

Mobilisierung von Spurenelementen in Bodenextrakten durch bakterielle Siderophore in Abhängigkeit des pH-Wertes

Influence of pH and presence of bacterial siderophores on the mobilization of trace elements in soil extracts

Ringo Schwabe, Britta Obst, Marika Mehnert, Dirk Tischler, Oliver Wiche

Zusammenfassung: In der vorliegenden Studie untersuchten wir die Effekte biotechnologisch hergestellter Metallophormischungen auf die Mobilisierung von Spurenelementen in Böden bei unterschiedlichen pH-Werten. Dazu wurden Bodenproben mit Kulturüberständen von zwei Bodenbakterien (*Gordonia rubripertincta* CWB2 und *Paracoccus denitrificans* PD1222) versetzt, in denen der pH-Wert auf pH 5, 6, 7 und 8 eingestellt wurde. Die Aktivität der Kulturüberstände wurde mit Hilfe eines CAS-Tests auf deren Eisen-Komplexierungspotential überprüft. Die Konzentration von Fe, Mn, Cu, Zn, Pb, Cd, Ga und Ge in den Extraktionslösungen wurde mittels ICP-MS gemessen. Als Referenzen dienten Extraktionslösungen mit kommerziell verfügbarem Desferrioxamin B oder Kulturmedium. Die von den Stämmen produzierte Metallophormischung zeigte bei pH 8 die besten Ergebnisse und ermöglichte es, essentielle Spurenelemente wie Fe, Ga oder Mn etwa dreimal besser zu mobilisieren als mit rein kommerziell erhältlichem DFOB. Diese Ergebnisse zeigen vielversprechende Perspektiven für den Einsatz dieser Präparate zur Verbesserung alternativer biotechnologischer Strategien zur Verbesserung von Rohstoffrecycling durch Lösungsextraktion, Bodensanierung und Biomining und bilden die Grundlage von chemischen Interaktions-Screenings zwischen Mikroorganismen in der Rhizosphäre von Pflanzen.

Schlüsselwörter/Keywords: Metallophore, Desferrioxamin B, Strategische Elemente, Elementextraktion; strategic elements, siderophores, element extraction,

1. Einleitung

Die Bioverfügbarkeit von Spurenelementen in Böden ist von komplexen Interaktionen zwischen chemischen Bodeneigenschaften und der Bodenorganismen abhängig. Chemische Schwankungen der Bodeneigenschaften, bedingt durch Umwelteinflüsse, die Bindung der Elemente in mineralischen und organischen Elementspezies sowie der pH-Wert beeinflussen dabei maßgeblich die Löslichkeit von Elementen. Mit abnehmendem pH-Wert nimmt so für viele Element-Spezies die Löslichkeit zu. Folglich sind Spurenelemente unter sauren Bedingungen am mobilsten, während die Erhöhung des pH-Wertes ihre Bioverfügbarkeit verringert (Alloway 1999).

Eisen steht in der Reihe der Elementhäufigkeit nach dem Massenanteil an zweiter Stelle bezogen auf die gesamte Erde. Die häufigsten Minerale, in denen Eisen vorkommt, sind Magnetit, Hämatit, Goethit, Lepidokrokit und Siderit. Eisen ist eines der häufigsten Elemente, aber aufgrund der schlechten Bioverfügbarkeit dennoch ein Spurenelement für Organismen. Für fast alle Lebewesen ist Eisen essentiell und in vielen mikrobiellen Habitaten ein limitierender Faktor. Eisen ist essentieller Bestandteil in prosthetischen Gruppen wie dem Häm des Hämoglobins. Als Bestandteil in Enzymen wie z. B. den Cytochromen dient es als wichtiger Cofaktor in energieliefernden Stoffwechselwegen der Atmungskette. Auch am Energietransfer in den Photosystemen der Photosynthese ist es beteiligt. Die extrem niedrigen Konzentrationen gelöster Eisen (II) Spezies im Meer (nur zu 0,002 mg/L) liegen darin begründet, dass es bereits im sauren und neutralen pH-Bereich und unter sauerstoffreichen Bedingungen vorwiegend als dreiwertiges Eisenhydroxid vorliegt. Erst unter reduzierten Bedingungen kommt es eher in zweiwertiger, bioverfügbarer Form vor. Auf kalkhaltigen Böden treten daher meistens Eisenmangelercheinungen auf, auch wenn genug Eisen vorhanden ist. Als Bestandteil vieler organischer und anorganischer Chelatkomplexe ist es in den meisten Fällen aber gut löslich.

