

## Die tiefe Biosphäre – Mikrobiologie der Erdkruste

Henrik Sass, Bert Engelen und Heribert Cypionka

Institut für Chemie und Biologie des Meeres, Universität Oldenburg

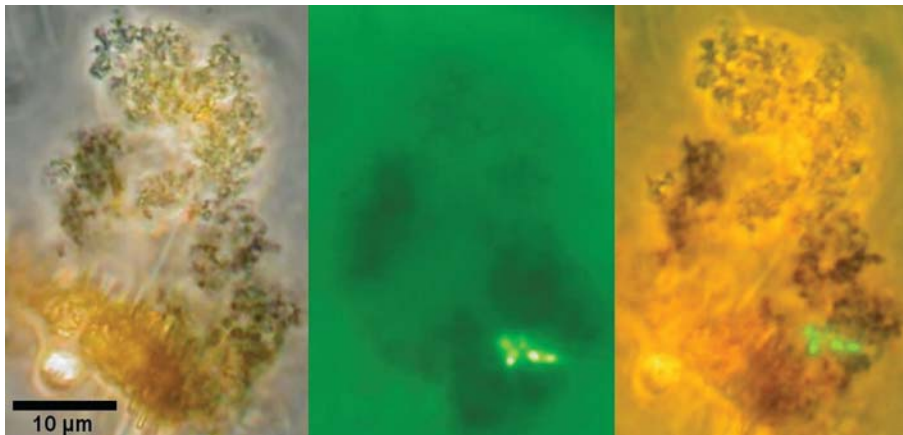
► Im Laufe der letzten Jahre hat sich unser ‚biologisches Erdbild‘ grundlegend gewandelt. Es stellte sich heraus, dass nicht nur eine dünne Oberflächenschicht der Böden und Sedimente besiedelt wird, sondern dass bis weit in die Erdkruste hinein gewaltige Mengen von Mikroorganismen leben<sup>[1]</sup>. Welche Organismen diese tiefe Biosphäre (*deep biosphere*) bilden, und wovon sie leben, ist bislang genauso wenig verstanden wie ihre physiologischen Fähigkeiten und Anpassungen. Klar ist nur, dass es sich bei diesen Organismen um ausgesprochene Hungerkünstler handelt. Um den Stoffwechsel dieser Mikroorganismen zu untersuchen, ist es notwendig, sie im Labor zu kultivieren. Diese Aufgabe ist mit Standardmethoden nahezu unlösbar und stellt eine der großen Herausforderungen für die Mikrobiologie dar.

Erste Erfolge in der Anreicherung dieser Mikroorganismen wurden durch den Einsatz sehr geringer Substratkonzentrationen ( $< 100 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) und von Konzentrationsgradienten erzielt<sup>[2]</sup>. Diese Kulturen weisen allerdings relativ lange Generationszeiten auf und bilden nur wenig Biomasse, was eine sensitive Auswertung mittels Epifluoreszenzmikroskopie erfordert (*Abb. 1*).

Die Frage, wie tief sich die Biosphäre in die Erde hinein erstreckt, wurde bereits vor über 100 Jahren gestellt, als bei der Untersuchung von Waldböden bis in 4,50 m Tiefe lebensfähige Keime nachgewiesen wurden<sup>[3]</sup>. Untersuchungen zur vertikalen Ausdehnung der mikrobiellen Biozönose in Tiefseesedimenten wurden von MORITA & ZOBELL<sup>[4]</sup> durchgeführt. Sie fanden noch in etwa sieben Meter Sedimenttiefe lebens-

fähige Mikroorganismen. Mikrobielle Aktivitäten (Methanbildung und Sulfatreduktion) bis 150 m unter dem Meeresboden wurden vor etwa 20 Jahren im Rahmen des internationalen Tiefseebohrprogramms DSDP (*Deep Sea Drilling Project*) nachgewiesen<sup>[5]</sup>. PARKES *et al.*<sup>[1]</sup> entdeckten durch Epifluoreszenzmikroskopie Zellen in Tiefen von mehr als 500 m unter dem Boden des Pazifischen Ozeans. Inzwischen liegen Daten bis maximal 842 m unter dem Meeresboden vor, wo noch  $3 \cdot 10^5$  Zellen pro  $\text{cm}^3$  gezählt wurden<sup>[6]</sup>. Für die kontinentale Kruste wurden bisher kaum quantitative Untersuchungen vorgenommen, auch wenn hier Proben aus noch größeren Tiefen untersucht wurden. SZEWCZYK *et al.*<sup>[7]</sup> isolierten thermophile Mikroorganismen aus Proben, die aus fast 5 300 m Tiefe stammten.

Die Tiefenausdehnung der Biosphäre wird anscheinend durch die mit der Tiefe zunehmende Temperatur begrenzt. Geht man von einer Maximaltemperatur für Leben von etwa  $113^\circ \text{C}$  aus, so könnte die Erdkruste bis in Tiefen von etwa 5 000 m (ozeanische Kruste) oder 10 000 m (kontinentale Kruste) besiedelt sein. Allerdings scheint die tiefe Biosphäre diesbezüglich noch Überraschungen bereitzuhalten. In Sedimenten des



**Abb. 1:** Mikroskopisches Bild (Links: Phasenkontrast, Mitte: Epifluoreszenz, Rechts: Mischbeleuchtung) einer Anreicherungskultur aus 200 m Tiefe unter dem Meeresboden (ODP Leg 201, etwa 2000 km westlich der Galapagos-Inseln). Wegen der im Medium vorhandenen FeS-Partikel ist die Mikrokolonie erst nach Anfärbung der Nukleinsäuren mit SybrGreen II im UV-Licht zu erkennen.

östlichen Pazifiks wurde ein Maximum der Gesamtzellzahl in Schichten festgestellt, in denen Temperaturen von etwa 150°C herrschen, während in 180°C heißen Schichten keine Zellen mehr nachgewiesen werden konnten<sup>[6]</sup>.

In der Regel nehmen die Zellzahlen exponentiell mit der Sedimenttiefe ab. Dennoch befinden sich nach Schätzung von WHITMAN *et al.*<sup>[8]</sup> mehr als 90 Prozent aller Mikroorganismen tief unter der Oberfläche. Sie enthalten 10 bis 30 Prozent des Kohlenstoffs der globalen Biomasse. Die Verdopplungszeit dieser Populationen wird auf 1000 bis 2000 Jahre geschätzt.

### Substrate für die tiefe Biosphäre

Leicht abbaubares organisches Material ist in den tiefen Sedimenten normalerweise längst verschwunden. Dennoch gibt es an manchen Stellen hohe Konzentrationen organischen Materials. Ein Beispiel sind die Sapropelen des östlichen Mittelmeeres, deren Trockenmasse bis zu 30 Prozent aus schwer abbaubarem organischem Material besteht. Selbst in 210 000 Jahre alten Sapropelen konnten aktive Mikroorganismen nachgewiesen werden<sup>[9]</sup>. Eine sehr wichtige Substratquelle für Mikroorganismen in tiefen Sedimentschichten sind Methanhydrate. Wo Methan und Sulfat zur Verfügung stehen, können selbst 100 m unter dem Meeresboden Zellzahlen erreicht werden (über  $10^9$  pro  $\text{cm}^3$ , Abb. 2), wie man sie von küstennahen Oberflächensedimenten her kennt<sup>[10]</sup>. Manche Sedimente enthalten erstaunlich hohe Konzentrationen leicht abbaubarer Substanzen (Abb. 2). PARKES *et al.*<sup>[6]</sup> fanden in Sedimenten unterhalb von Gashydraten bis über  $10 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  Acetat im Porenwasser. Dieses wird wahrscheinlich durch die mit der Tiefe zunehmende Erwärmung

aus schwer abbaubarem organischen Material freigesetzt. Mikroorganismen in den Gesteinssockeln der Kontinente und Ozeane scheinen auch andere Substrate zur Verfügung zu stehen. Im Porenwasser der ozeanischen Kruste wurden Alkane nachgewiesen, die bis in die darüber liegenden Sedimente aufsteigen können<sup>[11]</sup>.

