

Biodiversität in Moorböden: Neue Mikroorganismen und kryptische Redoxprozesse im Schwefelkreislauf

Alexander Loy

Zusammenfassung

Feuchtgebiete tragen etwa zu einem Drittel zur weltweiten Emission des Treibhausgases Methan bei und sind damit ein entscheidender Faktor für den Klimawandel. Bisherige Studien zur Biogeochemie und mikrobiellen Ökologie von Feuchtgebieten haben sich vorwiegend auf den Kohlenstoffkreislauf und die Mikroorganismen konzentriert, die direkt für die Methanproduktion und den Methanverbrauch verantwortlich sind. Allerdings sind die Kreisläufe anderer Elemente, wie Stickstoff, Eisen und Schwefel, eng mit dem Kohlenstoffkreislauf verbunden und beeinflussen den Abbau und die Mineralisierung von organischem Kohlenstoff. In diesem Beitrag wird anhand des Schwefelkreislaufs verdeutlicht, wie bislang kryptische oder verborgene Redoxprozesse die Methanproduktion in Feuchtgebieten erheblich unterdrücken können. Zudem werden an ausgewählten Beispielen neue Einblicke in die Vielfalt und Ökophysiologie der am Schwefelkreislauf beteiligten mikrobiellen Organismen gewährt.

Summary

Biodiversity in wetlands: new microorganisms and cryptic redox processes in the sulfur cycle

Wetlands contribute about a third of the global emission of the greenhouse gas methane and are thus crucial ecosystems in climate change. Studies on the biogeochemistry and microbial ecology of wetlands have largely focused on carbon cycling and the microorganisms directly responsible for methane production and consumption. Yet, cycling of other elements such as nitrogen, iron, and sulfur is intimately linked to carbon cycling and influences the fate and mineralization of organic carbon. Using sulfur cycling as an example, this paper (i) illustrates how hitherto cryptic or hidden redox processes significantly suppress methane production in wetlands and (ii) provides new insights into the diversity and ecophysiology of the involved microbial populations based on selected examples.

✉ Prof. Dr. Alexander Loy, Universität Wien, Zentrum für Mikrobiologie und Umweltsystemwissenschaften, Division für Mikrobielle Ökologie, Djerassiplatz 1, 1030 Wien, Österreich; alexander.loy@univie.ac.at

Einführung

In diesem Beitrag wird der Fokus auf neu entdeckte Mikroorganismen in terrestrischen Feuchtgebieten liegen, die an sogenannten kryptischen („verborgenen“) Redoxprozessen beteiligt sind, beispielhaft dargestellt am Schwefelkreislauf.

Moore sind global wichtige Ökosysteme und spielen vor allem auch im Klimawandel eine entscheidende Rolle. Sie emittieren nicht nur CO₂, sondern auch Methan (CH₄). Obwohl terrestrische Feuchtgebiete nur etwa 7% der Landfläche einnehmen, stammen aus ihnen aber etwa ein Drittel der globalen Methanemissionen. Verantwortlich hierfür ist eine spezialisierte Gruppe von Mikroorganismen, die sogenannten methanogenen Archaeen, die klassische Fermentierungsprodukte wie Wasserstoff, CO₂ und Acetat, die beim Abbau organischer Substanz frei werden, als Energiequelle verwerten, jedoch auch methyliertes organisches Material (CH₃-X) (Abb. 1).

Diversität methanogener und methanotropher Mikroorganismen

Innerhalb der großen Diversität der methanogenen Archaeen tragen verschiedene Ordnungen mit methanogenen Vertretern zur Methanemission in Feuchtgebieten bei: *Candidatus* Verstraetearchaeota, *Methanosarcinales*, *Ca. Methanofastidiosa*, *Methanomicrobiales*, *Methanocellales*, *Methanomassiliicoccales* und *Methanobacteriales*. Mit Ausnahme von *Ca. Verstraetearchaeota* (TACK)¹ gehören die Ordnungen alle zur Gruppe der *Euryarchaeota*.

Ca. Methanofastidiosa und *Methanomassiliicoccales*, beides wasserstoffabhängige methylo-trophe Organismen, sowie *Ca. Verstraetearchaeota* gehören dabei zu den Entwicklungslinien mit der tatsächlichen oder der genomisch prognostizierten Fähigkeit zur Methanogenese, die in den letzten Jahren zusätzlich zu den „klassischen“ methanogenen Organismen aus der Gruppe der *Euryarchaeota* neu entdeckt worden sind (Evans

et al. 2019). Die Entdeckung dieser neuen Entwicklungslinien basiert auf den Einsatz von kultivierungsunabhängigen Methoden, vor allem von Hochdurchsatzsequenzierungsmethoden, die mittlerweile in großem Umfang in der Metagenomik und Metatranskriptomik eingesetzt werden, aber auch z. B. von Stabile-Isotopen-Markierungsmethoden, die es erlauben, direkt im Ökosystem bzw. in einer naturnahen Probe mehr über die Funktion von Mikroorganismen zu erfahren.

Es würde noch mehr Methan aus Mooren emittiert werden, würde es nicht gleichzeitig auch Organismen geben, die Methan oxidativ abbauen. In Permafrostböden verstoffwechseln sie z. B. zwischen 20 und 60% des dort gebildeten Methans (Singleton et al. 2018). Von diesen methanotrophen Bakterien ist seit vielen Jahren bekannt, dass sie unter sauerstoffreichen Bedingungen Methan mit Sauerstoff als Elektronenakzeptor oxidieren können.

Die klassischen methanotrophen aeroben Bakterien aus den Gamma- und Alphaproteobakterien sind seit über 100 Jahren bekannt (Guerrero-Cruz et al. 2021, Schmitz et al. 2021). Unter den Gammaproteobakterien kennt man mindestens 18 Gattungen, unter den Alphaproteobakterien mindestens fünf Gattungen, deren Mitglieder die Fähigkeit zur Methanoxidation haben. Seit einigen Jahrzehnten ist bekannt, dass es auch anaerobe methanotrophe Organismen gibt, die entweder in Reinkultur oder in Gesellschaft mit anderen Organismen Methan oxidieren und dabei nicht Sauerstoff als Elektronenakzeptor nutzen, sondern alternative Elektronenakzeptoren wie Sulfat, Nitrat/Nitrit, Eisen(III) oder Mangan(IV). Diese neuen methanotrophen Organismengruppen spielen aber in den terrestrischen Feuchtgebieten vermutlich keine große Rolle, zumindest findet man sie nicht in großen Häufigkeiten und auch ihre Umsatzraten sind nicht hoch. Es dominieren die „klassischen“ aeroben methanotrophen Bakterien aus den Alpha- und Gammaproteobacteria (Singleton et al. 2018).

Sulfatreduzierende Mikroorganismen in Mooren

Die Forschung zu den Redoxprozessen und zur mikrobiellen Ökologie in Mooren hat sich hauptsächlich auf den Kohlenstoffkreislauf und auf die Interaktion zwischen den methanproduzierenden

1 Die Gruppe TACK im genomischen Baum der Archaeen umfasst die Untergruppen der *Thaumarchaeota*, *Aigarchaeota*, *Crenarchaeota* und *Candidatus* Korarchaeota' (nach Evans et al. 2019).

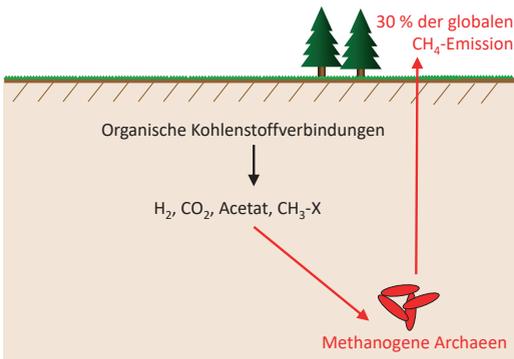


Abb. 1. Schematische Darstellung der Methanproduktion und -emission in Mooren, ohne Berücksichtigung sulfatreduzierender Mikroorganismen.

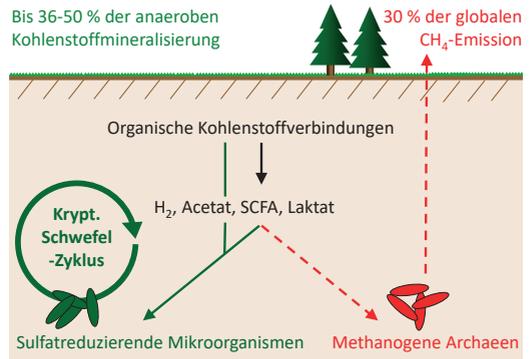


Abb. 2. Schematische Darstellung der Methanproduktion und -emission in Mooren, unter Berücksichtigung sulfatreduzierender Mikroorganismen; SCFA: Kurzkettige Fettsäuren.

(methanogenen) und den methankonsumierenden (methanotrophen) Mikroorganismen fokussiert (McCalley et al. 2014, Woodcroft et al. 2018, Wilson et al. 2021). Dabei wurde weitgehend vernachlässigt, dass in Mooren auch andere biogeochemische Zyklen aktiv sind, wie der Schwefel-, Stickstoff- und Eisenkreislauf, die durch die Aktivität der daran beteiligten Mikroorganismen und chemischen Prozesse verhindern, dass Methan überhaupt erst gebildet wird.

Sulfatreduzierende Mikroorganismen nutzen Sulfat als Elektronenakzeptor und können damit organische Substanz veratmen. Sie konkurrieren effektiv mit methanogenen Archaeen um Wasserstoff oder Acetat und lenken dadurch den Fluss der Kohlenstoffmineralisierung von den Methanogenen ab (Abb. 2). Es wurde berechnet, dass ohne diesen Prozess bis zu 15% mehr Methan aus Feuchtgebieten freigesetzt werden würde (Gauci et al. 2004). In vereinzelten Studien wurde darüber hinaus gezeigt, dass der Beitrag der sulfatreduzierenden Mikroorganismen zum biologischen Abbau organischen Materials und zum Gesamtkohlenstoffhaushalt in Feuchtgebieten erheblich ist und bis 36–50% der Kohlenstoffmineralisierung beträgt (Pester et al. 2012).

Die Sulfatreduktion wurde jedoch oft vernachlässigt, weil es sich um einen sogenannten kryptischen Prozess handelt. Die Konzentrationen von Sulfat sind in terrestrischen Feuchtgebieten i. d. R. sehr gering (20–200 μM). Im Vergleich ist die Konzentration von Sulfat im Meeresboden, wo die Sulfatreduktion bekannterweise eine entscheidende Rolle für die Kohlenstoffminerali-

sierung spielt, bis zu 1000-mal größer. Auch die bislang bekannten sulfatreduzierenden Mikroorganismen hat man in Mooren entweder nicht oder nur in sehr geringen Häufigkeiten gefunden. Daher wurde zunächst angenommen, dass sie keine allzu große Rolle spielen. Die Messung der Sulfatreduktionsraten ergab jedoch, dass die Umsatzraten sehr hoch sein können, mitunter vergleichbar derer in sulfatreichen Meeresedimenten (Knorr & Blodau 2009, Knorr et al. 2009). Es handelt sich also um einen Kreislauf, in dem ein kleiner Bestand an ungebundenem Sulfat (20–200 μM) sehr schnell recycelt wird und der sehr hohe Sulfatreduktionsraten aufrechterhält. Zu weiteren biogeochemischen Mechanismen dieses verborgenen Schwefelkreislaufs und zur mikrobiellen Diversität der daran beteiligten Organismen ist jedoch nach wie vor wenig bekannt (Pester et al. 2012).

Das Schlöppnerbrunnen-Moorsystem

Seit einigen Jahren arbeiten wir auf dem Schlöppnerbrunnen-Moor im Fichtelgebirge, einem kleinen Niedermoor und langjährigem Forschungsareal. Wir untersuchen dort die Zusammensetzung der mikrobiellen Lebensgemeinschaften und gehen der Frage nach, wie diese Organismen am Kohlenstoffabbau beteiligt sind. Es handelt sich um ein saures Moor (pH 4–5), das dominiert wird von einer vielfältigen Gemeinschaft von Acidobakterien (Unterabteilung 1, 2, 3 und 13) in aeroben und anaeroben Bodenhorizonten, die

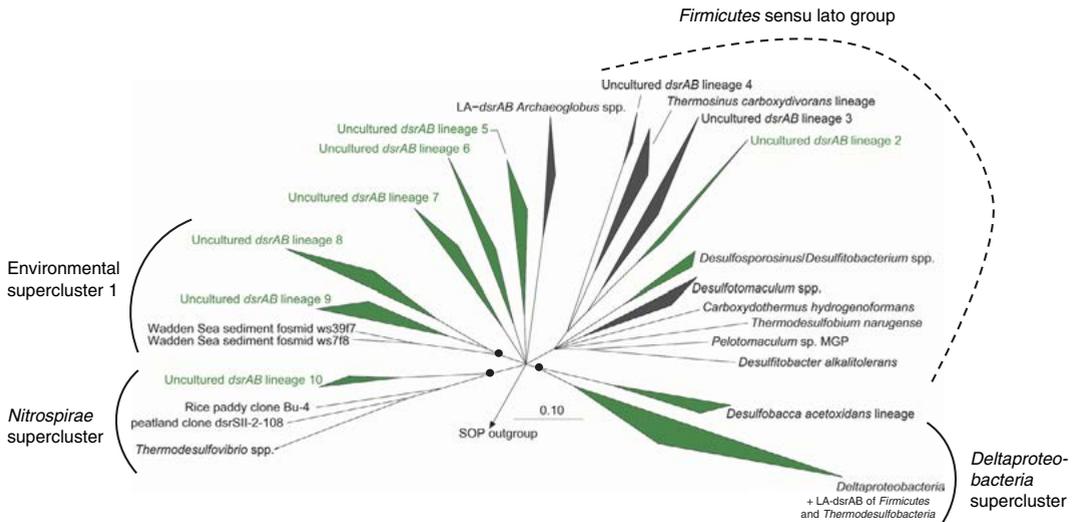


Abb. 3. Phylogenetischer Baum der dissimilatorischen Sulfitreduktase-Gene (*dsrAB*); grün: Vorkommen in terrestrischen Feuchtgebieten, inklusive Mooren; ● Bootstrap support $\geq 70\%$. Weitere Erläuterungen s. Text. – Michael Pester.