Einigen Mikroorganismen, Pilzen und sogar Pflanzen ist es gelungen, wirksame Mechanismen zur Aufnahme von essentiellen Metallen durch Chelatkomplexe zu entwickeln und derartig limitierende Bedingungen zu überwinden. Sie spielen deshalb auch in Bodensystemen eine wichtige Rolle (Karimzadeh et al. 2012). Zum einen ist es den Bakterien möglich, Eisen (III) zu reduzieren und unter Energieverbrauch in die Zelle zu transferieren. Zum anderen können sie Säuren und extrem hoch affine biologische Komplexbildner, sogenannte Siderophore, ins Medium ausschütten, um lokal mineralische Eisenhydroxide zu lösen und in Form von Elementkomplexen zu mobilisieren. Diese Fe (III)-Siderophor-Komplexe können dann sehr selektiv an der Zelloberfläche wiedererkannt und entweder direkt enzymatisch reduziert werden oder in komplexierter Form durch Rezeptoren ins Zellinnere transportiert werden.

Strukturell wurden bisher mehr als 500 verschiedene mikrobielle Siderophore charakterisiert (Hider & Kong 2015). Im Allgemeinen können diese anhand ihrer funktionellen Gruppen in drei Hauptgruppen eingeteilt werden: Hydroxamate, Catecholate (Phenolate) und Carboxylate. Dabei bilden Pflanzen und auch einige Bakterien (Poly-)Carbonsäure-basierende Siderophore. Der Großteil der im Boden vorhandenen bakteriellen Siderophore sind Catecholate. Die meisten Pilze bilden auf Hydroxamsäure basierende Siderophore (Neubauer et al. 2002).

Die Rhizosphäre von Pflanzen ist ein komplexer und hochdynamischer Bereich im Boden, in dem eine ungeheure Anzahl von Wechselwirkungen zwischen Wurzeln, Mineralien, organischen Verbindungen, gelösten Stoffen, Gasen und (Mikro-)Organismen stattfinden, wodurch auch die Verfügbarkeit von Elementen im Boden beeinflusst wird (Oburger et al. 2016). Aufgrund dieser vielen Interaktionen zwischen (Mikro-)Organismen, Boden und Pflanzen ist die Rhizosphäre in der Bodenökologie von besonderem Interesse (Bakker et al. 2013). Obwohl Siderophore mit extrem hoher Affinität überwiegend Fe (III) chelatisieren, beeinflussen sie nicht nur die Eisen-, sondern auch die Schwermetall-Mobilität in Böden (Hernlem et al. 1996; Karimzadeh et al. 2012). In Abhängigkeit von der Bindungsform der Schwermetalle, der Ladung der Siderophor-Spezies und dem pH-Wert des Bodens können Siderophore die Mobilisierung von Schwermetallen verstärken oder verringern (Neubauer et al. 2002). Aber nicht nur essentielle Spurenelemente, sondern auch Seltene Erden und Germanium werden durch Siderophore komplexiert, wie neuere Studien zeigen (Bau et al. 2013; Wiche et al. 2017).

Ziel der hier vorgestellten Untersuchung war es, die Mobilisierung von Spurenelementen in Böden durch bakterielle Siderophormischungen im Vergleich zu Modelllösungen mit kommerziell erhältlichem DFOB und in Abhängigkeit vom pH-Wert zu untersuchen. Die gesteigerte Mobilität der Spurenelemente sollte hierbei anhand von Bodenelutionsexperimenten nachgewiesen werden. Hierfür wurde alkalischer Boden aus der Umgebung Freibergs auf pH-Werte von 5, 6, 7 und 8 eingestellt und mit Siderophor-haltigen Kulturüberständen der Bakterienstämme *Paracoccus denitrificans* PD1222 und *Gordonia rubripertincta* CWB2 behandelt. Zum Vergleich wurde das Hydroxamat-Siderophor Desferrioxamin B (DFOB) verwendet. Hierfür wurde über ein Chelatisierungs-Assay (CAS Assay) die CAS-Aktivität der Siderophor-haltigen Kulturüberstände anhand einer DFOB-Kalibriergeraden berechnet und somit die Konzentration von DFOB in den Extraktionslösungen an die Chelatisierungsaktivität der Kulturüberstände angepasst. Als Referenz wurde die Extraktion ebenfalls mit Kulturmedium durchgeführt, um Effekte einer gesteigerten selektiven Mobilisierung von Spurenelementen in Anwesenheit von bakteriellen Siderophoren gegenüber dem Medium nachweisen zu können.

