on Polar Research **426**, 21-43. Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, Bremerhaven

POST, W.M.; EMANUEL, W.R.; ZINKE, P.J.; STANGENBERGER, A.G. (1982) Soil carbon pools and world life zones. *Nature* **298**, 156-159

RACHOLD, V. & GRIGORYEV, M. (1999) Russian-German Cooperation SYSTEM LAPTEV-SEA 2000: The Lena Delta 1998. *Reports on Polar and Marine Research* **316**, Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, Bremerhaven

RACHOLD, V. & GRIGORYEV, M. (2000) Russian-German Cooperation SYSTEM LAPTEV-SEA 2000: The Lena Delta 1999. *Reports on Polar and Marine Research* **354**, Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, Bremerhaven

RACHOLD, V. & GRIGORYEV, M. (2001) Russian-German Cooperation SYSTEM LAPTEV-SEA 2000: The Lena Delta 2000. *Reports on Polar and Marine Research* **388**, Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, Bremerhaven

RASMUSSEN, R.A. & KHALIL, M.A.K. (1981) Atmospheric methane (CH₄): Trends and seasonal cycles. *J. Geophys. Res.* **86 (C10)**, 9826-9832

RITCHIE; EDWARDS; McDONALD; Murrell (1997) Detection of methanogens and methanotrophs in natural environments. *Global Change Biology* **3**, 339-350

ROMANOVSKII, N.N. & HUBBERTEN, H.-W. (2001) Results of permafrost modelling of the lowlands and shelf of the Laptev Sea region, Russia. *Permafrost and Periglacial Processes* **12**, 191-202

ROSLEV, P. & KING, G.M. (1996) Regulation of methane oxidation in a freshwater wetland by water table changes and anoxia. *FEMS Microbiology Ecology* **19**, 105-115

RUSSELL, N.J. (1992) Physiology and molecular biology of psychrophilic microorganisms, In: *Molecular Biology and Biotechnology of Extremophiles*, (Herbert RA, Sharp RJ, Hrsg.) Glasgow & London, 203-224

SAMARKIN V.A.; GUNDELWEIN, A.; PFEIFFER, E.-M. (1999) Studies of methane production and emission in relation to the microrelief of a polygonal tundra in Northern Siberia. In: *Land-Ocean Systems in the Siberian Arctic*, (Kassens; Bauch; Dmitrenko; Eicken; Hubberten; Melles; Thiede; Timokhov; Hrsg.) Springer-Verlag, 329-342

SCHEFFER, F. & SCHACHTSCHABEL, P. (1998) *Lehrbuch der Bodenkunde*, 14. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart

SCHIMEL, J.P. & CLEIN, J.S. (1996) Microbial response to freeze-thaw cycles in tundra and taiga soils. *Soil Biol. Biochem.* **28**, 1061-1066

SCHLESINGER, M.E. & MITCHELL, J.F.B. (1987) Climate model simulations of the equilibrium climatic response to increased carbon dioxide. *Rev. Geophys.* **25**, 760-798

SCHWAMBORN, G.; SCHNEIDER, W.; GRIGORYEV, M. (1999) Sedimentation and environmental history of the Lena Delta. In: *Expeditions in Siberia in 1998, Reports on Polar Research* **315**, (Rachold V, Hrsg.), Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, Bremerhaven, 94-111

SCHWAMBORN, G.; RACHOLD, V.; GRIGORIEV, M.N. (2002) Late Quaternary sedimentation history of the Lena Delta. *Quaternary International* **89**, 119-134

SEGERS, R. (1998) Methane production and methane consumption: a review of processes underlying wetland methane fluxes. *Biochemistry* **41**, 23-51

SOIL SURVEY STAFF (1998) *Keys to Soil Taxonomy*, 8. Auflage, Lincoln, Nebraska: USDA-The National Resources Conservation Service

SVENNING, M.M.; WARTIAINEN, I.; HESTNES, A.; G.; BINNERUP, S.J. (2003) Isolation of methane oxidising bacteria from soil by use of a soil substrate membrane system. *FEMS Microbiology Ecology* **44**, 347-354

