

Jagd auf Mikroben im Meeresboden – eine Forschungsfahrt in den Südpazifik

Heribert Cypionka

www.icbm.de/pmbio



Überblick

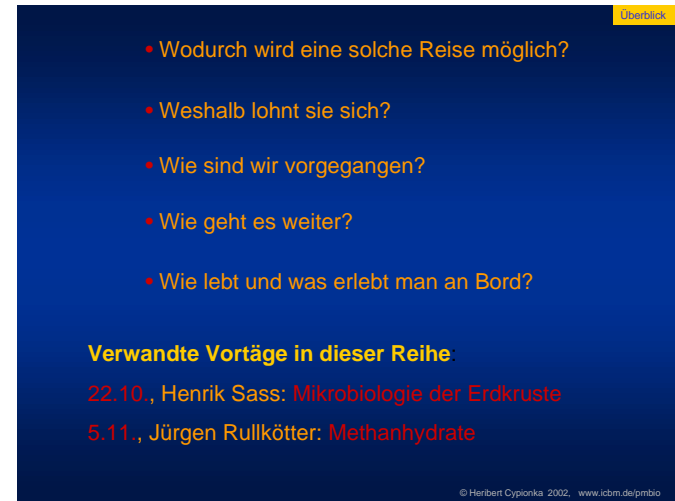
- Wodurch wird eine solche Reise möglich?
- Weshalb lohnt sie sich?
- Wie sind wir vorgegangen?
- Wie geht es weiter?
- Wie lebt und was erlebt man an Bord?

Verwandte Vorträge in dieser Reihe:

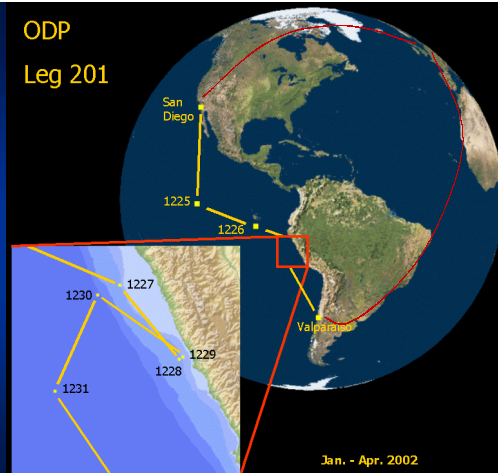
22.10., Henrik Sass: Mikrobiologie der Erdkruste

5.11., Jürgen Rullkötter: Methanhydrate

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

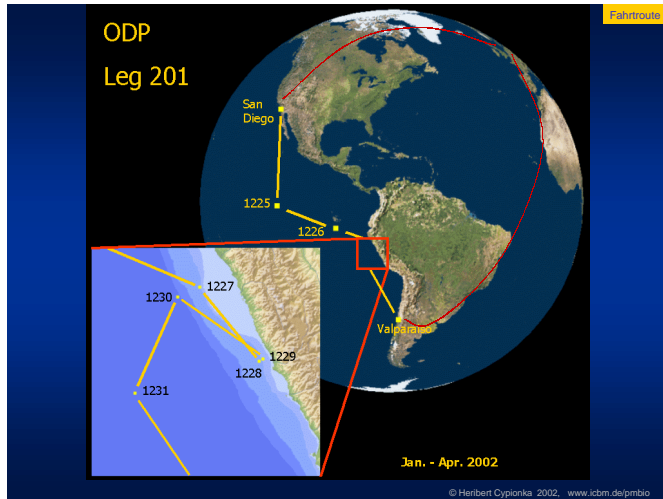


ODP Leg 201



© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

Fahrtroute



Voraussetzungen

Ocean Drilling Program

- 50 Mio. US-Dollar pro Jahr

- Deutschland 5 Mio.

