

14.12.04 VL 09

## *Subsurface* Mikrobiologie

## Mikrobiologie der Erdkruste

Was ist die “*Subsurface*”?

Terrestrische *Subsurface*:

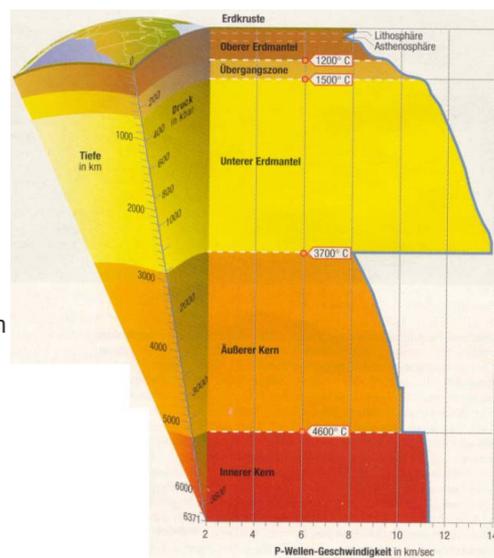
Bodenlagen unterhalb der  
“organischen Horizonte“,  
in der Regel unterhalb 1m Tiefe

Marine *Subsurface*:

Sedimente mit Tiefen über 10 cm

Allgemein:

Horizonte mit niedrigem Gehalt  
an org. Kohlenstoff



Ozeanische Kruste: 3 - 8 km

Kontinentale Kruste: 25 – 70 km

Geo 4/1994

Wie kam man auf die Idee,  
tief in den Sedimenten oder Böden nach Mikroorganismen zu suchen?

- Erdölindustrie: Schwefelwasserstoff in den Lagerstätten  
(1926 Bastin, 1933 Ginsberg-Karagitscheva)
- Nuklearindustrie: Gefahrenabschätzung für die Deponierung von  
Abfällen in alten Stollen
- Untersuchungen nach unterirdischen Atomexplosionen

Bakterien liessen sich nachweisen –  
wurden sie aber erst durch menschliche Aktivität dort eingebracht?

Wie hoch ist die vertikale Ausdehnung der belebten *Subsurface*  
("deep biosphere")?

Bislang wurden Mikroorganismen bis 850 m tief unter dem Meeresboden  
nachgewiesen

Im terrestrischen Bereich liegt der Tiefenrekord bei derzeit knapp 6000 m

Theoretisch:

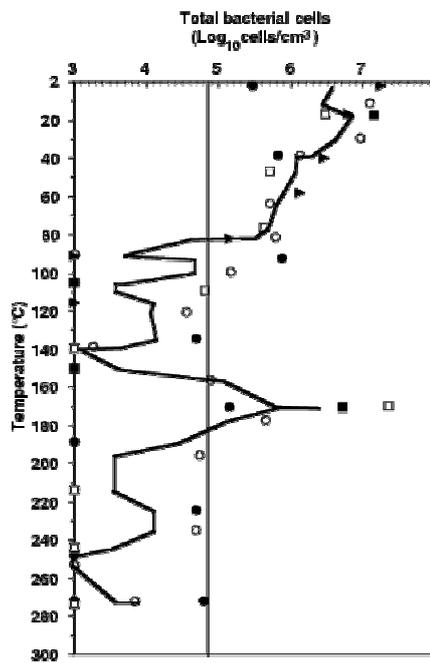
Leben prinzipiell bis zu Temperaturen von etwa 170°C möglich

Ein Großteil der ozeanischen Kruste bis in Tiefen von 5000 m besiedelt?

Oder ist das nur Phantasie?

Tiefen- und  
Temperaturverteilung  
der Gesamtzellzahlen  
in den ODP Bohrlöchern  
1036A-C, sowie 858 A+D

Vertikale gestrichelte Linie:  
Signifikanzgrenze



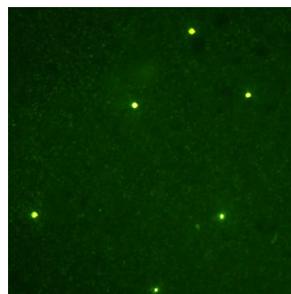
Problem: Aseptische Probenahme

Kontamination beim Bohrvorgang?

ODP-Bohrschiff *Joides Resolution* mit Kontaminationskontrolle,  
Fluoreszenzfarbstoff (PFT) und 0,5 µm große runde fluoreszierende  
Latexpartikel im Bohrwasser.

