

Veröffentlichungen aus dem Technologiezentrum Wasser

Band 98 – Nachweis, Dynamik und Stimulation der Denitrifikation in Gewässern

INHALTSVERZEICHNIS

Zusammenfassung	I
Abstract	III
Inhaltsverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	VII
Tabellenverzeichnis	IX
Abbildungsverzeichnis	XII
1. Einleitung	1
1.1. Ausgangssituation	1
1.2. Aufgabenstellung und Ziel der Arbeit	5
2. Theoretische Grundlagen.....	7
2.1. Stickstoffkreislauf und anthropogene sowie natürliche Einflüsse	7
2.1.1. Der Stickstoffkreislauf	7
2.1.2. Denitrifikation – Molekularbiologie und Regulationsfaktoren	12
2.1.3. Einflüsse auf den Stickstoffkreislauf und Konsequenzen	16
2.1.4. Stimulierung der Denitrifikation	22
2.2. Molekularbiologische Hintergründe zum Nachweis der Denitrifikanten	25
2.2.1. Genexpression und Analyse der messenger RNA	25
2.2.2. Extraktion von mRNA und cDNA Synthese.....	28
2.2.3. Analyse von DNA und mRNA mittels PCR und qPCR	29
2.2.4. Primerauswahl und degenerative Primer	33
3. Material und Methoden.....	36
3.1. Verwendete Chemikalien, Geräte und Verbrauchsmaterialien	36
3.2. Physikalische und chemische Analytik	36
3.2.1. Bestimmung von pH-Wert, Temperatur, Leitfähigkeit und gelöstem Sauerstoff.....	36
3.2.2. Bestimmung der Ammonium-Konzentration	36
3.2.3. Gelöster organischer Kohlenstoff (DOC)	36

3.2.4.	Ionenchromatographie (IC).....	37
3.3.	Mikrobiologische und molekularbiologische Methoden.....	37
3.3.1.	Durchflusszytometrie.....	37
3.3.2.	Most Probable Number (MPN)	38
3.3.3.	DNA Extraktion.....	39
3.3.4.	RNA Extraktion.....	39
3.3.5.	DNase-Verdau mit dem Turbo DNA- <i>free</i> [™] Kit.....	40
3.3.6.	cDNA Synthese mit dem High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit	41
3.3.7.	Verwendete Primer und Bioinformatik.....	42
3.3.8.	Polymerasekettenreaktion (PCR)	45
3.3.9.	Kapillargelelektrophorese mit QIAxcel DNA Screening Kit	46
3.3.10.	Herstellung von Vektor-basierten Standards.....	46
3.3.11.	Quantitative Polymerase-Kettenreaktion (qPCR).....	48
3.4.	Probennahme und Versuche	51
3.4.1.	Probennahmen, Membranfiltration und Probenkonservierung.....	51
3.4.2.	Batchversuch mit der Reinkultur <i>Pseudomonas veronii</i>	52
3.4.3.	Oberflächenwasser vom Tai Hu in China	53
3.4.4.	Grundwasser in Deutschland	55
3.4.5.	Simulierter Versuch eines Starkregenereignisses	58
3.4.6.	Stimulierungsversuche.....	60
4.	Ergebnisse und Diskussion	62
4.1.	Etablierung von molekularbiologischen Methoden für den Nachweis von Denitrifikanten in Umweltproben.....	62
4.1.1.	Untersuchungen zur Filtergröße und Probenkonservierung.....	62
4.1.2.	Cyclervergleich.....	66
4.1.3.	Bioinformatik und Primervergleich	69
4.1.4.	Temperatureffekte am Beispiel des Primerpaares <i>narG</i> 1960 2f / <i>narG</i> 2050m 2r	77

4.2. Molekularbiologischer Nachweis denitrifizierender Prozesse in unterschiedlichen Wassermatrices	79
4.2.1. Batchversuch mit der Reinkultur <i>Pseudomonas veronii</i>	79
4.2.2. Oberflächenwasser vom Tai Hu in China	86
4.2.3. Grundwasser in Deutschland	89
4.3. Monitoring von Stickstoffumsetzungsprozessen mittels molekularbiologischer Nachweismethoden.....	97
4.3.1. Simulation eines Starkregenereignisses im Feld	97
4.4. Monitoring von stimulierten Stickstoffumsetzungsprozessen.....	108
4.4.1. Stimulierung der Denitrifikation in Grundwasserproben.....	108
5. Zusammenfassung und Ausblick	122
6. Danksagung.....	128
7. Literatur	129
8. Anhang.....	147
8.1. Verwendete Geräte, Kits und Reagenzien, Chemikalien sowie allgemeine Verbrauchsmaterialien	147
8.2. Medien und Lösungen	151
8.3. Messmethoden zur Bestimmung der Anionen	154
8.4. Rohdaten vom Cyclervergleich, Kapitel 4.1.2	155
8.5. Rohdaten der Stimulierungsversuche, Kapitel 4.4	155