### Stoffwechsel und Kultivierung von Mikroorganismen aus der tiefen Biosphäre

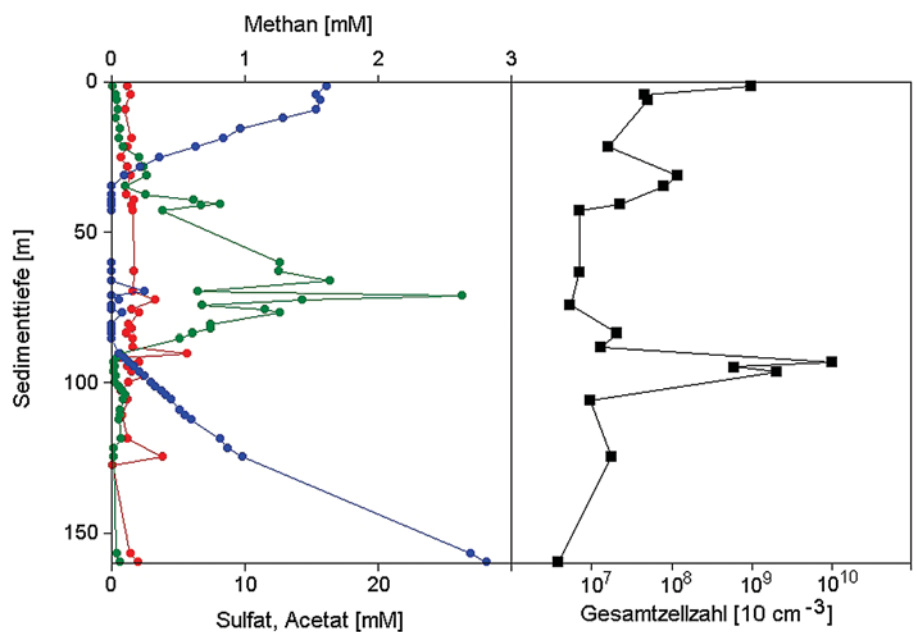
Obwohl wir wissen, dass sich eine sehr große Zahl von Mikroorganismen in tiefen Sediment- und Gesteinsschichten befindet, können wir bislang nicht zufrieden stellend er-

klären, wie diese Organismen an ihren Standorten überleben oder sogar wachsen. D'HONDT *et al.*<sup>[12]</sup> berechneten aus Sulfatprofilen verschiedener Sedimentstandorte Sulfatreduktionsraten. Sie bezogen diese Daten auf die vorhandenen Gesamtzellzahlen und ermittelten potenzielle Sulfatreduktionsraten pro Zelle und Jahr. Geht man davon aus, dass die Lebensgemeinschaften pro Sulfat etwa 1,5 ATP konservieren, so lässt sich die ATP-Menge ableiten, die jeder Zelle pro Zeiteinheit zur Verfügung steht. Ein Vergleich mit dem ATP-Bedarf anaerober nicht wachsender Laborkulturen, zeigt dass dieser um bis zu sechs Zehnerpotenzen höher liegt (Tab. 1). Man muss allerdings beachten, dass der Erhaltungsstoffwechsel an aktiven Laborkulturen bestimmt wird. Wie

**Tab. 1:** Energiemenge, die Zellen aus der tiefen Biosphäre potenziell pro Tag zur Verfügung steht<sup>[11]</sup>, verglichen mit dem Energiebedarf anaerober Mikroorganismen für den Erhaltungsstoffwechsel<sup>[13]</sup>.

Standort	Moleküle ATP pro Zelle und Tag
Mischkulturen:	
Äquatorialer Pazifik	257
Ostpazifik (Peru) <sup>1)</sup>	13 690
Japanisches Meer	66 670
Nankai Graben <sup>1)</sup>	16 080 000
Reinkulturen:	
<i>Acetobacterium woodii</i>	650 000 000
<i>Desulfobulbus propionicus</i>	8 450 000 000

1) Anaerobe Methanoxydationszone



**Abb. 2:** Verteilungsprofile der Konzentrationen von Methan (Grün), Acetat (Rot) und Sulfat (Blau) und der Gesamtzellzahl in Sedimentproben aus dem Ostpazifik (etwa 30 km vor der Peruanischen Küste, ODP Leg 201)<sup>[9]</sup>.

hoch diese Werte für ‚ruhende‘ Kulturen sind, ist noch nicht hinreichend erforscht. Doch selbst wenn man den Organismen in den tiefen Sedimentschichten einen extrem effektiven Erhaltungsstoffwechsel zu traut, ist es dennoch wahrscheinlich, dass nur ein kleiner Teil der vorhandenen Mikroorganismen aktiv ist. Ein Großteil der Zellen muss sich in einem Ruhestadium ohne aktiven Stoffwechsel befinden (z. B. Sporen). Obwohl die Aktivitäten pro Zelle ausgesprochen gering sind, spielt die tiefe Biosphäre wegen der großen vertikalen Ausdehnung und ihrer hohen Biomasse eine wichtige Rolle in den globalen Stoffkreisläufen und der Sedimentdiagenese.

## Literatur

- [1] **Parkes, R.J., Cragg, B.A., Bale, S.J., Getliff, J.M., Goodman, K., Rochelle, P.A., Fry, J.C., Weightman, A.J. and Harvey, S.M.** (1994) Deep bacterial biosphere in Pacific Ocean sediments. *Nature* 371: 410–413.
- [2] **Cypionka, H., Engelen, B. and Sass, H.** (2002): Novel approaches to the cultivation of marine sediment bacteria. *Geochim. Cosmochim. Acta* 66: A161 Suppl.
- [3] **Schmidt, J. and Weis, F.**: Die Bakterien. Naturhistorische Grundlage für das bakteriologische Studium. *Gustav Fischer Verlag, Jena, 1902.*
- [4] **Morita, R.J. and ZoBell, C.E.** (1955): Occurrence of bacteria in pelagic sediments collected during the Mid-Pacific expedition. *Deep-Sea Res.* 3: 66–73.
- [5] **Whelan, J.K., Oremland, R., Tarafa, M., Smith, R., Howarth, R. and Lee, C.** (1986): Evidence for sulfate-reducing and methane-producing microorganisms in sediments from sites 618, 619, and 622. *Init. Reports DSDP* 96: 767–775.
- [6] **Parkes, R.J., Cragg, B.A. and Wellsbury, P.** (2000): Recent studies on bacterial populations and processes in subseafloor sediments: a review. *Hydrogeol. J.* 8: 11–28.
- [7] **Szewzyk, U., Szewzyk, R. and Stenström, T.A.** (1994): Thermophilic, anaerobic bacteria isolated from a deep borehole in granite in Sweden. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 1810–1813.
- [8] **Whitman, W.B., Coleman, D.C. and Wiebe, W.J.** (1998): Prokaryotes: The unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95: 6578–6583.
- [9] **Coolen, M.J.L., Cypionka, H., Sass, A.M., Sass, H. and Overmann, J.** (2002): Ongoing modification of Mediterranean Pleistocene sapropels mediated by prokaryotes. *Science* 296: 2407–2410.
- [10] **Shipboard Scientific Party** (2002) Controls on microbial communities in deeply buried sediments, eastern equatorial Pacific and Peru Margin. *Leg 201 Preliminary Report. Ocean Drilling Program.* ([www-odp.tamu.edu/publications/](http://www-odp.tamu.edu/publications/)).
- [11] **Cowen, J.P., Giovannoni, S.J., Kenig, F., Johnson, H. P., Butterfield, D., Rappé, M.S., Hutnak, M. and Lam, P.** (2003): Fluids from aging ocean crust that support microbial life. *Science* 299: 120–123.
- [12] **D'Hondt, S., Rutherford, S. and Spivack, A.J.** (2003) Metabolic activity of subsurface life in deep-sea sediments. *Science* 295: 2067–2070.
- [13] **Scholten, J.C.M. and Conrad, R.** (2000): Energetics of syntrophic propionate oxidation in defined batch and chemostat cocultures. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 2934–2942.

## Korrespondenzadresse:

**Dr. Henrik Sass**  
**Institut für Chemie und Biologie**  
**des Meeres**  
**Postfach 2503**  
**D-26111 Oldenburg**  
**Tel.: 0441-798 2721**  
**[h.sass@icbm.de](mailto:h.sass@icbm.de)**