bis 50% der mikrobiellen Lebensgemeinschaft ausmachen, gefolgt von Actinobakterien sowie Alpha- und Deltaproteobakterien. Auch hier sind die Sulfatkonzentrationen mit 25–100 μM gering, aber dieser Pool kann innerhalb von ein bis zwei Tagen umgesetzt werden. Darüber hinaus treten neben der Sulfatreduktion weitere anaerobe Abbauprozesse auf, wie Eisenreduktion, Denitrifizierung, Methanogenese und syntropher und fermentativer Kohlenstoffabbau. Genetische Analysen ergaben eine hohe Diversität der sogenannten Sulfitreduktase-Gene (*dsrAB*)²; wir konnten über 50 OTUs (Operational Taxonomic Unit)³ auf Artniveau nachweisen (Loy et al. 2004,

2 *dsrAB*: Gene der dissimilatorischen Sulfitreduktase, ein Schlüsselenzym der meisten Sulfat und Sulfid reduzierenden Mikroorganismen und ein Marker für kultivierungsunabhängige, molekulare Diversitätsanalysen dieser Organismen in der Umwelt.

3 Die Einheit OTU (operationale taxonomische Einheit) wird zur Identifizierung und Einteilung von nicht kultivierbaren oder unbekanntem Organismen genutzt. Sie orientiert sich nach der DNA- oder RNA-Sequenzähnlichkeit eines bestimmten taxonomischen Markers. OTUs können als pragmatische Stellvertreter für mikrobielle Taxa auf verschiedenen taxonomischen Ebenen angesehen werden.

Steger et al. 2011, Pester et al. 2012). Aus wiederholten Analysen wissen wir, dass es sich um konstante Bewohner des Moores handelt und nicht nur um zufällig dort auftauchende „mikrobielle Touristen“. Das Schlöppnerbrunnen-Moor beherbergt daher eine diverse, autochthone und dynamische Gemeinschaft von potenziell sulfatreduzierenden Mikroorganismen. Diese hohe *dsrAB*-Diversität findet sich auch in vielen anderen Moorsystemen und war dadurch charakterisiert, dass die allermeisten *dsrAB*-Genvarianten keinen bekannten Arten zugeordnet werden konnten. Nur in Ausnahmefällen ($<0,1\%$) konnten sie einer bekannten Gattung zugeordnet werden, z. B. *Desulfosporosinus*. In den allermeisten Fällen handelt es sich bei den neuen *dsrAB*-Genvarianten aber um komplett neue Entwicklungslinien, die im Prinzip neue Familien repräsentieren (Pester et al. 2012; Abb. 3). Dies deutete auf eine hohe Diversität bislang unkultivierter und unbekannter Sulfat-/Sulfitreduzierer in Moorböden hin.

Das Ziel unserer weiteren Forschung war, einerseits die sulfatreduzierenden Mikroorganismen in Moorböden zu identifizieren und andererseits zu verstehen, wie sie am Abbau organischen Materials beteiligt sind. Dazu haben wir untersucht, wie sich die mikrobiellen Lebensgemeinschaften bei der Zugabe verschiedener Substrate ändern

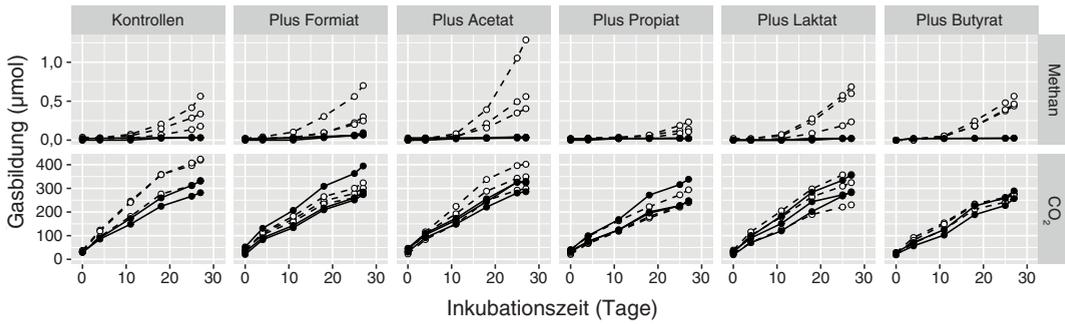


Abb. 4. Produktion von Methan (oben) und CO_2 (unten) in Torfboden-Mikrokosmen, denen kein Substrat (Kontrollen) bzw. Formiat, Acetat, Propionat, Laktat oder Butyrat als Substrat zugesetzt worden war, mit (schwarze Kreise) und ohne (offene Kreise) Sulfatstimulierung; Daten von jeweils parallelen Mikrokosmen-Inkubationen. – Aus Hausmann et al. (2016, Suppl. Information).

und welche Mikroorganismen auf welche Weise reagieren (Pester et al. 2010, Hausmann et al. 2016, 2018, 2019).

Unter kontrollierten Laborbedingungen wurden sog. Moorboden-Mikrokosmen periodisch mit geringen Mengen an typischen Fermentierungsprodukten (Formiat, Acetat, Propionat, Laktat, Butyrat) versetzt. Zusätzlich wird bei der Hälfte der Mikrokosmen Sulfat in geringen Konzentrationen zugegeben (Sulfatstimulierung) (Hausmann et al. 2016). In einer weiteren ähnlichen Versuchsreihe führten wir mit den Moorproben Isotopenmarkierungsversuche mit ^{13}C -markierten Substraten (^{13}C -Formiat, ^{13}C -Acetat, ^{13}C -Propionat, ^{13}C -Laktat) durch (Pester et al. 2010). Um zu verstehen, welche Mikroorganismen bzw. welche Taxa auf die Zugabe dieser Substrate unter sulfatreduzierenden Bedingungen in ihrer Häufigkeit und in ihrer Aktivität ändern, nutzten wir eine Reihe kultivierungsunabhängiger Methoden, die auf der extrahierten DNA und RNA basieren. Dazu gehören 16S-rRNA-Gen- und cDNA-Amplikon-Sequenzierung zur Untersuchung von Veränderungen der taxonomischen Zusammensetzung und der Aktivität, die Rekonstruktion von Genomen mittels Metagenomik sowie Metatranskriptionsanalysen zur Nachverfolgung der aktiven Stoffwechselwege. Weiter erfolgt ein Vergleich mit der Dynamik der konsumierten und der produzierten Metabolite (CO_2 , CH_4 , SO_4^{2-} , kurzkettige Fettsäuren) (Hausmann et al. 2016).

Die Versuche ergaben zunächst, dass geringe Mengen von Sulfat die Methanproduktion fast vollständig unterdrücken, was auf sulfatredu-

zierende mikrobielle Lebensgemeinschaften in den Moorbodenproben hinweist (vgl. Abb. 2). Die CO_2 -Produktion in den Mikrokosmen änderte sich dagegen durch Sulfatzugabe, aber auch durch die zugegebenen Kohlenstoffsubstrate nicht signifikant (Abb. 4; Hausmann et al. 2016). Welche Organismen in den Moorbodenproben sind es, die auf die Zugabe von Sulfat und von spezifischen Substraten unter sulfatreduzierenden Bedingungen reagieren? – Die 16S-rRNA-Amplikon-Sequenzierung ergab, dass von den insgesamt mehr als 7000 OTUs nur wenige signifikant auf mindestens eines der zugesetzten Substrate (Butyrat, Laktat und Propionat) reagieren (Abb. 5; Hausmann et al. 2016). Bezüglich ihrer taxonomischen Identität fallen manche dieser Sequenzen in bekannte Gruppen, von denen bereits bekannt ist, dass sie Sulfat reduzieren können, z. B. *Desulfosporosinus*, das bei allen drei Substraten aktiviert wird. Nicht alle der reagierenden OTUs sind aber zwangsläufig Sulfatreduzierer, sondern können auch Schwefeloxidierer sein, wie *Telmatospirillum* oder die Rhodospirillaceen, die womöglich anaerob das gebildete H_2S mit einem unbekanntem Elektronenakzeptor verstoffwechseln können, oder es können Organismen sein, die in einer anderen, syntrophen Wechselwirkung mit den Sulfatreduzierern stehen.

Bemerkenswert ist, dass es nur wenige und nicht-häufige Organismen waren, die auf die Zugabe des Substrats reagiert haben. Interessanterweise taten die meisten der reagierenden Mikroben dies durch eine Hochregulierung ihres Ribosomengehalts, nicht aber durch Wachstum.

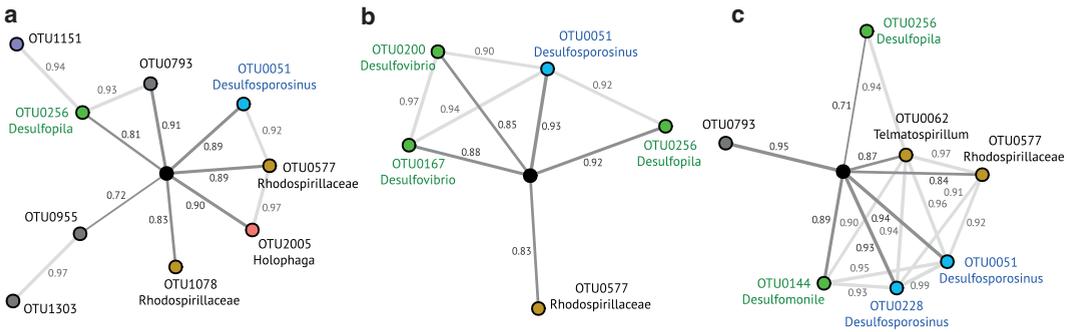


Abb. 5. Assoziations-Netzwerke von OTUs nach Sulfatstimulierung und Zugabe von Propionat (a), Laktat (b) und Butyrat (c). Korrelationsstärke ($r \geq 0,9$: hellgraue Linien; $\geq 0,5$: dunkelgraue Linien) zwischen den 16S-rRNA-basierten OTUs (farbige Kreise) untereinander und zu den Sulfatumsatzraten (schwarze Kreise); Zahlen bei den Linien: Korrelationskoeffizienten. – Aus Hausmann et al. (2016, Suppl. Information).

Dies deutet darauf hin, dass die Proteinbiosynthese unter natürlichen sulfatreduzierenden Bedingungen weitgehend vom Wachstum entkoppelt ist (Hausmann et al. 2019).

Candidatus Desulfosporosinus infrequens

Durch Substrat-basierte Isotopenmarkierung ist es gelungen, die DNA von einem sehr seltenen, unkultivierten Vertreter der Gattung *Desulfosporosinus* anzureichern und das Genom zu sequenzieren und zu rekonstruieren. Es handelte sich hierbei um eine neue Art, die wir *Ca. Desulfosporosinus infrequens* benannt haben (Hausmann et al. 2019).

Um weitere Einblicke in den Stoffwechsel dieses seltenen Organismus zu erhalten, untersuchten wir das Vorhandensein und die Expression spezifischer Stoffwechselwege, die für die Oxidation der verschiedenen Substrate unter sulfatreduzierenden Bedingungen in den Mikrokosmen erforderlich sind (Hausmann et al. 2019). Der Sulfatreduktionsweg wurde in Inkubationen, die mit Acetat, Propionat, Laktat und Butyrat ergänzt wurden, hochreguliert, jedoch nicht in Inkubationen mit Formiat. Dieses Substratspektrum macht *Ca. D. infrequens* physiologisch vielseitiger als die bisher bekannten Arten der Gattung. Transkriptomanalysen zeigten unter anderem eine Hochregulierung der Gene für die Proteinbiosynthese, für den Energiemetabolismus, d.h. für die Verstoffwechslung der verschiedenen Kohlenstoffsubstrate und für die Sulfatreduktion, sowie für Stressantworten,

jedoch keine Hochregulierung von Genen, die am Zellwachstum involviert sind (z.B. DNA-Replikation, Zellwandbiosynthese, Zellteilung) (Hausmann et al. 2019).

Wir haben es also mit einem Organismus zu tun, der für einen *Desulfosporosinus* in seinem Substratspektrum sehr versatil ist, der selten ist und der extrem aktiv ist (bisweilen der aktivste Sulfatreduzierer in den Inkubationen), aber über den untersuchten Zeitraum nicht oder kaum wächst. Die Frage ist also: Was macht *D. infrequens* mit der produzierten Energie, wenn es nicht wächst?