2. Material und Methoden

2.1 Vorbereitung Bodenproben und Bodeneigenschaften

Aus der Umgebung von Freiberg, Sachsen, wurde leicht alkalischer Oberboden entnommen und anschließend für die weiteren Analysen aufbereitet. Zunächst wurde die Probe im Trockenschrank bei 105°C getrocknet, gemörsert, homogenisiert und gesiebt, um pflanzliche Rückstände und Steine zu entfernen. Relevante Bodeneigenschaften wie der pH-Wert ($\text{pH } 7,71 \pm 0,07$), die Leitfähigkeit ($95,44 \pm 1,39 \mu\text{S/cm}$) und der prozentuale Humusgehalt ($9,30 \pm 0,19 \%$) wurden ermittelt. Die Konzentrationen von PO_4^{3-} , NO_3^- und NH_4^+ wurden photometrisch nach Bolleter et al. (1961) sowie Hartley & Asai (1963) bestimmt, wobei sich eine durchschnittliche Ammoniumkonzentration von 6,2 mg/kg, eine Nitratkonzentration von 176,3 mg/kg und eine Phosphatkonzentration von 61,09 mg/kg ergaben. Die Elementzusammensetzung des Bodens wurde nach mikrowellengestütztem Säureaufschluss (HNO_3 , HCL, HF) mittels ICP-MS gemessen (Wiche et al. 2017). In Tabelle 1 ist die Gesamtelementkonzentration des Bodens angegeben.

2.2 Herstellung Siderophor-haltiger Kulturüberstände von *Paracoccus denitrificans* PD 1222 und *Gordonia rubripertincta* CWB2

Zur Kultivierung der verwendeten Stämme *Paracoccus denitrificans* PD1222 und *Gordonia rubripertincta* CWB2 wurden diese aus Kryo-Kulturen auf LB Agar-Platten überimpft und für 3 Tage bei 30 °C inkubiert. Angewachsene einzelne Kolonien wurden danach mit einer Impföse in 900 ml LB-Medium überimpft und bei 30 °C für zwei Tage bei 120 U/min vorkultiviert. Anschließend wurden die Zellen der Vorkultur, aufgeteilt auf zwei 450 ml Zentrifugenbecher, bei 10.000 g und 4 °C für 15 min zentrifugiert. Die so abgetrennte Biomasse wurde anschließend zweimal gewaschen. Die Pellets wurden jeweils zweimal mit 50 ml Basalsalzlösung (Esuola et al. 2016) resuspendiert und zentrifugiert. Nach dem Waschen wurden die Zellen in einem Liter Eisen-Mangel-Minimal Medium (Esuola et al. 2016) für 14 Tage inkubiert. Abschließend wurde der siderophor-haltige, CAS-aktive Kulturüberstand durch Zentrifugation geerntet und bei 4 °C gelagert. Kurz vor Einsatz in den Elutionsexperimenten wurden die Lösungen erneut auf CAS-Aktivität überprüft.

Tabelle 1: Gesamtkonzentrationen ($\mu\text{g/g}$ Trockengewicht) ausgewählter Spurenelemente in der für das Elutionsexperiment verwendeten Bodenprobe (Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 5$).

Table 1: Total concentrations ($\mu\text{g/g dw}$) of selected trace elements in the soil used for the experiment (means \pm sd, $n = 5$).

Element	Ga	Ge	Fe	Cu	Zn	Mn	Cd	Pb
Konzentration	10 ± 2	$3,8 \pm 0,7$	22344 ± 413	104 ± 68	986 ± 71	689 ± 134	$6,2 \pm 0,7$	303 ± 71

2.3 CAS Assay

Wie nach Schwyn & Neilands (1987) beschrieben, wurde die CAS-Reagenzlösung hergestellt, aber mit 500 mM MES statt mit Pipes gepuffert. Die im Kulturüberstand enthaltenen Siderophore verursachen eine Entfärbungsreaktion des blauen Fe-Chromazurol-S-Komplexes, welcher photometrisch bei 630 nm detektiert wurde. Zur Berechnung der DFOB-Äquivalente (μmol) wurde folgende Kalibrierungsfunktion (1) mit $k = 0,04$ verwendet.

$$y = y_{\max}(BW - e^{(-kx)}) \quad (1)$$

2.4 Elutionsversuche zur Elementmobilisierung durch Siderophore

Für die Elutionsversuche wurden 4 g getrockneter Boden eingewogen und mit 40 ml Lösung versetzt. Die drei Lösungen enthielten entweder DFOB oder die Kulturüberstände *Paracoccus denitrificans* PD 1222 und *Gordonia rubripertincta* CWB2. DFOB sollte hierbei gemäß der über das CAS-Assay gemessenen DFOB-Äquivalente eingesetzt werden, um die resultierenden pH-Metallmobilisierungs-Profile miteinander vergleichen zu können. Die Lösung aus reinem Kulturmedium diente hierbei als Referenz, da die darin enthaltenen Substanzen ebenfalls potentiell zu einer Mobilisierung der Elemente führen können. Im nächsten Schritt wurden die Bodenproben, nach der Zugabe der Behandlungslösungen, auf die pH-Werte 5, 6, 7 und 8 eingestellt. Hierbei wurden für die pH-Werte 5, 6 und 7 sowohl eine 0,178 M (1:100) Schwefelsäure als auch eine 1,78 M (1:10) Schwefelsäure verwendet. Der pH-Wert 8 wurde mit einer 0,5 M (1:5) Natronlauge eingestellt.