SVENSSON, B.H. & ROSSWALL, T. (1984) In situ methane production from acid peat in plant communities with different moisture regimes in a subarctic mire. *Oikos* **43**, 341-350

TORN, M.S. & CHAPIN III., F.S. (1993) Environmental and biotic controls over methane flux from Arctic tundra. *Chemosphere* **26**, 357-368

TROTSSENKO, Y.A.; KHMELENINA, V.N. (2002) Biology of extremophilic and extremotolerant methanotrophs. *Arch. Microbiol.* **177**, 123-131

VALENTINE, D. L. & REEBURGH, W. S. (2000) New perspectives on anaerobic methane oxidation. *Environmental Microbiology* **2(5)**, 477-484

VAN BODEGOM, P.; STAMS, F.; MOLLEMA, L.; BOEKE, S.; LEFFELAAR, P. (2001) Methane Oxidation and the Competition for Oxygen in the Rice Rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology* **67**, 3586-3597

VAN DE VOSSENBERG, J.L.; DRIESSEN, A.J.M.; KONINGS, W.N. (1998) The essence of being extremophilic, the role of the unique archaeal membrane lipids. *Extremophiles* **2**, 163-170

VECHERSKAYA, M. S.; GALCHENKO, V. F.; SOKOLOVA, E. N.; SAMARKIN, V. A. (1993) Activity and species composition of aerobic methanotrophic communities in tundra soils. *Current Microbiology* **27**, 181-184

WAGNER, D. (1998) Einfluss von Temperatur, Sauerstoff und organischer Substanz auf die Methanogenese in hydromorphen Böden, *Hamburger Bodenkundliche Arbeiten* **40**, 153 S.

WAGNER, D.; PFEIFFER, E.-M.; BOCK, E. (1999) Methane production in aerated marshland and model soils: effects of microflora and soil texture. *Soil Biology and Biochemistry* **31**, 999-1006

WAGNER, D.; KUTZBACH, L.; BECKER, H.; VLASENKO, A.; PFEIFFER, E.-M. (2000) Seasonal variability of trace gas emission (CH₄, CO₂) and in situ process studies. In: *Expeditions in Siberia in 1999* (Rachold, V.; Hrsg.) Reports on Polar Research **354**, 22-54. Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, Bremerhaven

WAGNER, D.; KURCHATOVA, A.; STOOF, G. (2001) Modern processes in permafrost affected soils. In: *Expeditions in Siberia in 2000* (Rachold, V.; Hrsg.) Reports on Polar Research **388**. Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, Bremerhaven

WAGNER, D.; KUTZBACH, L.; WILLE, C.; KOBABE, S.; SPOTT, O.; KURCHATOVA, A.; GRIGORIEV, M.N.; STOOF, G.; SCHNEIDER, W.; ABRAMOVA, E.N.; MEYER, H.; KUZMINA, S.; WETTERICH, S.; BOLSHIYANOV, D.; FEDOROVA, I.; TRETIKOV, M.; PFEIFFER, E.-M. (2003) 3. Ecological studies on permafrost soils and landscapes of the central Lena Delta. In: *Russian-German Cooperation System Laptev Sea 2000: The Expedition LENA 2002*. (Grigoriev M.N., Rachold V., Bolshianov D.Y., Schirrmeister L., Wagner D., Pfeiffer E.-M. and Hubberten H.-W.; Hrsg.) Reports on Polar Research (im Druck)

WAGNER, D.; SPIECK, E.; BOCK, E.; PFEIFFER, E.-M. (2001) Microbial life in terrestrial permafrost: methanogenesis and nitrification in Gelisols as potentials for exobiological processes. In: *Astrobiology: the quest for conditions of life*, (Horneck, G; Baumstark-Khan, C.; Hrsg.), Springer-Verlag Berlin, 143-159

WAGNER, D.; KOBABE, S.; PFEIFFER, E.-M.; HUBBERTEN, H.-W. (2003) Microbial Controls on Methane Fluxes from a Polygonal Tundra of the Lena Delta, Siberia. *Permafrost and Periglacial Processes* **14**, 173-185

WASHBURN, A.L. (1979) *Geocryology. A survey of periglacial processes and environments*. London: Arnold. 406 S.