Unsere Arbeitshypothese ist, dass es sich bei *D. infrequens* nicht um einen säureliebenden (acidophilen), sondern um einen eher acidotoleranten oder neutrophilen Organismus handelt, der ständig unter Stress ist, weil er in dem sauren Milieu des Moorbodens (bzw. der Torfboden-Mikrokosmen) lebt, und der seine im Stoffwechsel produzierte Energie nutzt, um die zelluläre Homöostase aufrechtzuerhalten, d.h. um Protonen aus der Zelle heraus nach außen zu pumpen.

Ca. Desulfosporosinus infrequens ist nicht nur im Schläppnerbrunnen-Moor zu finden, vielmehr haben wir nahe Verwandte dieser Art (16S-rRNA-Genähnlichkeit > 99%) in 16S-rRNA-Genbanken aus Bodenproben aus verschiedenen Feuchtgebieten weltweit nachgewiesen, von klassischen Moorgebieten zu Permafrostgebieten, aber auch in Reisböden, jedoch immer in geringer Häufigkeit (Abb. 6; Hausmann et al. 2016). Wir postulieren daher, dass es sich um einen weitverbreiteten Vertreter der „seltenen Biosphäre“ handelt.

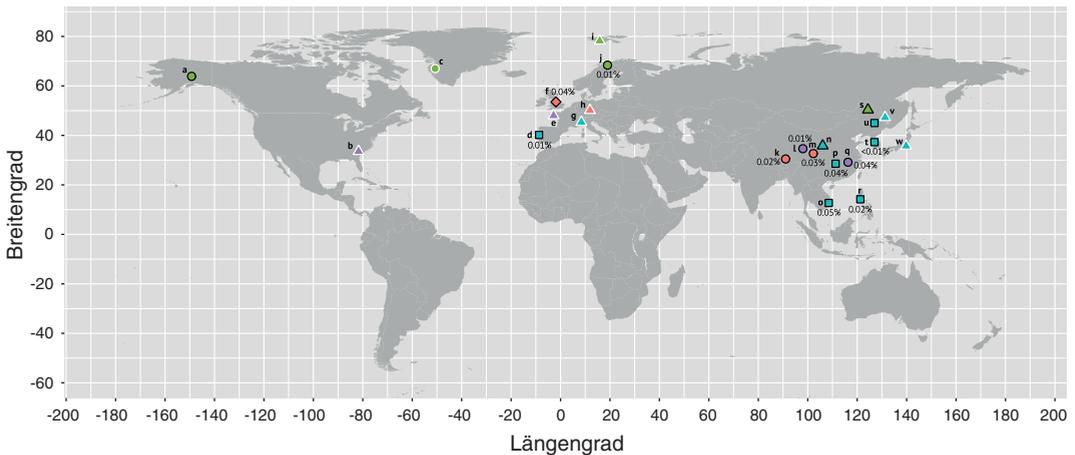


Abb. 6. Verbreitung von *Ca. Desulfosporosinus infrequens* (OTUs 0051 und 0228) und naher Verwandter dieser Art (16S-rRNA-Genähnlichkeit > 99 %) in Feuchtgebieten weltweit. Ökosystem: ● Moor; ● Permafrostgebiet; ● Reisfeld; ● andere Feuchtgebiete. Typ: ○ naturnah; □ landwirtschaftlich genutzt; ◇ renaturiert; △ degradiert. Datenbasis: ◻ NCBI-GenBank; ◻ SRA (Sequence Read Archive). Prozentzahlen: relative 16S-rRNA-Genhäufigkeit; die Bezeichnungen a–w beziehen sich auf NCBI- bzw. SRA-Nummern. – Hausmann et al. (2016, Suppl. Information).

Komplexe mikrobielle Lebensgemeinschaften, wie sie z.B. im Darm, im Boden oder im Meeressediment vorkommen, bestehen zu einem gegebenen Zeitpunkt aus sehr wenigen Arten, die sehr häufig sind. Diese sind aufgrund ihrer hohen Abundanz wichtig für die ökosystemaren Hauptfunktionen des Habitats, z.B. für den Kohlenstoff- und den Energiefluss. Ihnen steht eine sehr hohe Zahl von Arten gegenüber, die

in sehr geringer Häufigkeit (< 0,1 %) vorkommen und aktiv oder in Überdauerungsstadien ruhend (vergleichbar mit einer Pflanzensamenbank im Boden) sein können. Die seltene Biosphäre trägt wesentlich zur mikrobiellen und genetischen Vielfalt bei und stellt ein nahezu unerschöpfliches Reservoir genomischer Information dar (Pedrós-Alió 2006). Ausnahmen von dieser Regel sind Schlüsselarten („keystone taxa“), die nicht

Tab. 1. Über Metagenomanalysen von Torfbodenproben rekonstruierte *dsrAB*-kodierende Mikroorganismen; MAG: metagenome-assembled genomes, SD: subdivision. – Nach Hausmann et al. (2018).

Firmicutes:	<i>Ca. Desulfosporosinus infrequens</i> SbF1
Verrucomicrobia:	Verrucomicrobia MAG SbV1
Acidobacteria	Acidobacteria SD3 MAG SbA2 Acidobacteria SD3: <i>Ca. Sulfopaludibacter</i> sp. MAG SbA3 Acidobacteria SD3: <i>Ca. Sulfopaludibacter</i> sp. MAG SbA4 Acidobacteria SD3: <i>Ca. Sulfopaludibacter</i> sp. MAG SbA6 Acidobacteria SD1: <i>Ca. Sulfotelmatobacter kueseliae</i> MAG SbA1 Acidobacteria SD1: <i>Ca. Sulfotelmatobacter</i> sp. MAG SbA7 Acidobacteria SD1: <i>Ca. Sulfotelmatomonas gaucii</i> MAG SbA5
Deltaproteobacteria:	Syntrophobacteraceae MAG SbD2 Syntrophobacteraceae MAG SbD1
Betaproteobacteria:	Betaproteobacteria MAG SbB1 Betaproteobacteria MAG SbB2

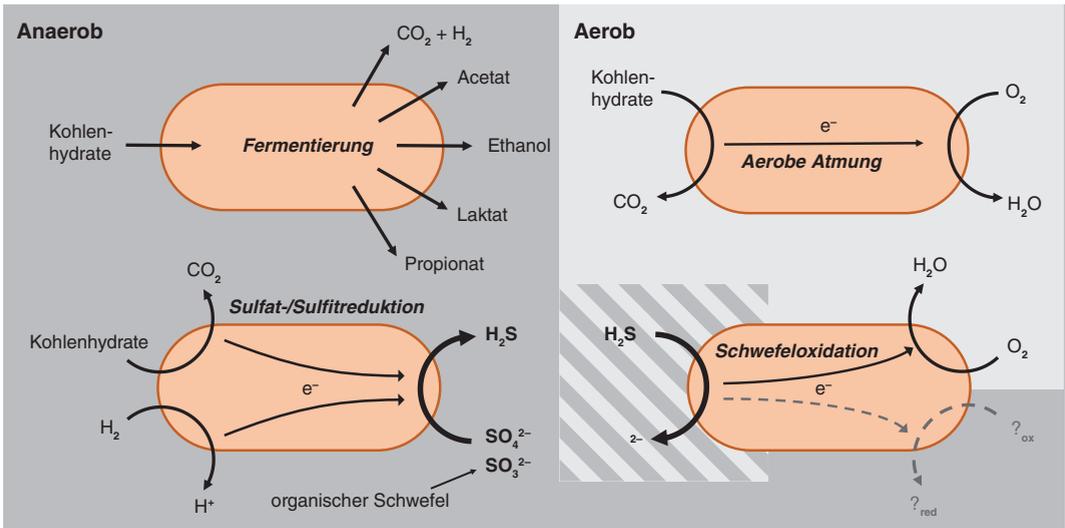


Abb. 7. Schematische Darstellung möglicher Energiestoffwechselwege von aus Moorproben rekonstruierten Acidobacteria-Arten. – Aus Hausmann et al. (2018).