Je pH-Wert und Behandlungslösung wurden fünf Wiederholungen angesetzt. In 50 mL Zentrifugenröhrchen wurden die Proben im Horizontalschüttler 24 Stunden bei Raumtemperatur extrahiert. Nach der Elution wurden die Proben bei 4.000 rpm zentrifugiert und jeweils in 15 mL Zentrifugenröhrchen umgefüllt. Anschließend wurden 100 μL konzentrierte Salpetersäure zur Stabilisierung hinzugegeben und die Proben bei 4 °C gelagert, bevor die Analytik erfolgte.

2.5 Spurenelementanalytik

Die Spurenelementanalyse erfolgte mittels ICP-MS (Inductive Coupled Plasma Mass Spectrometry) (Xseries 2, Thermo scientific). Die abzentrifugierten Überstände der Bodenextraktion wurden filtriert (0,2 μm), um störende Rückstände zu entfernen. Die Filtrate wurden in 15 ml Zentrifugenröhrchen mit Reinstwasser verdünnt (1:10). Die Messung der Elemente erfolgte in Anlehnung an Wiche et al. (2017) und Wiche et al. (2018).

2.6 Statistische Methoden

Signifikante Unterschiede zwischen Behandlungsvarianten wurden durch eine einfaktorische Varianzanalyse (ANOVA) bestimmt, gefolgt von einem LSD post-hoc-Test. Im Falle signifikanter Unterschiede in den Varianzen der betrachteten Gruppen (pH-Werte und Kulturüberstände) wurde der Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Ein Ergebnis galt hierbei als signifikant, wenn $p < 0,05$.

3. Ergebnisse

Beide Bodenbakterien wurden zur Biosynthese von Siderophoren erfolgreich unter Eisenmangel kultiviert. Anhand des CAS-Assays konnten Siderophore im Bereich von 57-128 μM DFOB-Äquivalenten bestimmt werden. Im verwendeten Minimalmedium mit Succinat als Kohlenstoffquelle bildete *Gordonia rubripertincta* CWB2 signifikant mehr Siderophore als *Paracoccus denitrificans* PD1222. Als Kontrolle wurde DFOB auf die Konzentration des *Paracoccus denitrificans* PD1222 von 57 μM eingestellt. Das Minimalmedium selbst zeigte keine signifikante Metallmobilisierung und diente hierbei als Referenz.

Für das essenzielle Spurenelement Eisen dominierte der Kulturüberstand von *Gordonia rubripertincta* CWB2 das Mobilisationsvermögen, besonders bei pH 8 (Abb. 1). Für Cu dominierte das Mobilisationsvermögen von PD1222 um das 3,6-fache gegenüber der Variante mit DFOB ebenfalls bei pH 8. Im Gegensatz dazu stieg die Mobilisierung von Zn, Mn und Co mit fallendem pH-Wert. Die Elution mit Hilfe des Kulturüberstandes von PD1222 wies bei diesen Elementen eine signifikant größere Mobilisierung auf als die Elution mit CWB2. Die

Mobilisierung von Pb und Ga stieg ebenfalls mit dem pH-Wert an. Hier dominierte deutlich das Mobilisationsvermögen von CWB2 (Abb. 2). Cd ließ sich hingegen am besten bei pH 5 mobilisieren, wobei der Kulturüberstand von PD1222 hier die besten Ergebnisse erzielte.

Hinsichtlich Ge ließ sich nur bei pH 6 eine signifikant höhere Mobilisierung mit PD1222 gegenüber den anderen Varianten feststellen. Die Konzentration war dabei um das 1,7-fache höher gegenüber der Konzentration der Varianten mit CWB2 und DFOB (Abb. 2). Bei pH 8 überwog wieder das Mobilisationsvermögen von CWB2. Abgesehen von den sehr niedrigen Konzentrationen eluierter chelatisierter Metalle bzgl. der Gesamtkonzentration des Bodensubstrates lässt sich in Tabelle 2 erkennen, dass sich stammspezifisch mit den Kulturüberständen ca. 2-4mal mehr Eisen, aber auch Mangan, Blei, Kupfer oder auch Gallium in Lösung bringen lässt als bei Verwendung der reinen Referenzsubstanz DFOB.