WHALEN, S.C. & REEBURGH, W.S. (1992) Interannual variations in tundra methane emission: A 4-year time series at fixed sites. *Global Biochemical Cycles* **6**, 139-159

WHALEN, S. C. & REEBURGH, W. S. (1990) Consumption of atmospheric methane by tundra soils. *Nature* **346**, 160-162

WHALEN, S.C.; REEBURGH, W.S.; KIZER, K.S. (1991) Methane consumption and emission by taiga. *Global Biochemical Cycles* **5**, 261-273

WHALEN, S.C. & REEBURGH, W.S. (1992) Interannual variations in tundra methane emission: a 4-year time series at fixed sites. *Global Biochemical Cycles* **6**, 139-159

WHITTENBURY, R.; PHILIPS, K. C.; WILKINSON, J. F. (1970) Enrichment, isolation, and some properties of methane-utilizing bacteria. *J. Gen. Microbiol* **61**, 205-218

WUEBBLES, D.J. & HAYHOE, K. (2002) Atmospheric methane and global change. *Earth-Science Reviews* **57**, 177-210

ZARDA, B.; HAHN, D.; CHATZINOTAS, A.; SCHÖNHUBER, W.; NEEF, A.; AMANN, R.I.; ZEYER, J. (1997) Analysis of bacterial community structure in bulk soil by in situ hybridization. *Arch. Microbiol.* **168**, 185-192

ZAVARZIN, G.A. (1995) Söhngen Psychrophilic Cycle. *Ecol. Chem.* **4(1)**, 3-12

ZHANG, T.; BARRY, R.G.; KNOWLES, K.; HEGINBOTTON, J.A.; BROWN, J. (1999) Statistics and characteristics of permafrost and ground-ice distribution in the northern hemisphere. *Polar Geography* **23(2)**, 132-154

A Anhang

Tabelle A-1.: Korngrößenverteilung im *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley); angegeben in Masseprozent

Tiefe unter GOF (cm)	Anteil des Substrates am Gesamtgewicht (%)								
	T	fU	mU	gU	U gesamt	fS	mS	gS	S gesamt
0-5	11,1	17,9	22,6	24,3	64,8	23,6	0,5	0,2	24,2
5-9	20,2	19,8	25,9	15,8	61,4	16,4	1,4	0,6	18,4
9-18	18,3	21,0	28,2	14,3	63,5	17,1	1,1	0,0	18,2
18-20	SANDBAND								
20-35	20,2	14,0	25,3	23,4	62,7	14,2	2,7	0,1	17,1
35-40	20,4	14,5	24,8	16,3	55,6	23,4	0,3	0,4	24,0
40-52	17,6	16,7	28,4	22,6	67,7	13,8	0,3	0,5	14,7