häufig sind, aber dennoch signifikant zu den ökosystemaren Prozessen beitragen können. Wir vermuten, dass *Ca. Desulfosporosinus infrequens* eine solche Schlüsselart ist, die zur Sulfatreduktion beiträgt und im Schwefelkreislauf eine wichtige Rolle spielt.

Neue Vertreter der Acidobakterien sind am Schwefelkreislauf in Mooren beteiligt

Wie bereits erwähnt gibt es eine Vielzahl unkultivierter Organismen in Moorböden, die die Sulfitreduktase-Gene (*dsrAB*) enthalten. Mit Methoden der Metagenomik ist es uns gelungen, Genome von zwölf weiteren Organismen aus dem Schlöppnerbrunnen-Moor zu rekonstruieren, von denen bisher unbekannt war, dass sie die Fähigkeit zur Sulfit- oder Sulfatreduktion haben (Tab. 1). Hier möchte ich v.a. auf die Vertreter des Phylums Acidobacteria eingehen, deren Genome neue Gattungen repräsentieren, die wir z.T. benannt haben (*Ca. Sulfopaludibacter*, *Ca. Sulfotelmatobacter*, *Ca. Sulfotelmatomonas*) (Hausmann et al. 2018). Auch hier haben wir, analog zu *Ca. D. infrequens*, das genetische Repertoire dieser Organismen, aber auch mittels Transkriptomanalysen ihren Metabolismus in den Mikrokosmen untersucht.

Acidobakterien, die in Mooren über 50 % der Mikroorganismen stellen können, sind bekannt dafür, dass sie komplexes organisches Material verstoffwechseln können. Ihre Genome tragen eine hohe Vielzahl an Glykosidhydrolyase-Genen und sie können damit ein breites Spektrum organischen Materials abbauen, entweder aerob oder fermentativ unter anaeroben Bedingungen. Neu ist, dass bei den Vertretern, die wir untersucht haben, zusätzlich die komplette Fähigkeit zur Sulfat- und Sulfitreduktion im Genom kodiert war und diese Organismen evtl. auch zwischen Sulfatreduktion und Schwefeloxidation mit Sauerstoff oder einem bislang unbekanntem Elektronenakzeptor wechseln können (Abb. 7; Hausmann et al. 2018, Anantharaman et al. 2018). Nahverwandte Acidobakterien mit ähnlicher genomischer Ausstattung zur Dissimilation von Schwefelverbindungen wurden auch in anderen Mooren entdeckt (Woodcroft et al. 2018).

Fazit und Ausblick

Kurz zusammengefasst haben wir einen neuen Moororganismus entdeckt: *Ca. Desulfosporosinus infrequens*, der sehr selten ist, aber in Feuchtgebieten weltweit verbreitet ist und als Sulfatreduzierer sehr aktiv sein kann. Wir denken, dass es eine relativ seltene Keystone-Art ist, die

aber für die Sulfatreduktion und den Schwefelkreislauf eine entscheidende Rolle spielen kann. Zusätzlich haben wir neue Organismen gefunden, die wahrscheinlich Sulfat-/Sulfitreduzierer sind, vielleicht auch Schwefeloxidierer, die viel häufiger sind und zu der in Mooren häufigen Gruppe der Acidobakterien gehören.

Tatsächlich ist das Mikrobiom in Mooren bisher nur ansatzweise verstanden und insbesondere der Schwefelkreislauf in Mooren ist bis heute weitgehend unerforscht (Abb. 8). Offene Fragestellungen sind z.B.: Welche Organismen sind an der Verstoffwechslung von elementarem Schwefel oder von Schwefelintermediaten wie Thiosulfat ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) oder Tetrathionat ($\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$) beteiligt? Woher stammt das (anorganische) Sulfat und Sulfit und wie wird es freigesetzt? Ein Großteil des Schwefels liegt in den Mooren in organischer Form als Organo-Sulfatester oder Organo-Sulfonate vor. Die Vielfalt und Substratspezifität von Enzymen, welche aus organischem Material Sulfat oder Sulfit freisetzen können, ist ebenfalls weitgehend unbekannt.

Als Teaser für zukünftige Entdeckungen sei noch die Entdeckung des ersten Bakteriums genannt, das sowohl Methan als auch Schwefel oxidieren kann (Gwak et al. 2022). Bislang waren diese Fähigkeiten in verschiedenen Mikroorganismen verortet. *Methylovirgula thiovorans* Stamm HY1 wurde aus dem „Drachenmoor“, einem sauren Moor in Südkorea, isoliert und ist der erste Organismus, der in einer Zelle die Fähigkeit zur gleichzeitigen Methan- und Schwefeloxidation vereint. Dieses Bakterium ist physiologisch sehr versatil und zeigt die enge Verzahnung des Schwefelkreislaufs mit dem Kohlenstoffkreislauf, mit Methan im Speziellen.

Danksagung

Ich möchte mich herzlichst bei allen Mitarbeiter*innen bedanken, die zu unserer Forschung zum Schwefelkreislauf in Feuchtgebieten beigetragen haben, insbesondere bei Prof. Dr. Michael Pester und Dr. Bela Hausmann. Diese Arbeit wurde durch Fördermittel des Österreichischen Wissenschaftsfonds (FWF Projekt P 31996-B) unterstützt.

Literatur

Anantharaman, K., B. Hausmann, S. P. Jungbluth, R. S. Kantor, A. Lavy, L. A. Warren, M. S. Rappé, M. Pester, A. Loy, B. C. Thomas & J. F. Banfield.