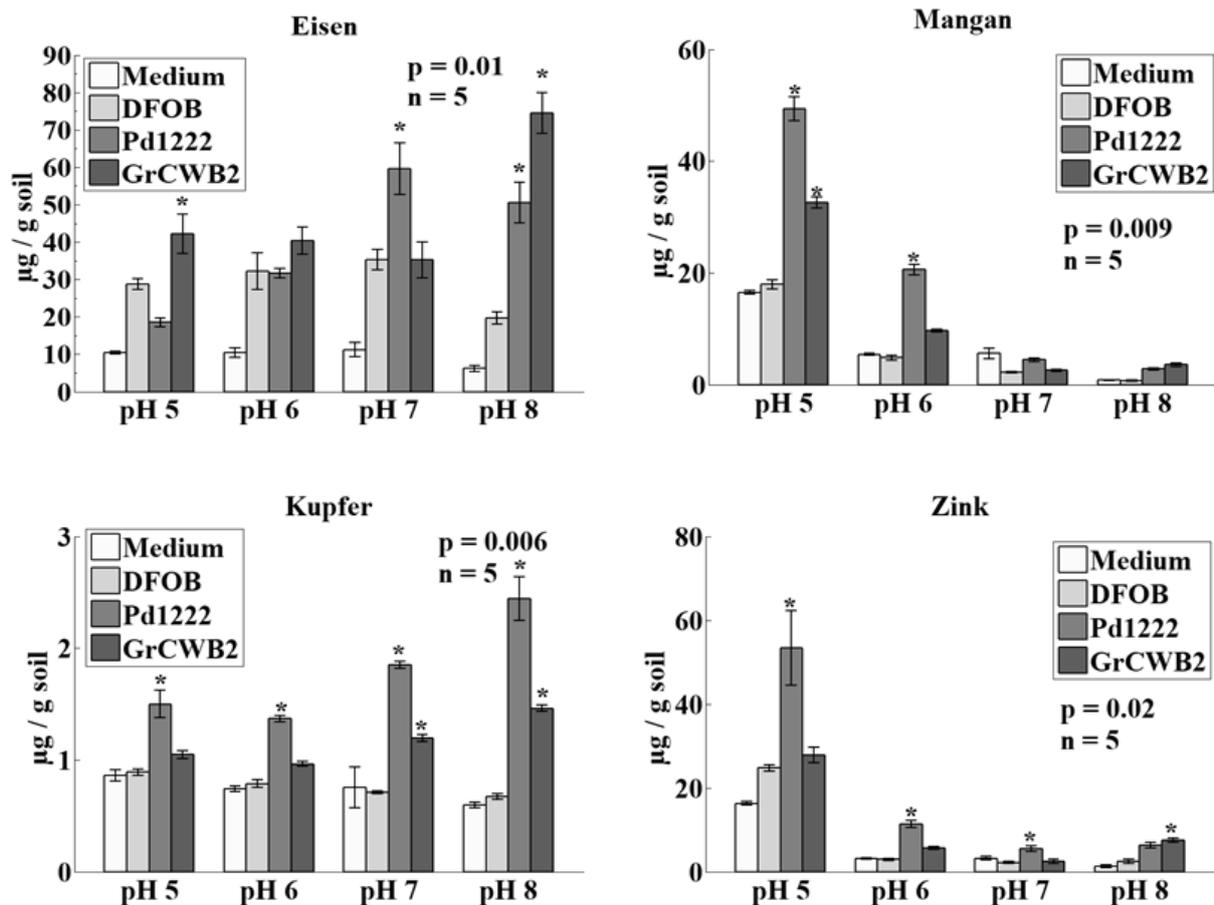


Abb. 1: Mobilisierung der essentiellen Spurenelemente Fe, Cu, Mn, und Zn bei pH 5 – 8. Die Balken zeigen die Mittelwerte plus Standardfehler. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte bzgl. der Referenz Substanz DFOB wurden mit einem Stern (*) markiert.

Fig. 1: Mobilization of the essential trace elements Fe, Cu, Mn and Zn at pH 5 – 8. Each bar represents the mean \pm se. Significant differences between the culture supernatants and DFOB (control) are marked with an asterisk.

