

# Kleinvieh macht auch Mist – die Relevanz der Mikrobiologie

Khald Blau, Sven Jechalke, Kornelia Smalla

Julius Kühn-Institut, Braunschweig  
Justus Liebig Universität, Gießen



GEFÖRDERT VOM

Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung



# Probenahme und Zellzahlbestimmung (3. Lauf 2019)



# Zellzahlbestimmung und Isolierung (3. Lauf 2019)

Behandeltes Abwasser und Hoagland-Lösung (je 1,5 Liter) (3 Replikate pro Behandlung)

500 mL behandeltes Abwasser (2X)

Membran-Filtration (0.45 µm)

Anreicherung in gepuffertem  
Peptonwasser (BPW) bei 37°C



TC-DNA Extraktion

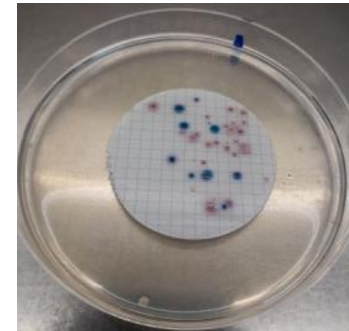
Serielle Verdünnung

Kultivierbare Bakterien (Zellzahl)

- Gesamtbakterien (R2A)
- *Pseudomonas aeruginosa* (Cetrimid-Agar)