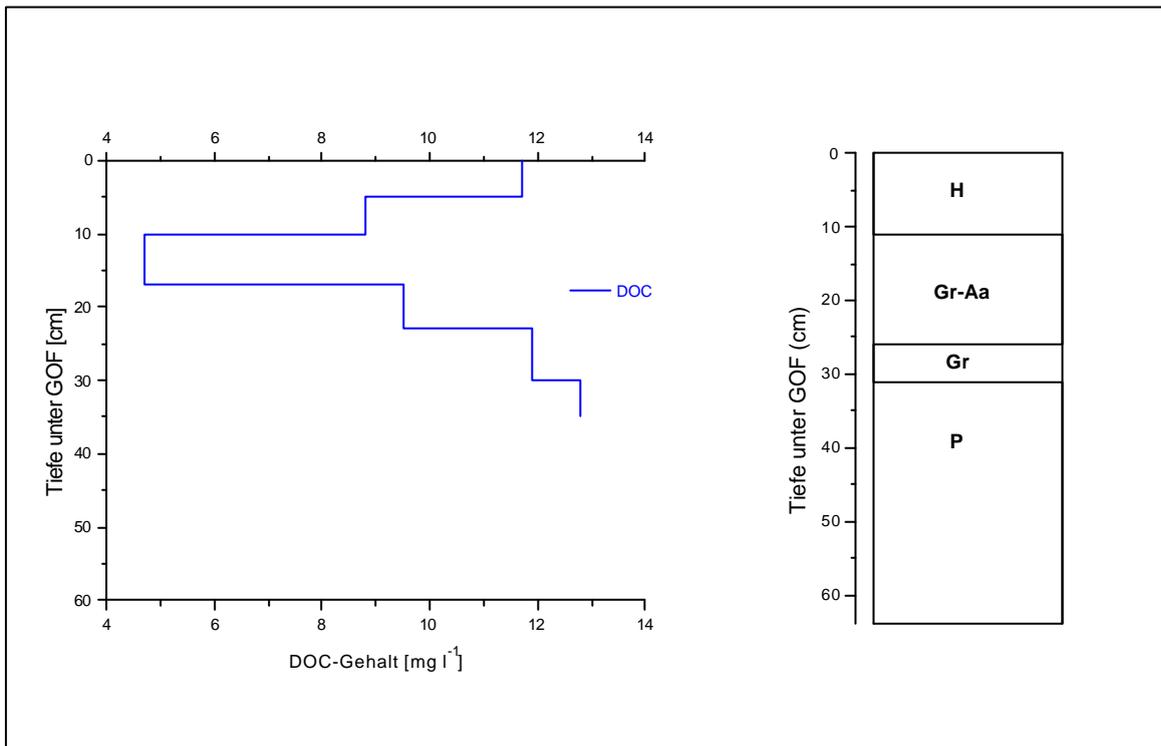


Abbildung A-1.: Gehalt an gelöstem organischem Kohlenstoff (DOC) im *Typic Historthel* (Tundra-Moorgley); bezogen auf mg l⁻¹ Bodenlösung

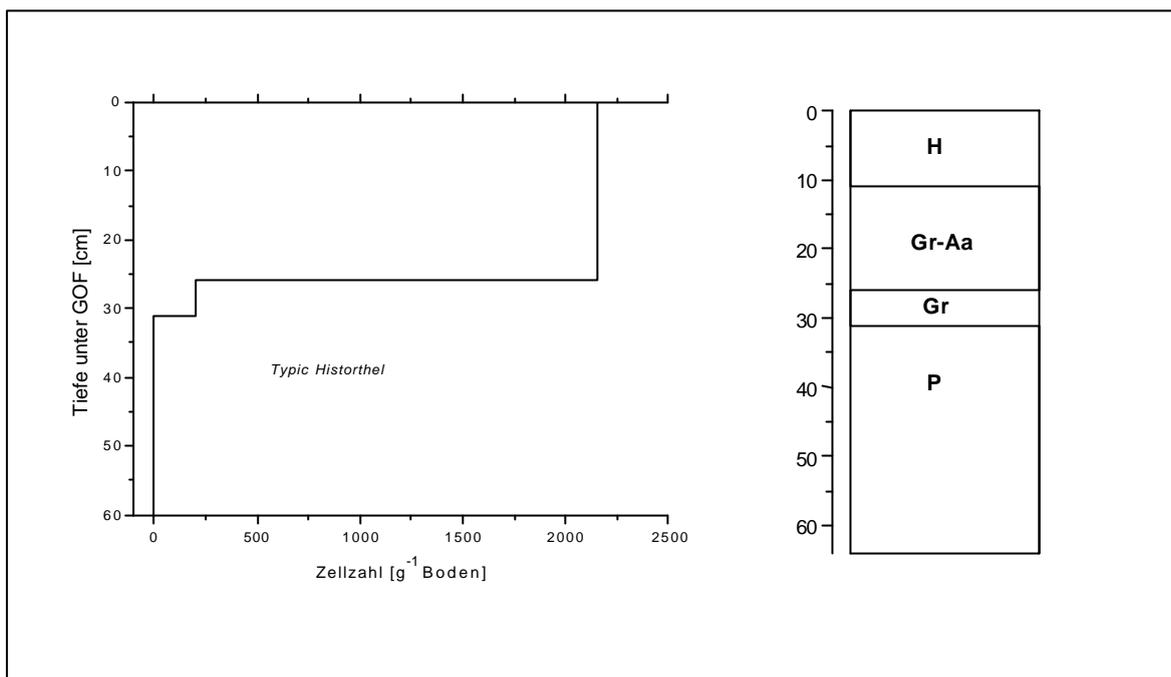


Abbildung A-2.: Zellzahlen (MPN-Methode) der Methan oxidierenden Bakterien im *Typic Historthel* (KUTZBACH 2000 entnommen)

Tabelle A-2.: potentielle Methanoxidationsaktivität im *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley) bei 21 °C, 10 °C, 4 °C und 0°C

Tiefe unter GOF (cm)	Methanoxidation in der Zeit 0 - 50 h (Abbau in $\text{nmol h}^{-1} \text{g}^{-1}$ [FG])			
	21 °C	10 °C	4 °C	0 °C
0-5	45,6	27,68	16,49	14,64
5-9	17,47	9,96	18,6	10,93
9-18	14,69	16,25	10,35	12,3
18-35	13,93	11,31	7,57	11,04
35-40	16,42	12,82	6,02	9,43
40-52	16,36	20,56	50,37	13,05
>52	15,57	20	43,23	11,53

Tabelle A-3: Methanoxidationsaktivität unter *in-situ*-Bedingungen und *in-situ* Bodentemperaturen im *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley)

Tiefe unter GOF (cm)	Methanoxidationsaktivität (nmol h ⁻¹ g ⁻¹ [FG])	Temperatur (°C)
0-5	75,62 ± 3,20	17,5
5-9	39,43 ± 1,85	14,2
9-18	14,73 ± 1,47	8,25
18-35	26,33 ± 0,97	4,25
35-40	16,63 ± 1,71	1,9

Tabelle A-4: potentielle Methanoxidationsaktivität im *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley) bei einer Methanaustragskonzentration von 1000 ppm, 2000 ppm, 5000 ppm und 21000 ppm

Tiefe unter GOF (cm)	21000 ppm	5000ppm	2000ppm	1000ppm
0-5	244,91 ± 16,58	301,36 ± 9,98	132,61 ± 3,32	79,91 ± 1,32
5-9	237,06 ± 40,70	290,71 ± 11,61	126,56 ± 3,68	77,41 ± 0,92
9-18	212,99 ± 25,82	263,43 ± 15,11	108,2 ± 7,94	68,51 ± 3,28
18-35	217,79 ± 64,87	126,13 ± 40,71	105,26 ± 12,91	79,16 ± 5,17
35-40	282,51 ± 28,26	244,8 ± 5,34	116,82 ± 2,98	80,84 ± 1,82
40-52	311,81 ± 25,86	175,17 ± 9,58	110,2 ± 2,17	81,48 ± 2,02
>52	670,31 ± 184,97	320,14 ± 2,97	127,21 ± 2,96	85,6 ± 2,22