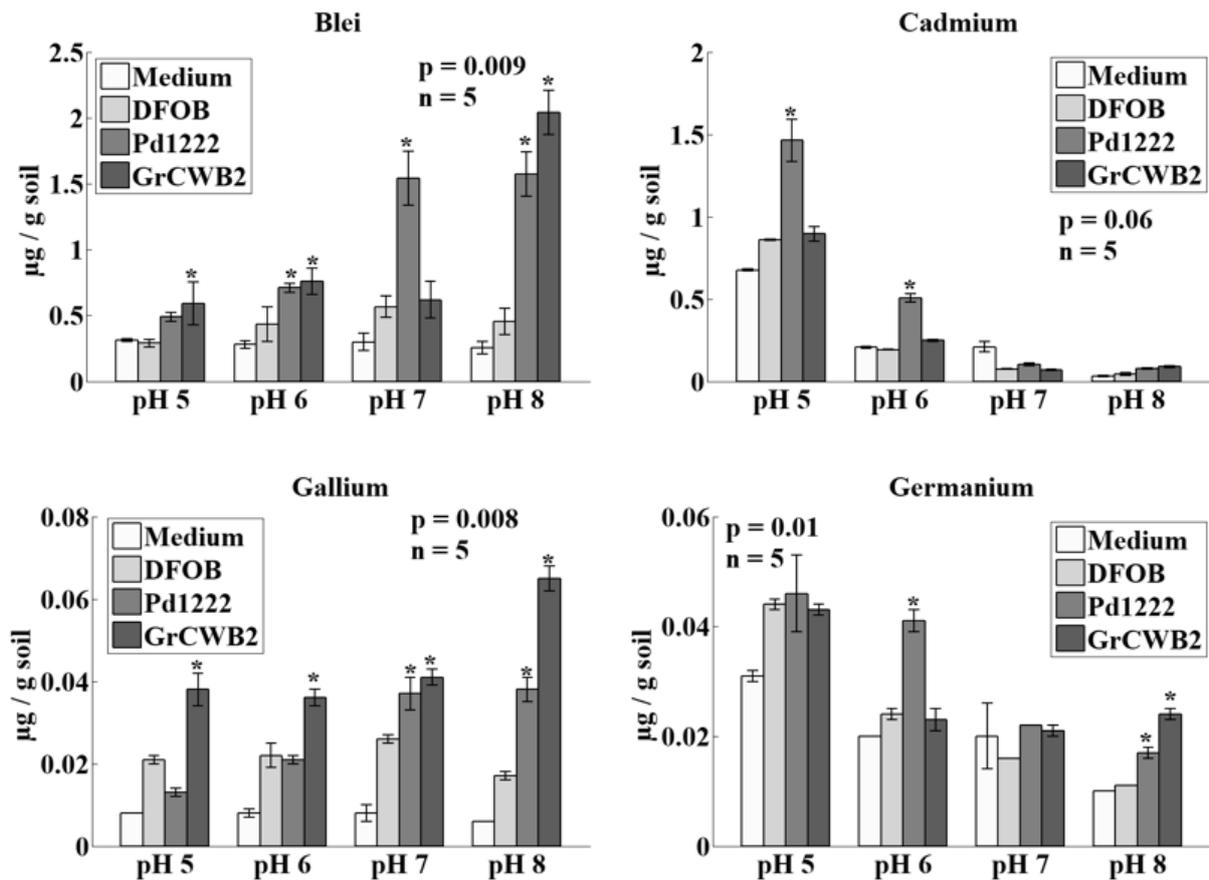


Abb. 2: Mobilisierung der nicht-essentiellen Spurenelemente Pb, Cd, Ga und Ge bei pH 5 – 8. Die Balken zeigen die Mittelwerte plus Standardfehler. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte bzgl. der Referenz Substanz DFOB wurden mit einem Stern (*) markiert. .

Fig. 2: Mobilization of the non-essential trace elements Pb, Cd, Ga und Ge at pH 5 – 8. Each bar represents the mean \pm se. Significant differences between the culture supernatants and DFOB (control) are marked with an asterisk.

Tabelle 2: Konzentrationen ($\mu\text{g/g}$) mobilisierter Spurenelemente aus dem verwendeten Bodensubstrat durch siderophorhaltige Kulturüberstände bei optimalen pH-Bedingungen und prozentualer Anteil der extrahierten Elemente an der Gesamtkonzentration im Boden.

Table 2: Total concentrations ($\mu\text{g/g}$) of extracted elements from soil at optimal pH-conditions and extractable elements as percentage share of total concentrations.

Behandlung	Ga	Ge	Fe	Cu	Zn	Mn	Cd	Pb
Boden	9.60	3.80	22344	104.00	986.08	689.09	6.21	302.70
Medium	0.01	0.03	6.2	0.59	16.28	16.50	0.68	0.26
DFOB	0.02	0.04	19.7	0.67	24.75	17.92	0.86	0.46
PD1222	0.04	0.05	50.5	2.44	53.36	49.37	1.46	1.57
CWB2	0.06	0.04	74.5	1.46	27.80	32.58	0.90	2.04
pH	8.00	5.00	8.0	8.00	5.00	5.00	5.00	8.00
max % Eluat	0.67	1.22	0.3	2.35	5.41	7.17	23.57	0.67

4. Diskussion

Für viele Elemente steigt die Bioverfügbarkeit mit fallendem pH-Wert im Boden. Dieser Zusammenhang war auch in diesen Experimenten für Zn, Mn, Ge und Cd zu erkennen (Abb. 1 und 2). Im Gegensatz dazu stiegen die Konzentrationen von Fe, Pb und Ga signifikant mit der Behandlung mit DFOB bei steigenden pH-Werten. Das zeigt, dass bei basischem pH-Wert ein Mobilisierungseffekt durch DFOB auftritt.