- Internet siehe:

-- Texas: www-odp.tamu.edu

-- Deutschland: www.bgr.de/odp

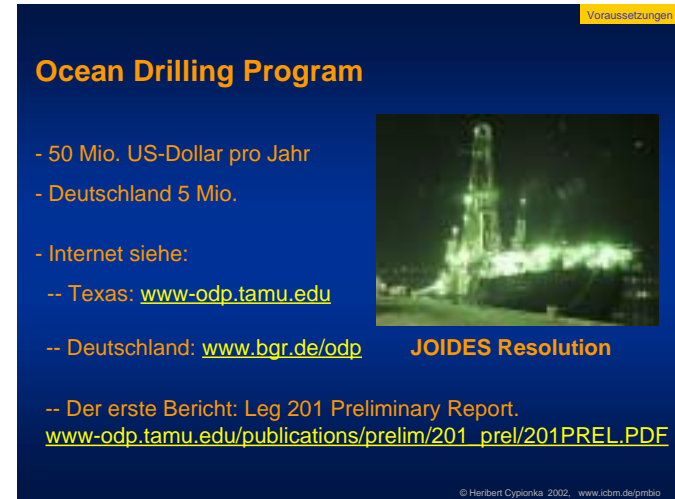


JOIDES Resolution

-- Der erste Bericht: Leg 201 Preliminary Report.

www-odp.tamu.edu/publications/prelim/201_prel/201PREL.PDF

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio





Die JOIDES Resolution

Für den Ocean Drilling Program wurde 1994 die JOIDES Resolution (ODP 701) als experimenteller Ozeanbohrer, gesteuert nach einem unbemannten Konzept 1994 wurde die JOIDES Resolution (ODP 701) als experimenteller Ozeanbohrer, gesteuert nach einem unbemannten Konzept

Die JOIDES Resolution wurde 1979 in Hohenlockstedt gebaut, ist 144 Meter lang und 21 Meter breit. Die Bohrturm ragt 54 Meter über der Wasseroberfläche. Die JOIDES Resolution wurde 1979 in Hohenlockstedt gebaut, ist 144 Meter lang und 21 Meter breit. Die Bohrturm ragt 54 Meter über der Wasseroberfläche. Die JOIDES Resolution wurde 1979 in Hohenlockstedt gebaut, ist 144 Meter lang und 21 Meter breit. Die Bohrturm ragt 54 Meter über der Wasseroberfläche.

Am Bord gibt es Labors für Bohrkerneauswertung, Bohrkernebearbeitung, -abspaltung und -abschlebung, Messung der physikalischen Eigenschaften, mikrobiologische Untersuchungen, geologische Untersuchungen, Sedimentfotografie, Sedimentanalyse (Labor und an Bord), Sedimentanalyse (Labor und an Bord), Sedimentanalyse (Labor und an Bord).

Die Besatzung des Ozeanbohrers besteht aus 100 Wissenschaftlern, 20 ODP-Experten und 20 Personal der ODP. Die Besatzung des Ozeanbohrers besteht aus 100 Wissenschaftlern, 20 ODP-Experten und 20 Personal der ODP. Die Besatzung des Ozeanbohrers besteht aus 100 Wissenschaftlern, 20 ODP-Experten und 20 Personal der ODP.

Die ODP-Experten sind unterteilt in 10 ODP-Experten und 20 Personal der ODP. Die ODP-Experten sind unterteilt in 10 ODP-Experten und 20 Personal der ODP. Die ODP-Experten sind unterteilt in 10 ODP-Experten und 20 Personal der ODP.

Ziele

Die ODP-Perspektive

Leg 201 Controls on Microbial Communities in Deeply Buried Sediments, Eastern Equatorial Pacific and Peru Margin

This expedition of the Ocean Drilling Program will investigate the nature and extent of microbial activity in deeply buried sediments in several environments. Three fundamental questions will be addressed.

Do different microbial communities populate different sedimentary geochemical regimes, or do these communities differ only in degree and kinds of community activity? How does the flow of electron acceptors through deeply buried sediments affect microbial communities and sediment geochemistry? To what extent do paleoceanographic conditions as preserved in deeply buried ocean sediments affect microbial communities currently inhabiting this part of the Earth's biosphere?

Alle Standorte von Leg 201 waren bereits früher (ohne Mikrobiologie) beprobt worden!

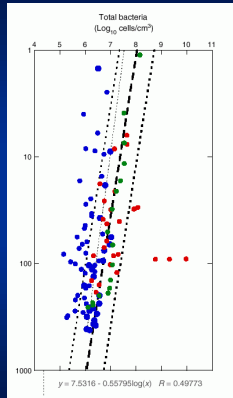


Platten-tektonik im Pazifik

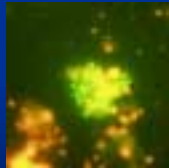


Wieviel Bakterien gibt es im Meeresboden?

Anzahlen



Anzahl der Prokaryoten im Sediment (Leg 201, Barry Cragg)



Zählung mit Fluoreszenz-Farbstoff Acridinorange

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

'Kultivierbarkeit'

Kultivierbarkeit

Weit über 99 % aller Bakterien an natürlichen Standorten - besonders an Standorten mit langsamem Wachstum - wachsen nicht in normalen Kulturmedien und gelten als 'unkultivierbar'.

Aber Mutter Natur hat sie an ihrem Standort wachsen lassen.

=> 'Unkultivierbarkeit' beschreibt eine Unfähigkeit von Wissenschaftlern.

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

Unsere Motivation

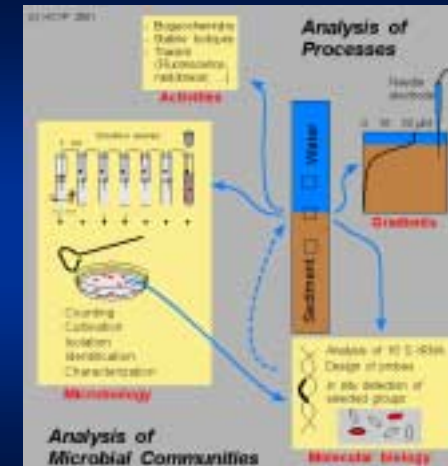
Ziele 2

Anzahl der Prokaryoten auf der Erde	$4 - 6 \cdot 10^{30}$
Davon	
Offener Ozean	$1.2 \cdot 10^{29}$
Marine Sedimente	$3.5 \cdot 10^{30}$
Erdboden	$2.6 \cdot 10^{29}$
Sub-terrestrisch	$0.5 - 2.5 \cdot 10^{30}$
Globale Biomasse der Prokaryoten	$350 - 550 \cdot 10^{15}$ g C
	(10 - 60 % der Eukaryoten)
Produktion von Zellen	$1.7 \cdot 10^{30}$ a ⁻¹
Generationszeit in Sedimenten	$1 - 2 \cdot 10^3$ a

Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ (1998) Prokaryotes: The unseen majority. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 6578-6583

Lernen: Wie macht man Mikrobiologie mit Sedimenten, um eine völlig unerforschte Welt kennenzulernen?

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio



Unser Vorgehen im Überblick

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

Konkrete Ziele

Ziele 3

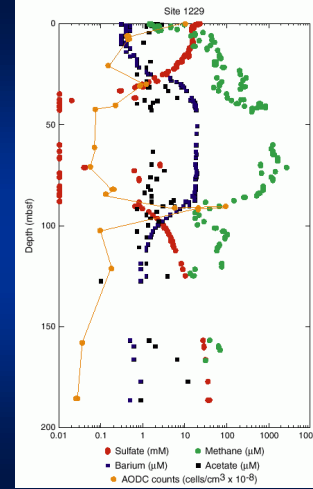
Verstehen der Lebensgemeinschaft

- Wieviele sind da?
- Wer ist da?
- Wovon und wie leben sie?
- Was leisten sie?

Voraussetzung: Methodische Arbeiten

- Wie kann man Sedimentbakterien kultivieren?
- Wie kann man die Populationen charakterisieren?

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

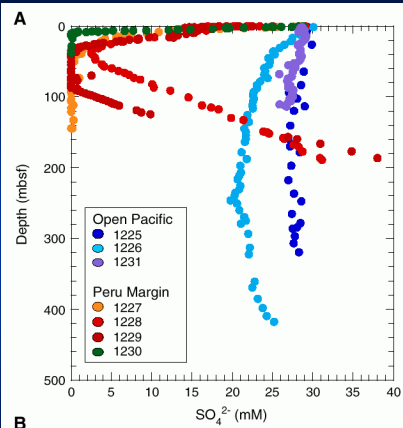


1229

Die meisten chemischen Reaktionen auf der Erde werden durch Mikroorganismen bewirkt.

(Site 1229)

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio



Gradienten

Gradienten entstehen durch mikrobielle Aktivität

Sulfatkonzentrationen

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

Kerngewinnung

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio



Bohrturm der
JOIDES Resolution

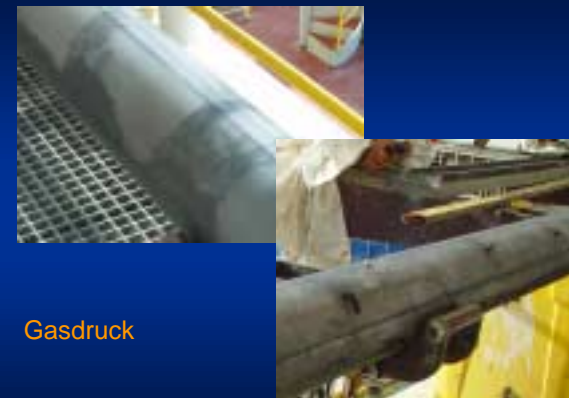
(pipetrip)



