

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 <u>Vegetationsschäden</u>	1
1.1.1 Baumschäden durch Gasaustritte	1
1.2 <u>Methan</u>	5
1.2.1 Bedeutung von Methan	5
1.2.2 Methan – Quellen und Senken	6
1.2.3 Methanotrophe Bakterien	9
2 Zielsetzung	15
3 Material und Methoden	16
3.1 <u>Untersuchungsgegenstand</u>	16
3.1.1 Straßenstandorte	16
3.1.2 Pflanzgefäße	17
3.1.3 Probenahme und -vorbereitung	18
3.2 <u>Materialien</u>	18
3.2.1 Chemikalien	18
3.2.2 Organismen und deren Lagerung	18
3.3 <u>Bodenphysikalische und–chemische Methoden</u>	19
3.3.1 Gasanalysen	19
3.3.2 Bodenphysikalische Untersuchungen	19
3.3.3 Bodenchemische Methoden	20
3.3.3.1 <i>Bestimmung des Gehaltes an pflanzenverfügbaren Nährstoffen</i>	20
3.3.3.2 <i>Isotopensignatur von Methan und Kohlendioxid</i>	20
3.4 <u>Bodenbiologische Methoden</u>	21
3.5 <u>Mikrobiologische Methoden</u>	21
3.5.1 Nährmedien und Kultivierungsbedingungen	21
3.5.2 Herstellung einer Bodensuspension	22
3.5.3 Bestimmung der koloniebildenden Einheiten (KBE)	23
3.5.4 Mikro-MPN methanotropher Bakterien	23
3.5.5 Bestimmung der Biomassekonzentration	23
3.5.6 BIOLOG	24
3.5.7 Anreicherung methanotropher Bakterien	24
3.5.8 Isolierung methanotropher Bakterien	25

3.5.9 Charakterisierung methanotropher Isolate	26
3.5.9.1 Bestimmung der sMMO-Aktivität	26
3.5.9.2 Bestimmung spezifischer Enzymaktivitäten	27
3.5.9.3 Bestimmung des Fettsäurespektrums	27
3.5.9.4 Elektronenmikroskopische Untersuchung	27
3.6 <u>Molekularbiologische Methoden</u>	28
3.6.1 DNA-Extraktion aus Bakterien	28
3.6.2 DNA-Extraktion aus dem Boden	28
3.6.3 DNA-Aufreinigung	29
3.6.4 DNA-Reinheits- und Konzentrationsbestimmung	29
3.6.5 PCR	30
3.6.6 Elektrophorese	32
3.6.7 Denaturierende Gradienten-Gelelektrophorese (DGGE)	33
3.6.8 Silbernitratfärbung	35
3.6.9 Phylogenetische Einordnung	35
4 Ergebnisse	36
4.1 <u>Standortcharakterisierung</u>	36
4.1.1 Bodenluftzusammensetzung	36
4.1.2 Bodenphysikalische und –chemische Charakterisierung	41
4.1.3 Biologische Charakterisierung	42
4.2 <u>Pflanzgefäße</u>	45
4.2.1 Bodenluftzusammensetzung	45
4.2.2 Bodenphysikalische Charakterisierung	47
4.2.3 Bodenchemische Charakterisierung	48
4.2.4 Mikrobiologische Charakterisierung	50
4.3 <u>Methanotrophe Isolate aus erdgasbeeinflußten Straßenböden</u>	55
4.3.1 Anreicherung und Isolierung methanotropher Bakterien	55
4.3.2 Charakterisierung methanotropher Isolate	59
4.3.2.1 Morphologie	59
4.3.2.2 Physiologie	63
4.3.2.3 Biochemie	64
4.3.2.4 Phylogenetische Einordnung	68
4.4 <u>Molekularbiologische Analyse erdgasbeeinflußten Bodens</u>	70
4.4.1 DNA-Extraktion	70

4.4.2 Verteilung verschiedener Gattungen methanotropher Bakterien	72
4.5 <u>Sanierungsansatz</u>	79
5 Diskussion	84
5.1 <u>Einfluß des Erdgases auf bodenphysikalische, -chemische und</u> <u>-biologische Kenngrößen</u>	84
5.2 <u>Methanotrophe Isolate aus erdgasbeeinflußten Straßenböden</u>	90
5.2.1 Erdgasbeeinflußter Straßenboden als Habitat für Methanotrophe.....	90
5.2.2 Anpassungen der Isolate an das Habitat.....	91
5.2.3 Anreicherungs- und Isolierungsstrategien	93
5.3 <u>Molekularbiologische Charakterisierung der methano-</u> <u>tropen Lebensgemeinschaft in Pflanzgefäßen</u>	97
5.4 <u>Sanierungsvorschläge für erdgasbeeinflußte Straßenböden</u>	104
7 Zusammenfassung.....	109
8 Literatur	112