Zudem zeigte sich, dass die siderophor-haltigen Kulturüberstände von *Paracoccus denitrificans* PD1222 und *Gordonia rubripertincta* CWB2 die untersuchten Elemente weitaus stärker lösten als die reine Referenzverbindung DFOB. Dies zeigt, dass es für eine verstärkte Metallmobilisierung nicht notwendig ist, die Siderophore aus den Kulturüberständen zu extrahieren, da die synergetischen Effekte der natürlichen Mischungen aus bakteriell produzierten Säuren und Siderophoren die Effekte der Metallmobilisierung sogar noch verstärken können.

Wie deutlich ersichtlich wird zeigen die Elutionsversuche die hohe Affinität der Siderophore für Eisen (Abb. 1). Aber nicht nur Fe, auch Mn zeigt eine starke Mobilisierbarkeit (Abb. 1). Da Mn hinsichtlich diverser Eigenschaften wie Größe und Ladung Fe ähnelt (Blumenthal et al. 2006), deutet dies auf eine starke Komplexierung durch Siderophore hin. Auch Mishra et al. (2010) konnten bereits zeigen, dass Siderophore nicht nur mit Fe, sondern auch zweiwertigen Metallen lösliche Komplexe bilden.

Allerdings war auffällig, dass die Mobilisierung von Fe und Mn ein gegenläufiges Muster zeigte. Für Fe dominierten die Effekte einer Siderophorzugabe bei pH 8, während für Mn die größten Effekte bei pH 5 nachzuweisen waren. Bereits im angesäuerten Medium (ohne Siderophore) waren für Mn deutliche Mobilisierungseffekte zu erkennen, während dies für Fe nicht messbar war (Abb. 1). Damit scheint die Mobilisierung von Mn aus einer starken Interaktion zwischen pH-Wert und Komplexierung zu resultieren, während die Mobilität von Fe überwiegend durch Komplexierung beeinflusst wurde, was die Rolle von Siderophoren bei der Fe-Ernährung von Bodenorganismen und Pflanzen hervorhebt.

Analog zu Fe waren entsprechende Muster ebenfalls für Cu, Ga und Pb nachzuweisen, die ebenfalls Extraktionsmaxima bei pH = 8 zeigten. Allerdings ist zu bedenken, dass Mn und Fe um biogene Liganden konkurrieren und den Transport von anderen Metallen durch Siderophore verhindern können (Kraemer et al. 2015).

Die pH-Wert-abhängige Erhöhung der Bioverfügbarkeit von essenziellen Spurenelementen durch Metallophore konnte in den durchgeführten Bodenelutionsversuchen bestätigt werden. So konnten signifikant ansteigende Konzentrationen der Spurenelemente auch mit steigendem pH vor allem bei den metallophorehaltigen Kulturüberständen von *Paracoccus denitrificans* PD1222 und *Gordonia rubripertincta* CWB2 im Vergleich zur Referenzsubstanz Desferrioxamin B gezeigt werden (Abb. 1 und 2). Eine für Siderophore typische erhöhte Mobilisierbarkeit bei alkalischen pH-Werten, entgegengesetzt zur Löslichkeit vieler Metalle, war hierbei besonders bei der Behandlung mit dem Kulturüberstand von *Gordonia rubripertincta* CWB2 zu beobachten.

Selbst 23 % der Gesamtkonzentration des Cadmiums (6,21 µg/g Boden) konnten mit Hilfe des Kulturüberstandes von *Paracoccus denitrificans* PD1222 in Lösung gebracht werden. So könnten Metallophore potenziell auch Verwendung und Bedeutung in der Umweltsanierung sowie im Phytomining und Bioleaching finden. So kann ein Zusatz bakterieller Siderophore während des Pflanzenwachstums aufgrund der erhöhten Löslichkeit von Nährstoffen und Zielementen einen Transport der Elemente in die Pflanzen begünstigen.

Danksagung

Das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) förderte das Projekt BakSolEx (033R147).

5. Summary

In this study we investigated the effects of biotechnologically produced mixtures of metallophores on the mobilization of trace elements in soil at different pH-values. A homogenized soil sample from the area of Freiberg, Germany was extracted with siderophore containing culture supernatants from two soil bacteria (*Gordonia rubripertincta* CWB2 und *Paracoccus denitrificans* PD1222). The pH was adjusted to pH 5, 6, 7 and 8. As a reference we used the media for bacterial growth as well as the industrial produced siderophore DFOB. The mixtures of siderophores produced by the soil bacteria showed a maximum of element mobilization at pH 8 and enhanced the mobility of Fe, Ga and Mn by a factor of three compared to DFOB. These results show that siderophore containing culture supernatants offer a promising opportunity for the biotechnological optimization of biomining strategies as well as the elucidation of chemical interactions between plant roots, soil and microorganisms in the rhizosphere.