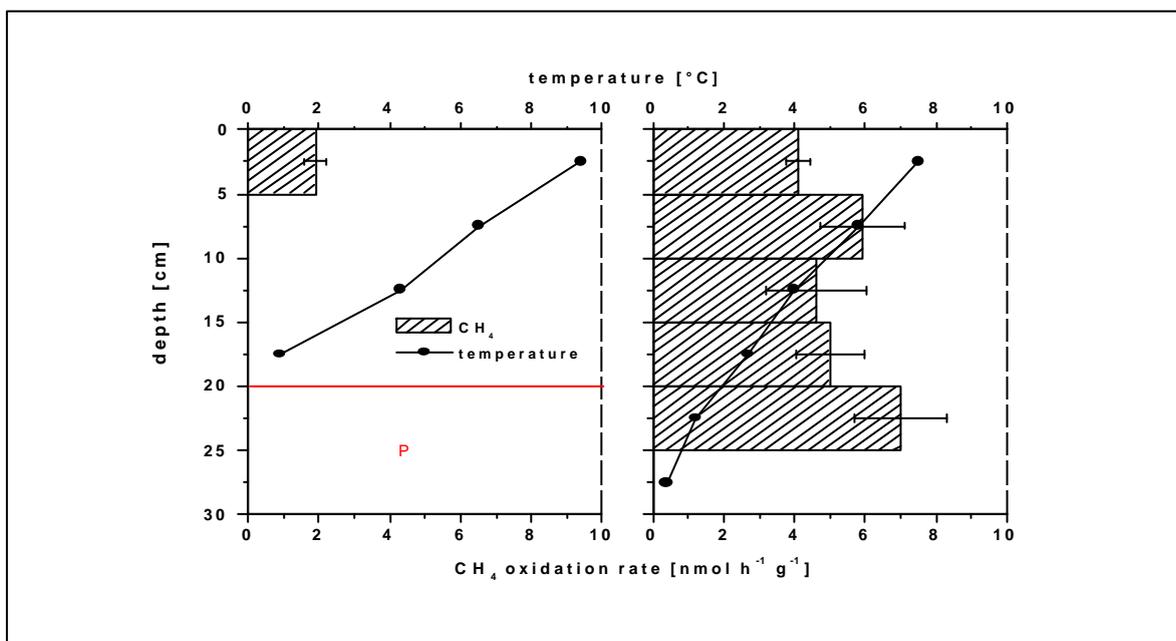


Abbildung A-3: Methanoxidationsaktivität unter *in-situ*-Bedingungen und *in-situ* Temperaturen im Tiefenprofil des *Typic Historthel* (Tundra-Moorgley); links: Anfang Juli 1999, rechts: Anfang August 1999 (WAGNER et. al 2003 entnommen)

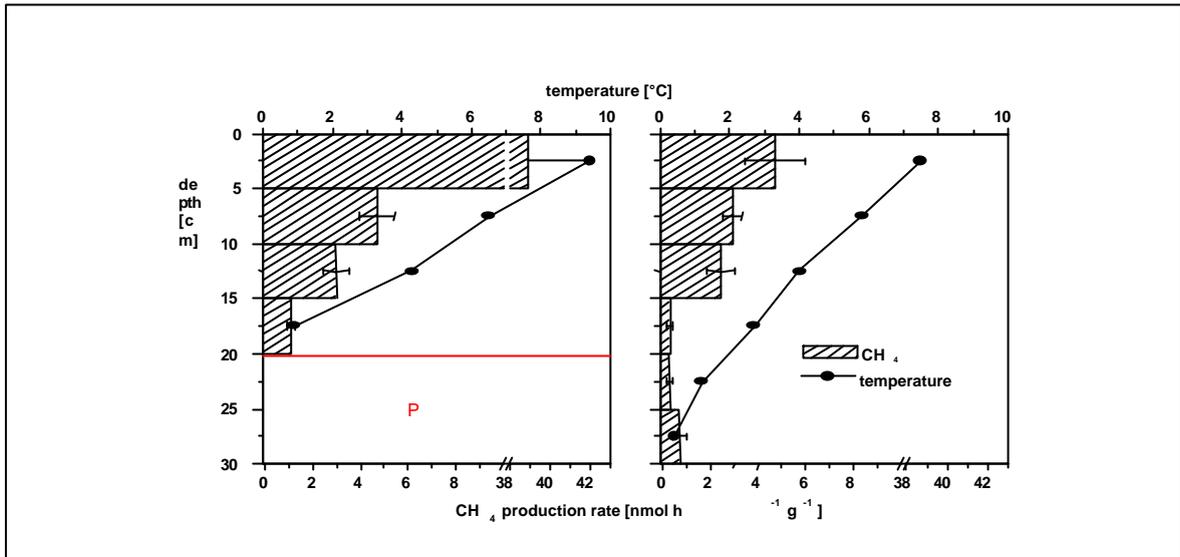


Abbildung A-4.: Methanbildungsaktivität unter *in-situ*-Bedingungen und *in-situ* Temperaturen im Tiefenprofil des *Typic Historthel* (Tundra-Moorgley); links: Anfang Juli 1999, rechts: Anfang August 1999 (WAGNER et al. 2003 entnommen)