Science
May 2002



APC, Bohrköpfe und Kernfänger



Gasdruck



Mit XCB gewonnenes Kernstück

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

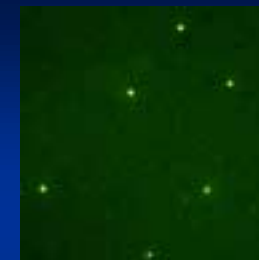
Kontaminationstests

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio



Mit XCB gewonnene Kernstücke

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio



Künstliche 'Bakterien'
zeigen eine Verunreinigung
der Probe an

- Beads: fluoreszierende Kügelchen (0.5 μm \varnothing) als Indikatoren für Kontamination mit Drill- oder Meerwasser
- Appliziert als Päckchen mit Beads entsprechend der Bakterienzahl in 25 m³ Meerwasser

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

Perfluorocarbon-Tracer (PFT)

- Leicht flüchtiger, recht lipophiler Tracer, mit dem das Bohrwasser gesättigt war
- Hochempfindlich im GC nachweisbar

Smith, D. C., Spivack, A. J., Fisk, M. R., Haveman, S. A., and Staudigel, H., 2000b. Tracer-based estimates of drilling-induced microbial contamination of deep sea crust. *Geomicrobiol. J.*, 17: 207-219



ODP Cutter

Subcores



Kern-
Schneidegerät,
Modell Bristol

Sampling bucket



'Sampling bucket', Modell Bristol

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

1231



Aufschlämmungen
der Proben aus Site 1231

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

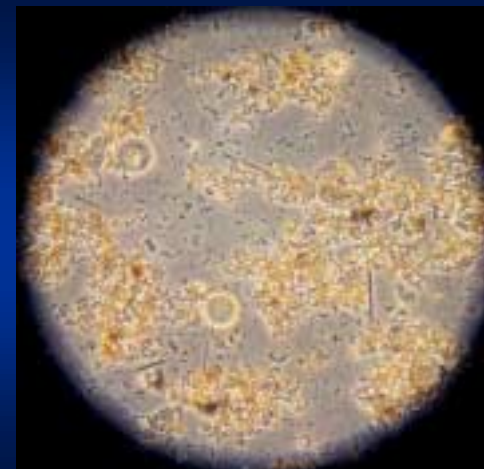
Slurry

Slurries



© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

Mikroskop



Ein Blick
durch das
Mikroskop

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

Unsere Kultivierungsansätze

Ansätze

- Wenig Futter
 - 0 - 100 μ M, Gradienten-Kulturen
- Nicht-selektive Medien
 - Substratgemische, Sedimentextrakt
- Partikel im Flüssigmedium
 - Eisensulfid (auch als mildes Reduktionsmittel)
- Wechselwirkungen fördern
 - Hintergrundbakterien, Signalstoffe
- Analyse mit hoher Sensitivität
 - Radiotracer MPN, Fluoreszenz-Technik, molekularbiologische Techniken...

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

Variationen

Variationen

- Radiotracer-MPN
- Sulfatfreies Medium reduziert mit Ti^{3+} oder Fe-Nagel
- Pasteurisation, um sporulierte Zellen zu zählen
- Sauerstoff für (fakultativ) aerobe Bakterien
- Background-Bakterien

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

Medien

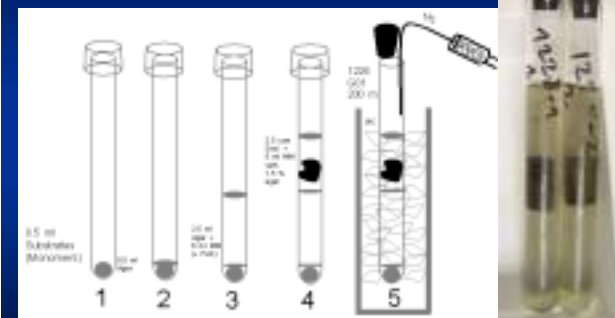
Medien

- Künstliches Meerwasser
- FeS: Partikel und Reduktionsmittel
- Substratgemische in niedriger Konzentration
- [Mono] Monomere
- [Poly] Polymere
- [Aro] Aromatische Verbindungen und Fettsäuren
- [Sed] Extrakt aus Wattenmeer-Sediment
- [Lac] Lactat