6. Literatur

- Ahmed, E. & Holmström, S. J. (2014): Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microbial biotechnology* 7(3): 196-208.
- Alloway, B. J. (1999): Schwermetalle in Böden: Analytik. Konzentrationen, Wechselwirkungen, Springer, Berlin.
- Backer, A. J. M. & Brooks, R. R. (1989): Terrestrial higher plants which hyper accumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1(2): 81–126.
- Bakker, P. A., Berendsen, R. L., Doornbos, R. F., Wintermans, P. C., & Pieterse, C. M. (2013): The rhizosphere revisited: root microbiomics. *Frontiers in plant science* 4.
- Bau, M., Tepe, N. & Mohwinkel, D. (2013): Siderophore-promoted transfer of rare earth elements and iron from volcanic ash into glacial meltwater, river and ocean water. *Earth and Planetary Science Letters* 364: 30–36.
- Blumenthal, G., Linke, D., & Vieth, S. (2006): Die 1. Reihe der Übergangselemente Titan Ti, Vanadium V, Chrom

- Cr, Mangan Mn, Eisen Fe, Cobalt Co, Nickel Ni. Chemie: Grundwissen für Ingenieure.
- Bolleter, W. T., Bushman, C. J. & Tidwell, P. W. (1961): Spectrophotometric determination of ammonium as indophenol. *Analytical Chemistry* 33: 592–594.
- Esuola, C.O., Babalola, O.O., Heine, T., Schwabe, R., Schlömann, M. & Tischler, D. (2016): Identification and characterization of a FAD-dependent putrescine N-hydroxylase (GorA) from *Gordonia rubripertincta* CWB2. *Journal of Molecular Catalysis B* 134: 378–389.
- Hartley, A. M., Asai, R. I. (1963): Spectrophotometric Determination of Nitrate with 2,6-Xylenol Reagent. *Analytical Chemistry* 35: 1207–1213.
- Hernlem, B., Vane L. & Sayles, G. (1996): Stability constants for complexes of the siderophore desferrioxamine B with selected heavy metal cations. *Inorganica Chimica Acta* 2: 179–184.
- Hider, R. C. & Kong, X. (2010): Chemistry and biology of siderophores. *Natural Product Reports* 27: 637–657.
- Karimzadeh, L., Heilmeyer, H. & Merkel, B. (2012): Effect of microbial siderophore DFO-B on Cd accumulation by *Thlaspi caerulescens* hyperaccumulator in the presence of zeolite. *Chemosphere* 6: 683–687.
- Kraemer, S. M., Duckworth, O. W., Harrington, J. M. & Schenkeveld, W. D. C. (2015): Metallophores and Trace Metal Biogeochemistry. *Aquatic Geochemistry* 21 (2-4): 159–195.
- Mishra, B., Haack, E. A., Maurice, P. A. & Bunker, B. A. (2010): A spectroscopic study of the effects of a microbial siderophore on Pb adsorption to kaolinite. *Chemical Geology* 275 (3-4): 199–207.
- Neubauer, U., Furrer, G., & Schulin, R. (2002): Heavy metal sorption on clay minerals affected by the siderophore desferrioxamine B: the role of Fe(III) (hydr)oxides and dissolved Fe(III). *European Journal of Soil Science* 53: 45–55.
- Rajkumar M., Ae N., Prasad M. N. V. & Freitas, H. (2010): Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends in Biotechnology* 28: 142–149.
- Schwyn, B. & Neilands, J. B. (1987): Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry* 160 (1): 47–56.
- Wiche, O., Tischler, D., Fauser, C., Lodemann, J. & Heilmeyer, H. (2017): Effects of citric acid and the siderophore desferrioxamine B (DFO-B) on the mobility of germanium and rare earth elements in soil and uptake in *Phalaris arundinacea*. *International Journal of Phytoremediation* 19: 746–754.
- Wiche, O., Székely, B., Moschner, C. & Heilmeyer, H. (2018): Germanium in the soil–plant system – a review. *Environmental Science and Pollution Research* 25: 31938–31956.

Anschriften der Autor(inn)en:

Schwabe, Ringo*; **Mehnert, Marika**; **Tischler, Dirk**: TU Bergakademie Freiberg, Institut für Biowissenschaften, AG Umweltmikrobiologie, Leipziger Str. 29, 09599 Freiberg, E-Mail: ringoschwabe007@gmail.com, marika.mehnert@googlemail.com, dirk-tischler@email.de.

Wiche, Oliver; **Obst, Britta**: TU Bergakademie Freiberg, Institut für Biowissenschaften, AG Biologie/Ökologie, Leipziger Str. 29, 09599 Freiberg, E-Mail: oliver.wiche@ioez.tu-freiberg.de, britta.obst@yahoo.com.au.

*Korrespondierender Autor