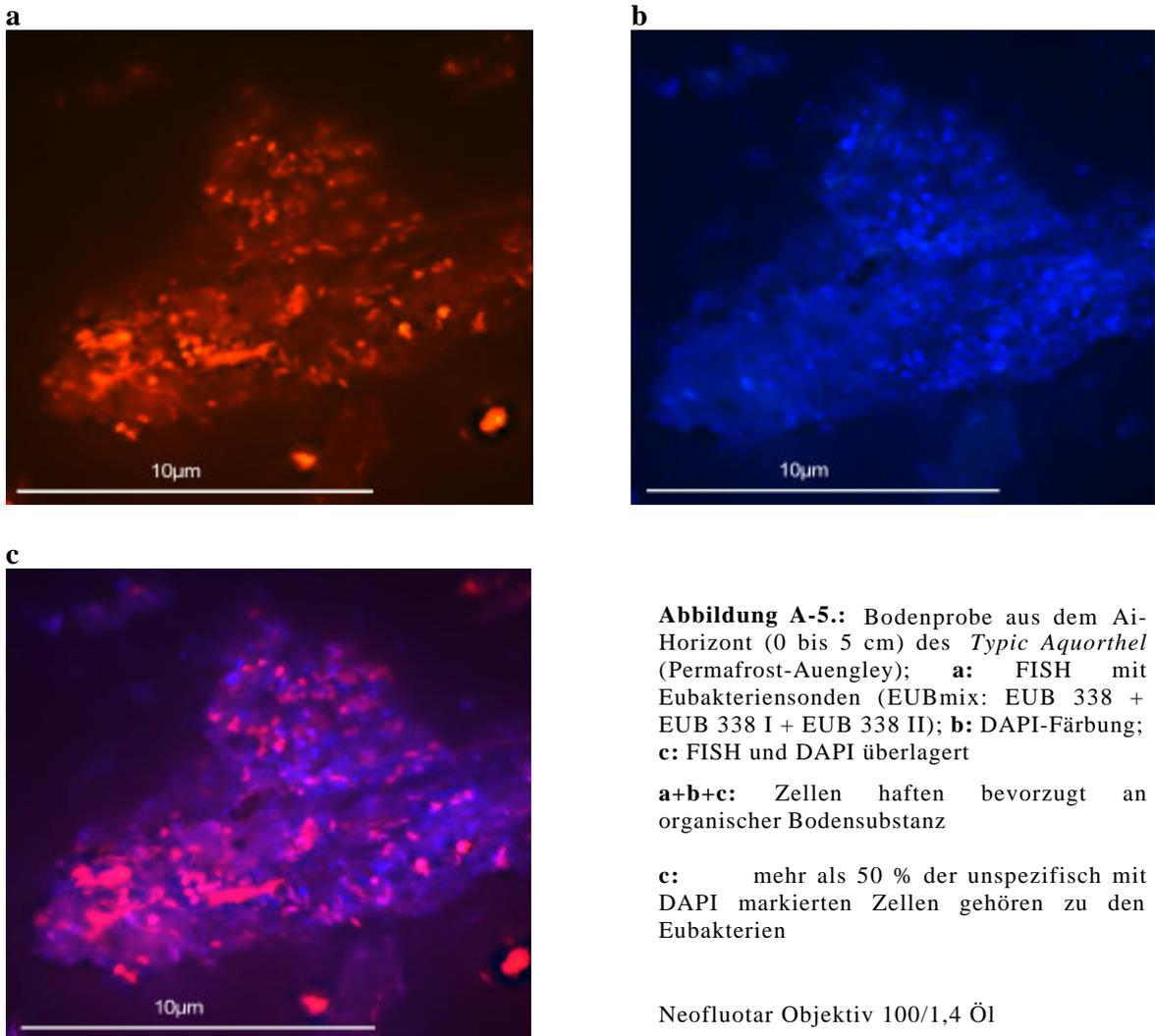


Abbildung A-5.: Bodenprobe aus dem Ai-Horizont (0 bis 5 cm) des *Typic Aquorthel* (Permafrost-Auengley); **a:** FISH mit Eubakteriensonden (EUBmix: EUB 338 + EUB 338 I + EUB 338 II); **b:** DAPI-Färbung; **c:** FISH und DAPI überlagert

a+b+c: Zellen haften bevorzugt an organischer Bodensubstanz

c: mehr als 50 % der unspezifisch mit DAPI markierten Zellen gehören zu den Eubakterien

Neofluotar Objektiv 100/1,4 Öl