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

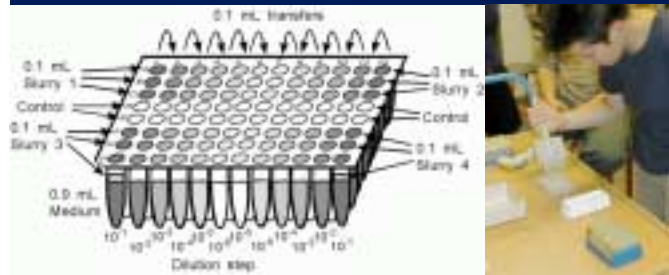
Gradienten-Kulturen

Gradientenkulturen



Die Futterkonzentration steigt von 0 aus langsam an.

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio



Mikrotiter-Platten



Auswertung von Wachstumsversuchen



Background-Bakterien

- verbrauchen Sauerstoff (Reduktionsmittel)
- Wasserstoff (syntrophe Hilfe für Gärer, Oxidationsmittel)



Wachstum von Bakterien in einer Eisensulfid-Flocke

Partikel



ODP 201
Site 1229

Wachstum auf einem Sedimentpartikel

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

M40 (1)

Wie geht es weiter?

Ongoing Modification of Mediterranean Pleistocene Sapropels Mediated by Prokaryotes

Harro J. L. Conley,^{1,2} Heribert Cypionka,¹ Andrea M. Sass,¹ Henrik Sass,¹ Jörg Overmann^{1,3*}



M40-4

Ergebnisse einer Meteor-Fahrt in das Mittelmeer vor vier Jahren

Late Pleistocene organic-rich sediments (sapropels) from the eastern Mediterranean sea harbor numerous, metabolically active chemoheterotrophic prokaryotes. As compared to the carbon-poor intermediate layers, sapropels exhibit elevated cell numbers, increased activities of hydrolytic enzymes, and increased aspartic glucose degradation rates, suggesting that microbial carbon skeletons originate from sapropel layers up to 237,000 years old. 18S ribosomal RNA gene analysis revealed that acetyl-oxidizing green comarobacter bacteria constitute up to 30% of the total microbial biomass. Comarobacter constitute a smaller fraction (on average, 16%), a class not significant because of glucose could be detected. Apparently, sapropels are still altered by the metabolic activity of green comarobacter bacteria and comarobacter.

SCIENCE VOL 296 28 JUNE 2002 2407-2410

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

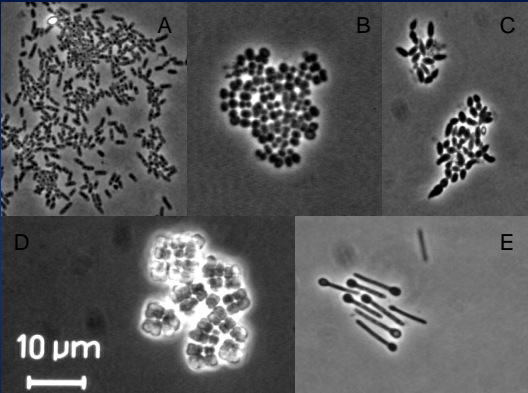
Methanhydrat



Methanhydrat (Site 1230)

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

M40 (2)



M40-4

Isolated bacteria from Mediterranean sapropels and organic-poor intermediate layers. A: *Halomonas* sp. S6BA, B: *Alteromonas macleodii* S8FS1, C: *Bacillus* sp. strain S6BB, D: *Micrococcus* sp. SM3 (Z6), E: Strain SO1 (Z0)

© Heribert Cypionka 2002, www.icbm.de/pmbio

Eine neue Bakterienart aus dem Mittelmeer



M40-4

Desulfobulbus mediterraneus

JOIDES Resolution in Valparaiso



Zusammenfassung

- Es gibt in den Sedimenten eine unbekante Welt der Mikroben, die 'deep biosphere'.
- Die Bakterien darin sind aktiv, viele kann man zum Wachsen bringen.
- Die meisten gilt es noch zu entdecken.

Wer zweifelt an den Beichten der Astronomen über Planeten außerhalb unseres Sonnensystems?

Wer hat ein Bild von solchen Planeten gesehen?