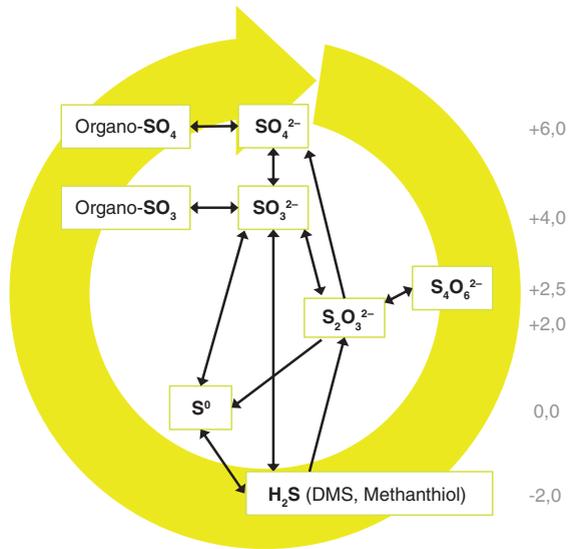


Abb. 8. Schematische Darstellung des Schwefelkreislaufs; rechts: Oxidationszahlen des Schwefels. DMS: Dimethylsulfid.

2018. Expanded diversity of microbial groups that shape the dissimilatory sulfur cycle. – *The ISME Journal*, 12 (7): 1715–1728. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0078-0>
- Evans, P. N., J. A. Boyd, A. O. Leu, B. J. Woodcroft, D. H. Parks, P. Hugenholtz & G. W. Tyson. 2019. An evolving view of methane metabolism in the Archaea. – *Nature Reviews Microbiology*, 17: 219–232. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0136-7>
- Gauci, V., E. Matthews, N. Dise, B. Walter, D. Koch, G. Granberg & M. Vile. 2004. Sulfur pollution suppression of the wetland methane source in the 20th and 21st centuries. – *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, 101 (34): 12583–12587. <https://doi.org/10.1073/pnas.0404412101>
- Guerrero-Cruz, S., A. Vaksmaa, M. A. Horn, H. Niemann, M. Pijuan & A. Ho. 2021. Methanotrophs: Discoveries, environmental relevance, and a perspective on current and future applications. – *Frontiers in Microbiology*, 12:678057. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.678057>
- Gwak, J.-H., S. I. Awal, N.-L. Nguyen, W.-J. Yu, H.-Y. Yang, M. von Bergen, N. Jehmlich, K. D. Kits, A. Loy, P. F. Dunfield, C. Dahl, J.-H. Hyun & S.-K. Rhee. 2022. Sulfur and methane oxidation by a single microorganism. – *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, 119 (32): e2114799119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2114799119>

- Hausmann, B., K. H. Knorr, K. Schreck, S. G. Tringe, T. Glavina Del Rio, A. Loy & M. Pester. 2016. Consortia of low-abundance bacteria drive sulfate reduction-dependent degradation of fermentation products in peat soil microcosms. – *The ISME Journal*, 10(10): 2365–2375. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.42>
- Hausmann, B., C. Pelikan, C. W. Herbold, S. Köstlbacher, M. Albertsen, S. A. Eichorst, T. Glavina del Rio, M. Huemer, P. H. Nielsen, T. Rattei, U. Stingl, S. G. Tringe, D. Trojan, C. Wentrup, D. Woebken, M. Pester & A. Loy. 2018. Peatland *Acidobacteria* with a dissimilatory sulfur metabolism. – *The ISME Journal*, 12(7): 1729–1742. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0077-1>
- Hausmann, B., C. Pelikan, T. Rattei, A. Loy & M. Pester. 2019. Long-term transcriptional activity at zero growth of a cosmopolitan rare biosphere member. – *mBio*, 10(1):e02189-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.02189-18>
- Knorr, K. H. & C. Blodau. 2009. Impact of experimental drought and rewetting on redox transformations and methanogenesis in mesocosms of a northern fen soil. – *Soil Biology and Biochemistry*, 41(6): 1187–1198. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.02.030>
- Knorr, K. H., G. Lischeid & C. Blodau. 2009. Dynamics of redox processes in a minerotrophic fen exposed to a water table manipulation. – *Geoderma*, 153: 379–392. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2009.08.023>
- Loy, A., K. Küsel, A. Lehner, H. L. Drake & M. Wagner. 2004. Microarray and functional gene analyses of sulfate-reducing prokaryotes in low-sulfate, acidic fens reveal cooccurrence of recognized genera and novel lineages. – *Applied and Environmental Microbiology*, 70(12): 6998–7009. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.6998-7009.2004>
- McCalley, C. K., B. J. Woodcroft, S. B. Hodgkins, R. A. Wehr, E. H. Kim, R. Mondav, P. M. Crill, J. P. Chanton, V. I. Rich, G. W. Tyson & S. R. Saleska. 2014. Methane dynamics regulated by microbial community response to permafrost thaw. – *Nature*, 514(7523): 478–481. <https://doi.org/10.1038/nature13798>
- Pedrós-Alió, C. 2006. Marine microbial diversity: can it be determined? – *Trends in Microbiology*, 14(6): 257–263. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2006.04.007>
- Pester, M., N. Bittner, P. Deevong, M. Wagner & A. Loy. 2010. A 'rare biosphere' microorganism contributes to sulfate reduction in a peatland. – *The ISME Journal*, 4(12): 1591–1602. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.75>
- Pester, M., K.-H. Knorr, M. W. Friedrich, M. Wagner & A. Loy. 2012. Sulfate-reducing microorganisms in wetlands – fameless actors in carbon cycling and climate change. – *Frontiers in Microbiology*, 3:72. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00072>
- Schmitz, R. A., S. H. Peeters, W. Versantvoort, N. Picone, A. Pol, M. S. M. Jetten & H. J. M. Op den Camp. 2021. Verrucomicrobial methanotrophs: ecophysiology of metabolically versatile acidophiles. – *FEMS Microbiology Reviews*, 45(5):fuab007. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuab007>
- Singleton, C. M., C. K. McCalley, B. J. Woodcroft, J. A. Boyd, P. N. Evans, S. B. Hodgkins, J. P. Chanton, S. Frolking, P. M. Crill, S. R. Saleska, V. I. Rich & G. W. Tyson. 2018. Methanotrophy across a natural permafrost thaw environment. – *The ISME Journal*, 12(10): 2544–2558. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0065-5>
- Steger, D., C. Wentrup, C. Braunegger, P. Deevong, M. Hofer, A. Richter, C. Baranyi, M. Pester, M. Wagner & A. Loy. 2011. Microorganisms with novel dissimilatory (bi)sulfite reductase genes are widespread and part of the core microbiota in low-sulfate peatlands. – *Applied and Environmental Microbiology*, 77(4): 1231–1242. <https://doi.org/10.1128/AEM.01352-10>
- Wilson, R. M., M. M. Tfaily, M. Kolton, E. R. Johnston, C. Petro, C. A. Zalman, P. J. Hanson, H. M. Heyman, J. E. Kyle, D. W. Hoyt, E. K. Eder, S. O. Purvine, R. K. Kolka, S. D. Sebestyen, N. A. Griffiths, C. W. Schadt, J. K. Keller, S. D. Bridgman, J. P. Chanton & J. E. Kostka. 2021. Soil metabolome response to whole-ecosystem warming at the Spruce and Peatland Responses under Changing Environments experiment. – *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, 118(25):e2004192118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2004192118>
- Woodcroft, B. J., C. M. Singleton, J. A. Boyd, P. N. Evans, J. B. Emerson, A. A. F. Zayed, R. D. Hoelzle, T. O. Lamberton, C. K. McCalley, S. B. Hodgkins, R. M. Wilson, S. O. Purvine, C. D. Nicora, C. Li, S. Frolking, J. P. Chanton, P. M. Crill, S. R. Saleska, V. I. Rich & G. W. Tyson. 2018. Genome-centric view of carbon processing in thawing permafrost. – *Nature*, 560(7716): 49–54. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0338-1>