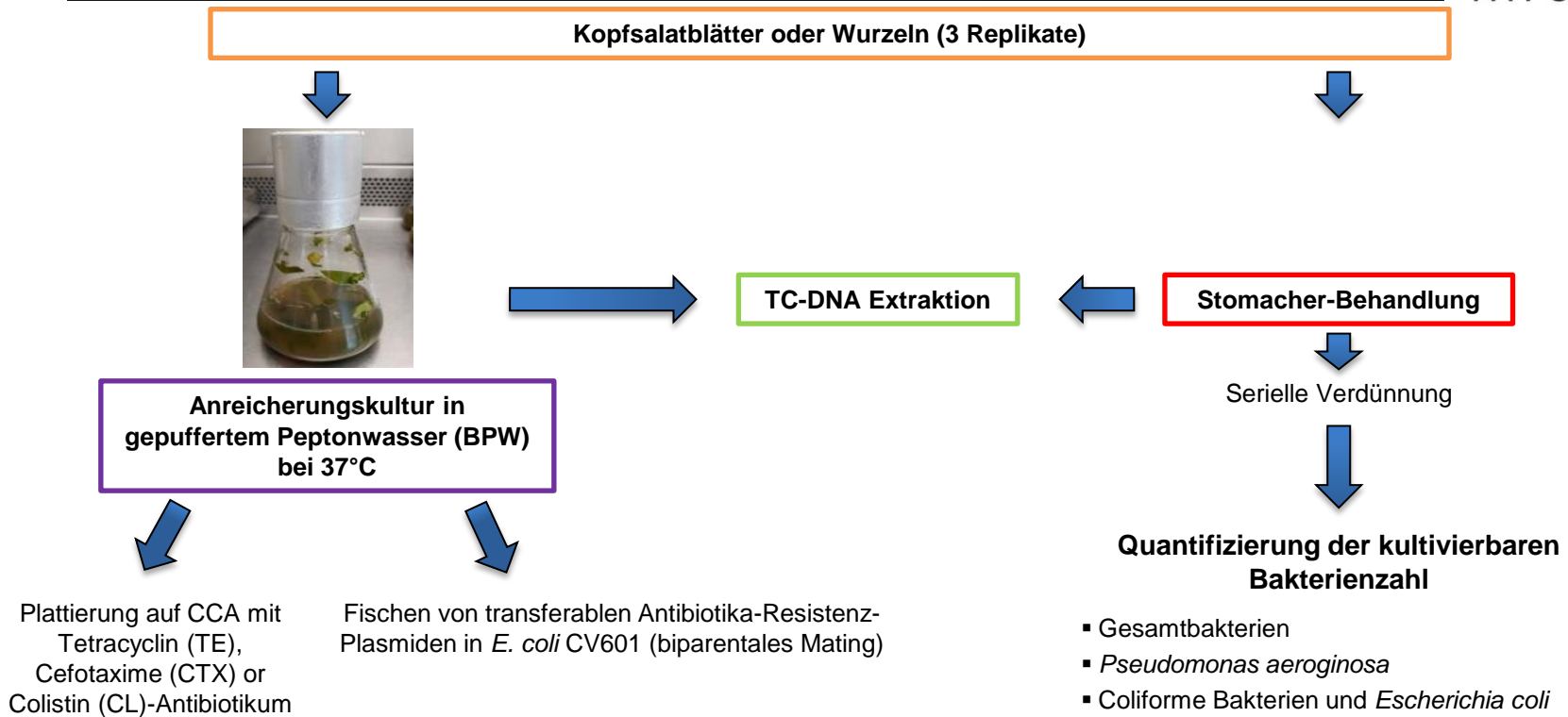
Membran-Filtration

Coliforme Bakterien und *E. coli* (Zellzahl)



Plattierung auf Chromocult® Coliformen-Agar  
(CCA)

# Probenahme von Kopfsalatblättern und Wurzeln



# Vergleich des Blatt- und Wurzelmikrobioms von Kopfsalat hydroponisch oder in Boden gewachsen



Hoagland-Lösung

Ozon

SBR

Activated  
carbon filter



Boden

**Ernte des Kopfsalats nach 60 Tagen**

**Direkte Plattierung  
(Blätter und Wurzeln)**

- Zahl der Gesamtbakterien
- Zahl der Coliformen und *E. coli*

**TC-DNA Extraktion**

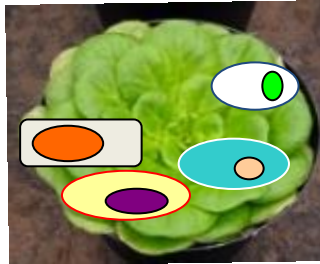
**16S rRNA / Next Generation-Sequenzierung (Illumina)**

**Anreicherungskultur in BPW bei 37°C**

**Bi-parentales Mating**

**Isolierung von Tetracyclin-, Colistin-  
und Cefotaxim-resistenten Coliformen**

# Exogene Plasmid-Isolation – Untersuchung der transferablen TET-Resistenz auf Kopfsalatblättern und in behandeltem Abwasser



Umweltbakterien mit konjugativen Plasmiden

Rezipient  
*E. coli* RIF<sup>r</sup> KM<sup>r</sup>

Konjugation von Plasmiden ← Bodenbakterien und Rezipient über Nacht auf Filter

Resuspendierung und Plattierung auf selektivem Medium (RIF, KM, TE)

Wachstum von *E. coli*-Transkonjuganten mit Tetracyclinresistenz-Plasmiden

- ❑ Die durchgeführten Reinigungsprozesse führten zu einer starken Reduktion der Belastung mit coliformen Keimen im Bewässerungswasser
- ❑ *E. coli* und *Ps. aeruginosa* waren nur nach Anreicherung oder in sehr geringer Abundanz nachweisbar
- ❑ Keimzahlen Wurzel-assoziiierter Bakterien in Bewässerungswasser und Hoagland-Lösung waren vergleichbar
- ❑ Multiresistente coliforme Bakterien (z.B. *E. coli*, *Enterobacter* complex, *Citrobacter* spp., and *Klebsiella pneumoniae*) konnten nach Anreicherung von Blättern isoliert werden
- ❑ Konjugative Antibiotikaresistenz-tragende Plasmide konnten von Blättern, Bewässerungswasser und Hoagland-Lösung gewonnen werden
- ❑ Ob hydroponische Kultur von Salat in Bewässerungswasser das Vorkommen und die Transferabilität von Antibiotikaresistenzgenen beeinflusst kann noch nicht abschließend bewertet werden

# Danksagung



## JKI Braunschweig

Kornelia Smalla

Khald Blau

Ute Zimmerling

## Uni Bonn

Gabriele Bierbaum

Esther Sib

## Institut für Siedlungswasserwirtschaft

Alexa Bliedung

## Uni Gießen

Sven Jechalke



GEFÖRDERT VOM

Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung

