

Spezifische Nitrifikantenanalysen an Bakterienstarter-Produkten

KUNDE:	NatureHolic Fulfillment GmbH	KONTAKT:	Herr Colicelli
KUNDEN-NR:	K25295	REFERENZ/AUFTRAGS-NR:	-
PROBENEINGANG:	03.12.2025	PROJEKT:	P2512102
ANGEWANDTE METHODE:	VIT® Gensondentechnologie	ANZAHL DER PROBEN:	1

A. VORHABEN

Ein „Bakterienstarter“ Produkt sollte hinsichtlich der unterschiedlichen aeroben Nitrifikanten untersucht werden. Zur Anwendung kam dabei die kultivierungsunabhängige VIT® Gensondentechnologie.

B. VIT® GENSONDENTECHNOLOGIE

Das Prinzip der VIT® Gensondentechnologie basiert darauf, dass Fluoreszenz-markierte Sonden in die morphologisch intakten Zellen eindringen und diese anschließend fest an ihre spezifischen Zielstellen innerhalb der Zellen binden. Eine Identifizierung und Quantifizierung findet nach Anregung des an die Sonden gekoppelten Fluoreszenzfarbstoffes unter dem Fluoreszenzmikroskop statt. Diese molekularbiologische Analysenmethode ermöglicht es, Mikroorganismen spezifisch, individuell und kultivierungsunabhängig direkt in der Untersuchungsprobe (*in situ*) zu visualisieren, zu identifizieren und zu quantifizieren. Der große Vorteil der Methode liegt darin, dass die Identifizierung auf dem Nachweis der Erbsubstanz beruht und somit nicht von phänotypischen Merkmalen abhängt. Es lassen sich mikrobielle Charakteristika von Schlämmen und Populationsveränderungen sehr exakt analysieren. Da der Nachweis nicht auf der DNA der Zellen, sondern auf der rRNA der Zellen beruht, werden mit den Sonden nur lebende, physiologisch aktive Zellen nachgewiesen. Dabei spiegelt die Signalstärke die Aktivität der einzelnen Zellen wider: Je aktiver die Zellen sind, desto mehr ribosomale RNA ist in den Zellen vorhanden und umso heller erscheint das Fluoreszenzsignal durch die erhöhte Anzahl an gebundenen Sonden. Die Nachweisgrenze dieser Methode entspricht in etwa 1.000 Zellen / ml.

C. DURCHGEFÜHRTE ANALYSEN

Im Einzelnen wurden folgende Arbeiten durchgeführt:

- Aufbereitung des Bakterienstarter Kugelproduktes durch starkes Vortexen und Schütteln, um den Biofilm von dem porösen Trägermaterial zu extrahieren. Danach Entfernen des Trägermaterial, gefolgt von Zentrifugieren und Entfernen des Überstands.
- Analyse der Probe mit Fluoreszenz-markierten Sonden, welche einerseits die funktionellen Gruppen der aeroben Ammonium-oxidierenden Bakterien (AOB) und der Nitrit-oxidierenden Bakterien (NOB) nachweisen sowie verschiedene Gattungen und Arten innerhalb dieser Gruppen identifizieren (siehe Tabelle 1)
- Analyse der entsprechenden Populationen mittels Fluoreszenzmikroskopie: Quantifizierung der einzelnen Populationen in Relation zur vitalen Gesamtpopulation
- Dokumentation der Ergebnisse

D. ERGEBNISSE

In der Probe, „Bakterienstarter Kugel“, konnten 81 % aller lebenden Bakterien als AOB nachgewiesen werden. Durch das Screening mit den spezifischen Gensonden wurde als einzige AOB Art *Nitrosomonas oligotropha* identifiziert.

Der Nachweis der NOB mit Gruppen-spezifischer Sonde erbrachte einen Anteil von 7 %, welcher mittels spezifischer Gensonde als *Nitrospira* spp. identifiziert wurde. Andere NOB konnten nicht ermittelt werden.

Nitrospira ist ein weit verbreiteter NOB in aquatischen Systemen. In Kläranlagen ist er weitaus häufiger vorhanden als der vielfach bekanntere *Nitrobacter*, dessen Bekanntheit i.W. auf seiner guten Kultivierbarkeit, nicht aber auf seiner tatsächlichen Abundanz beruht.

In einigen Biofilmflocken dieser Probe konnte eine schöne räumliche Vergesellschaftung beider Populationen beobachtet werden, die wichtig für die Nitrifikation ist, um einen effektiven Substrat-Austausch von AOB an NOB vorzunehmen (siehe Fotodokumentation).

Tabelle 1: Ergebnisübersicht des Gensondenscreening

	Anteil an der lebenden Gesamtpopulation (%)
Probe Bakterienstarter Kugel	
Ammonium-oxidierende Bakterien (AOB)	81
<i>Nitrosomonas oligotropha</i>	81,0
Nitrit-oxidierende Bakterien (NOB)	7
<i>Nitrospira</i> spp.	7,0

E. ANHANG

Fotodokumentation repräsentativer Ergebnisse

vermicon AG, Hallbergmoos, 23.12.2025



Dr. Claudia Beimfohr

A

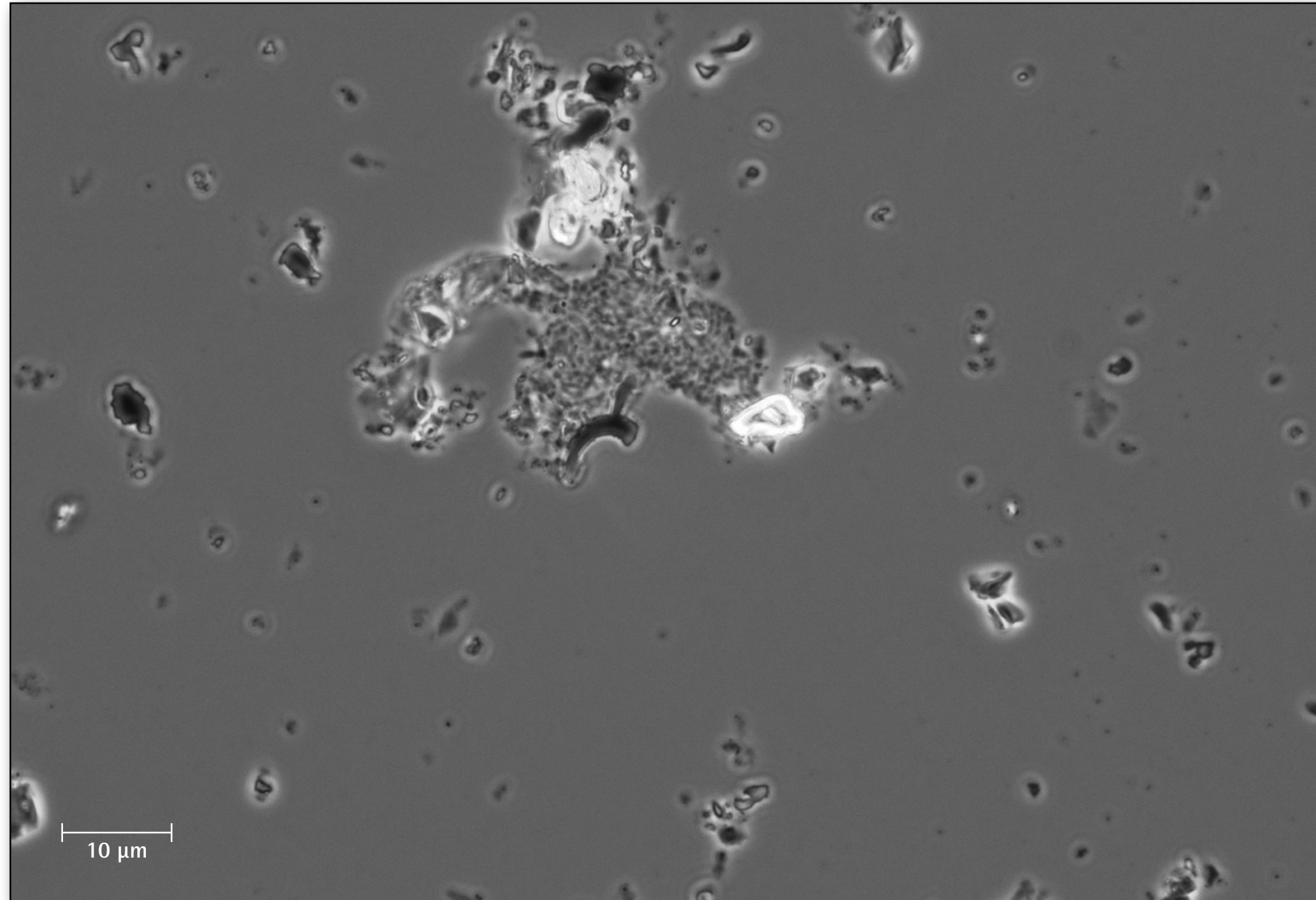


Bild A:

Phasenkontrast

B

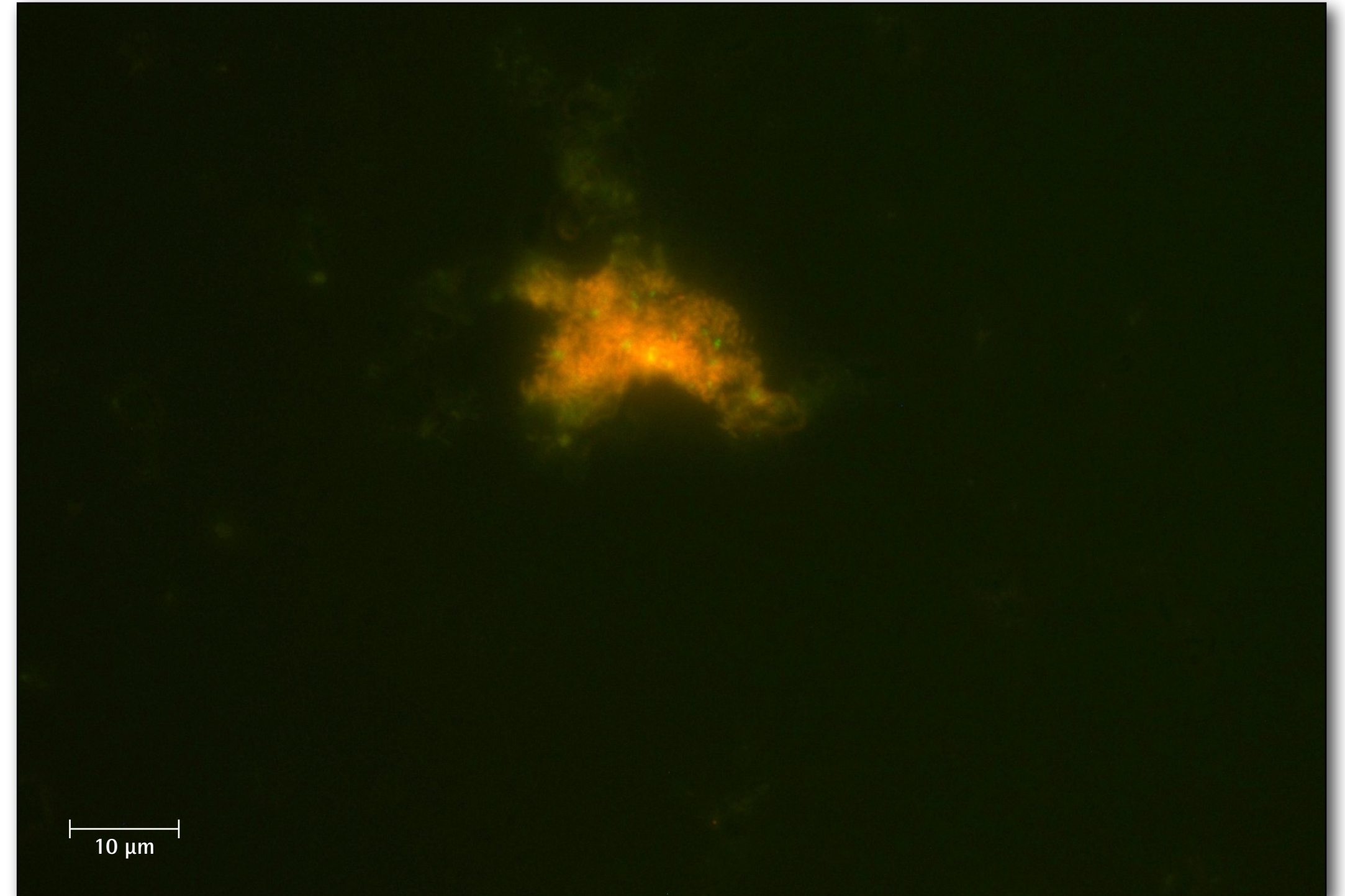
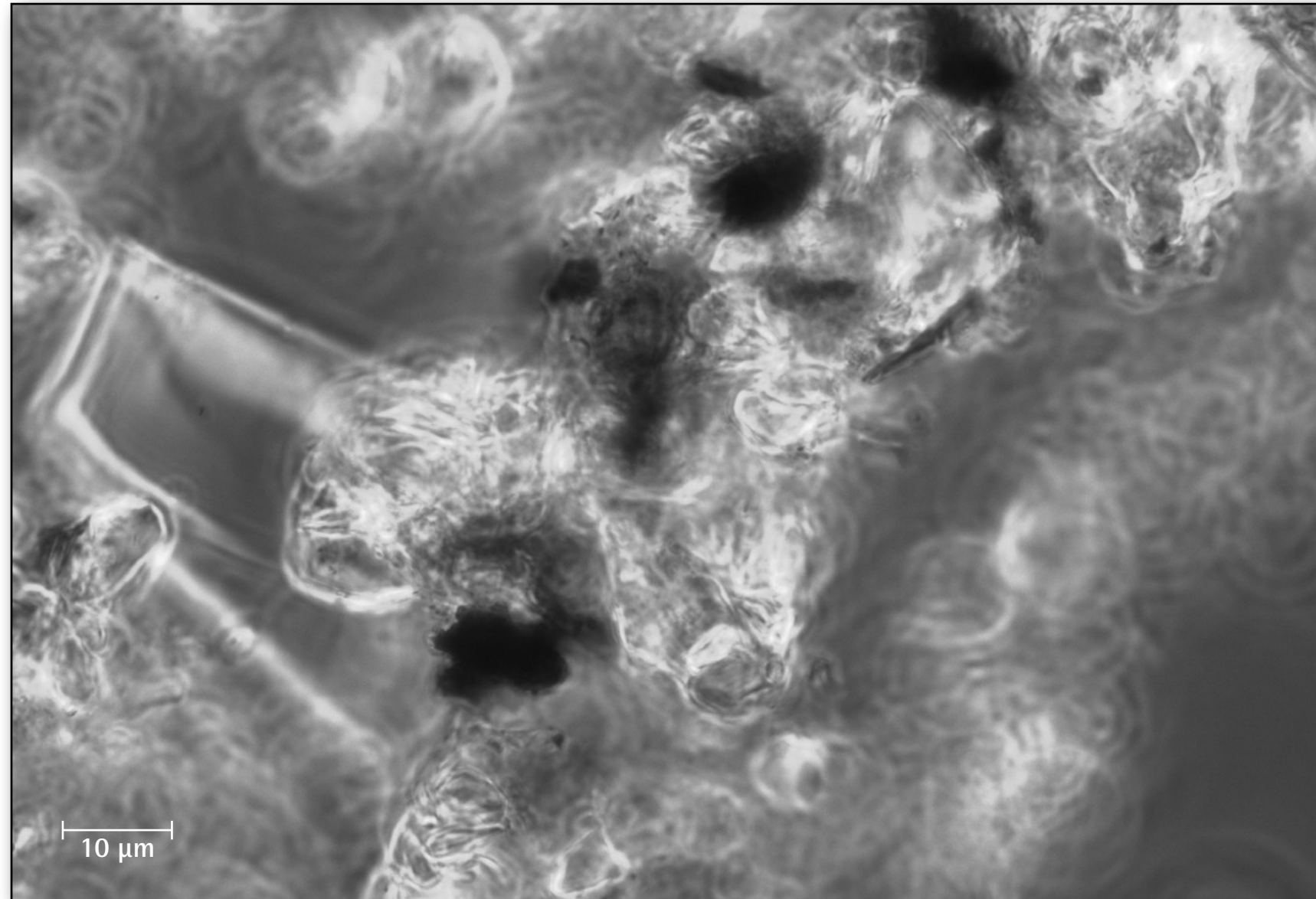


Bild B:

Identischer Ausschnitt unter Fluoreszenz:

Simultaner Nachweis der AOB (rot) und NOB (grün). Auf dem Foto ist eine schöne Vergesellschaftung von AOB und NOB in einer Biofilmflocke zu erkennen.

A



B

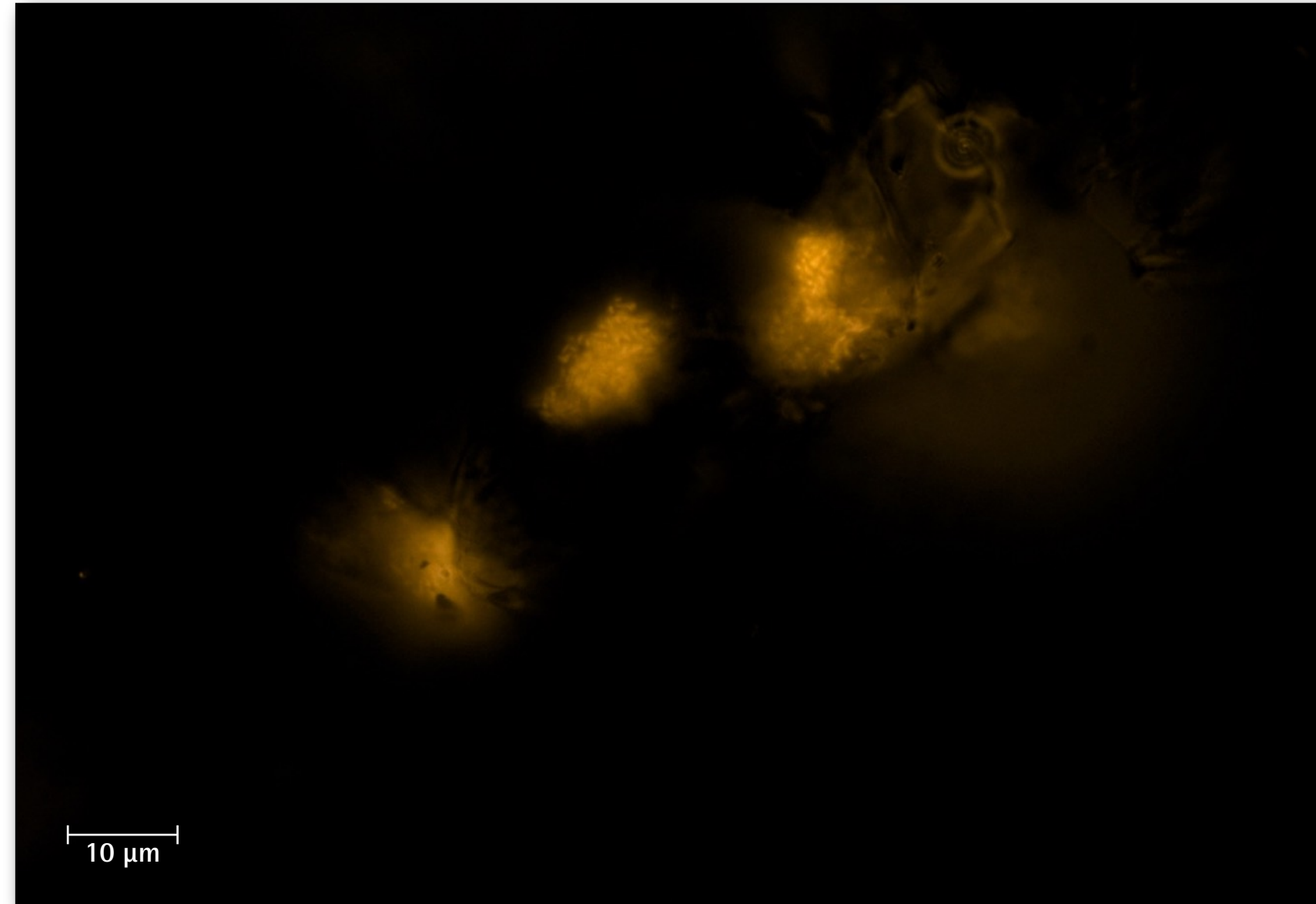


Bild A:

Phasenkontrast

Identischer Ausschnitt unter
Fluoreszenz:

Bild B:

Spezifischer Nachweis von
Nitrosomonas oligothropha
(AOB) (rot)

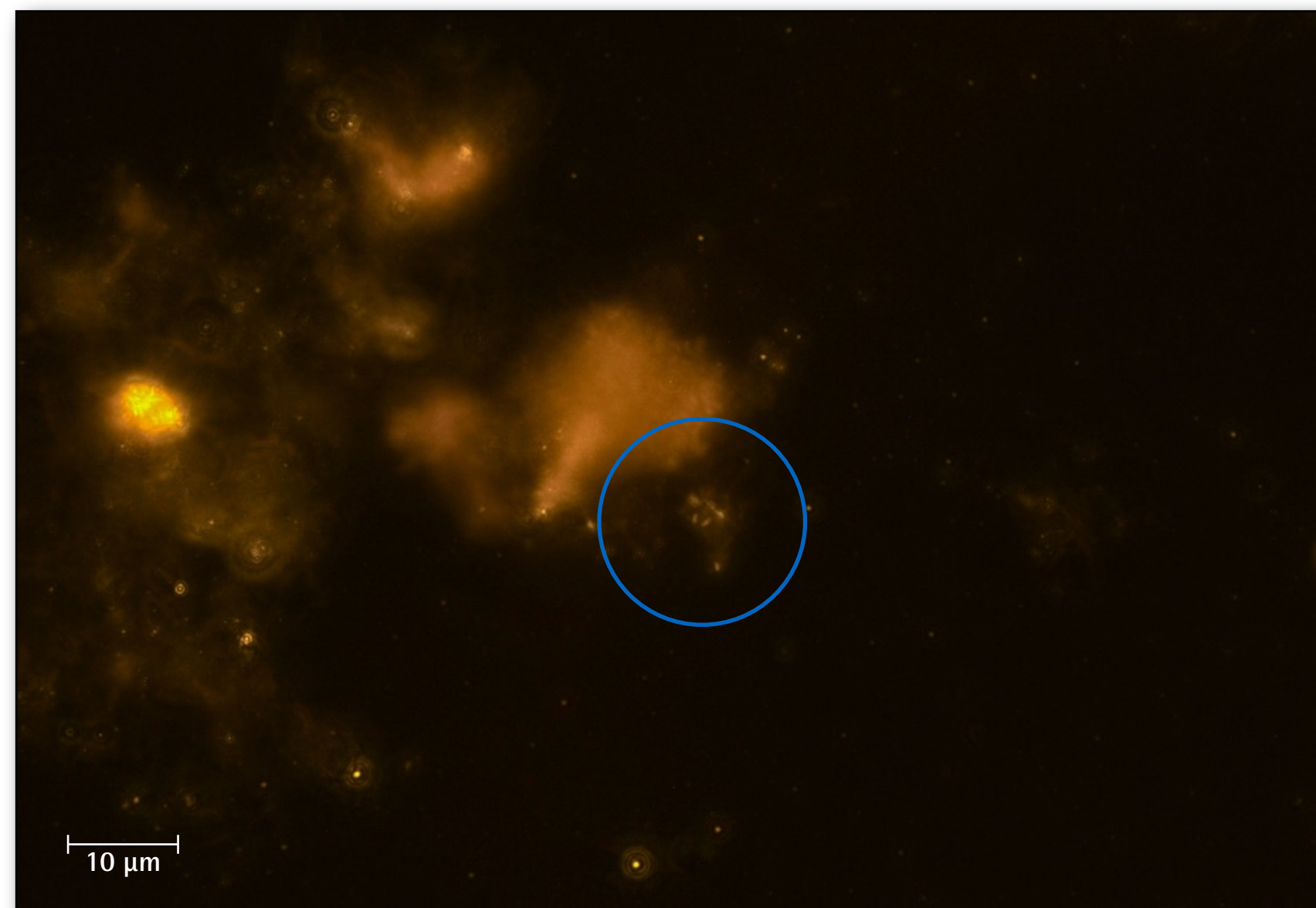
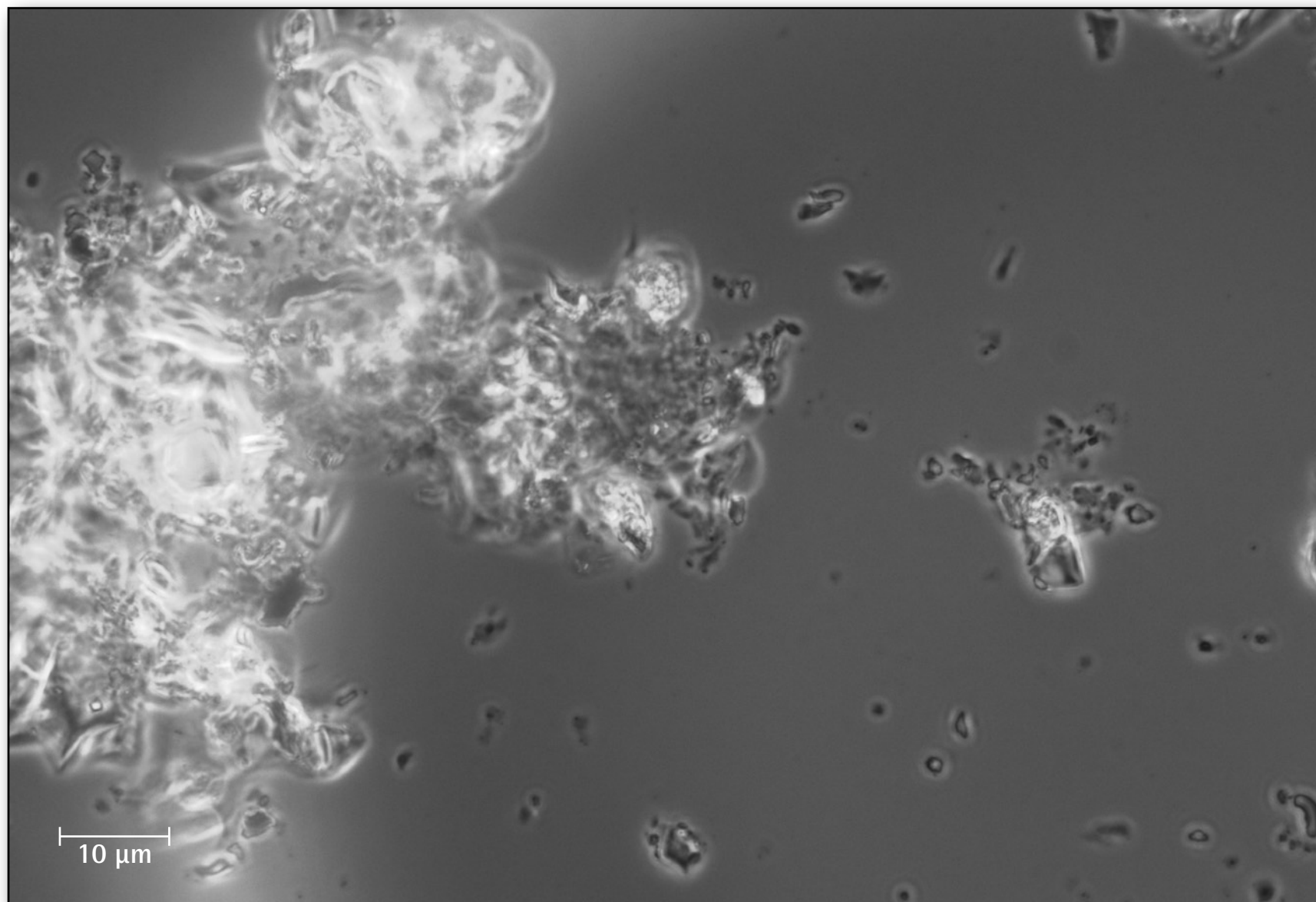


Bild C:

Phasenkontrast

Identischer Ausschnitt unter
Fluoreszenz:

Bild D:

Speifischer Nachweis von
Nitrospira spp. (NOB) (rot)

Gesamtvergrößerung der
mikroskopischen Aufnahmen: 1000-fach

C

D