Diskussion

B. Haier: Wäre es denkbar, dass der von Ihnen vorgestellte Organismus, der in dem Moor so selten ist, der nicht wächst, aber der eine so große Bedeutung für den Schwefelkreislauf und damit die Methanemission hat, in einer anderen Umgebung bessere Wachstumsbedingungen hat, sodass Sie ihn dort vermehren könnten, um ihn woanders gezielt einzubringen, um die Sulfatreduktion zu erhöhen? Es ist mir klar, dass es risikoreich ist, in ein Ökosystem einzugreifen. Aber wenn sich der Organismus unter den natürlichen, sauren Bedingungen nicht vermehrt, sollte er dort stabil bleiben.

A. Loy: Da unser Organismus ohnehin global in Feuchtgebieten verbreitet ist, ist es nicht wirklich notwendig, ihn irgendwo zu inokulieren. Wenn Bedingungen vorherrschen, die die Aktivität des Organismus stimulieren, wird er auch entsprechend aktiv werden. Was ich nicht erwähnt habe: Diese Organismus-Gruppe (*Desulfosporosinus*) kann auch Sporen bilden und Hunderte von Jahren in den Moorböden bleiben, ohne aktiv zu sein. Diese weite Verbreitung von Mikroorganismen sehen wir auch in anderen Ökosystemen. Es braucht oftmals gar nicht eine spezifische Inokulation von fremden Organismen, da sie teilweise ohnehin Bestandteil der seltenen Biosphäre sind und – um es salopp zu sagen – auf besser Bedingungen warten. Wenn sich die Bedingungen in dem Ökosystem ändern, können sie entsprechend einspringen und vielleicht auch ökosystemare Prozesse erfüllen, die andere Organismen dann evtl. aufgrund der geänderten Parameter nicht mehr erfüllen können.

A. Beck: Vielen Dank für diesen beeindruckenden Einblick in den Schwefelmetabolismus. Ich möchte mir trotzdem erlauben, noch eine andere Frage zu den Moormikrobiota zu stellen. Wir haben heute bereits gehört, dass der Stickstoffeintrag in Mooren ein großes Problem ist. Wie beurteilen Sie den Eintrag aus dem Blickwinkel der Mikrobiota?

A. Loy: Ich bin zwar kein Stickstoffexperte, aber ich würde sagen, im Prinzip ist es analog zum Schwefel: Wir haben einerseits den Eintrag

von außen – im Fichtelgebirge, wo sich das Schlöppnerbrunnen-Moor befindet, habe ich gelernt, dass der Schwefeleintrag durch den sauren Regen bis in die 1990er Jahre ging –, aber im Ende geht es um den schnellen Kreislauf, der dann tatsächlich stattfindet, obwohl die stehende Konzentration der Metabolite gar nicht so groß ist. Beim Stickstoffkreislauf ist es vermutlich ähnlich, wir wissen aber sehr wenig darüber. Wir kennen zwar die generellen Prozesse wie Denitrifizierung und Ammoniumoxidation, die dabei eine Rolle spielen, und wir können die Emission von Lachgas und anderen Stickoxiden messen, die klimarelevant sein können. Zumindest was die Mikrobiologie anbelangt, generieren wir große Datensätze von Genomen und von Transkriptomen, die man auch reanalysieren kann mit einem Fokus auf den Schwefel- oder Stickstoffkreislauf. Das ist der große Vorteil, wenn Metagenom- und Metatranskriptom-Daten öffentlich abgelegt werden.

K. Stetter: Zu dem *Candidatus* Desulfosporosinus kann ich nur gratulieren. Ich habe aber noch eine Frage zu den Mikrokosmen. Irgendwann muss der Desulfosporosinus aber doch einmal wachsen, um eine bestimmte Konzentration zu erreichen. In welchen Konzentrationen tritt er im Moor auf? Der von Ihnen vorgeschlagene Wachstumsstillstand kann durchaus sein, aber evtl. handelt es sich ja um einen oligotrophen Organismus. Ich habe es bei meinen Kultivierungen manchmal gesehen, dass die Konzentration an zugegebenen Nährstoffen einfach zu hoch war. Dann wächst der Organismus zwar nicht mehr, verstoffwechselt die Nährstoffe aber noch. Wenn man das Substrat ganz langsam über Diffusion zugibt, wie es ja auch in der Natur ist, könnte es sein, dass er in den Mikrokosmen trotzdem wächst.

A. Loy: Das habe ich meinem Vortrag etwas plakativ formuliert. Bei „praktisch kein Wachstum“ sprechen wir über einen Zeitraum von 50 Tagen in den Mikrokosmen. Er wächst schon, aber sehr, sehr langsam im Verhältnis zu der Energie, die er gewinnt. Um in den Mikrokosmen die zugegebenen ¹³C-markierten Substrate einzubauen,

muss der Organismus Zellteilung machen, und das ist auch passiert. Mit der Real-time PCR haben wir das auch quantifiziert. Am Anfang lag er bei 0,006 % der mikrobiellen Lebensgemeinschaft und am Ende, nach 2 Monaten Inkubation unter Bedingungen, unter denen der Organismus sehr aktiv ist, lag der Wert bei 0,6 %. Im Moorboden kommt er in Konzentrationen von unter 10^5 Genomkopien pro Kubikzentimeter vor. Der Punkt ist aber eher der: Wachstumsstillstand ist der

überwiegende Zustand von Mikroorganismen in der Natur, zu einem gegebenen Zeitpunkt sind die wenigsten aktiv. Das ist also nichts Neues. Sehr ungewöhnlich ist aber, dass Organismen in einer komplexen mikrobiellen Lebensgemeinschaft hoch aktiv sein können und ATP generieren können, dies aber nicht in Wachstum umsetzen. Es ist noch nicht eindeutig getestet, weil wir den Organismus noch nicht in Reinkultur bekommen haben. Wir haben schon versucht, ihn anzureichern, es ist uns aber noch nicht gelungen.