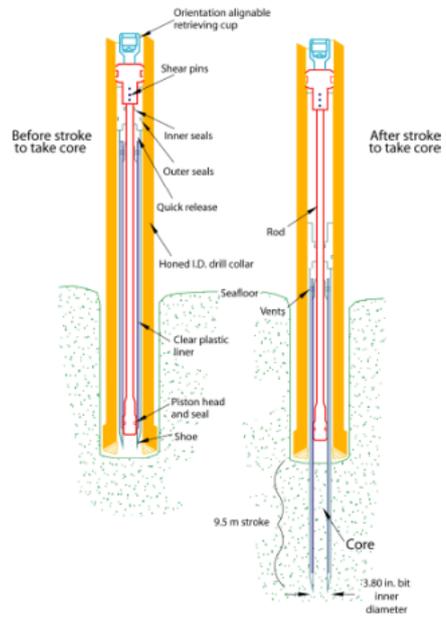
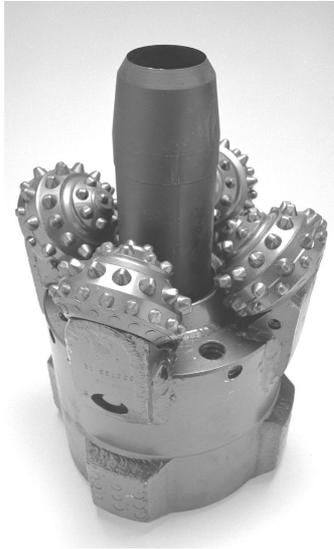


Tiefsee-Bohrschiff Joides  
Resolution des internationalen  
Ocean Drilling Project (ODP)

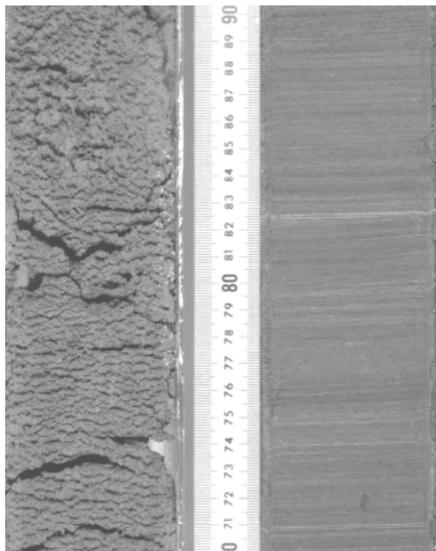


**Kontaminationskontrolle**  
Fluoreszierende Kügelchen  
(‘beads’) mit 0,5 µm Ø zeigen  
evtl. Kontamination der  
Sedimentproben mit Bohr-  
oder Meerwasser an

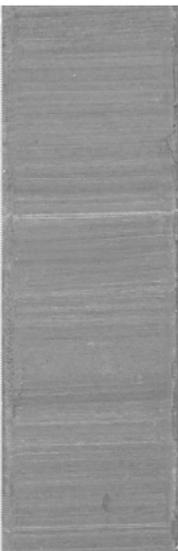
## Advanced Piston Coring



## Rotary Core Barrel (RCB) Core



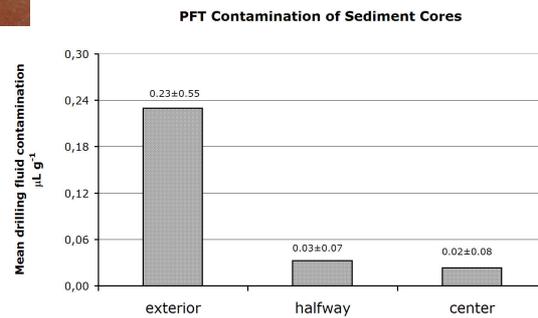
## Advanced Piston Core (APC) Core





Whole Round Core (WRC)

IODP leg 301

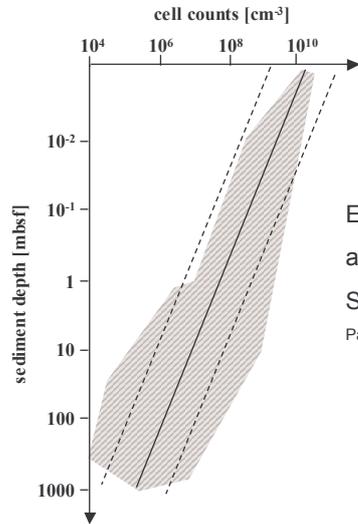


## Kontaminationstest (IODP leg 301)

### Ergebnisse:

- Verbesserung der Nachweisgrenze an Bord: Nachweis von < 0,01 µl Bohrflüssigkeit pro Gramm Sediment  
~ 0,2 Zellen pro Gramm Sediment
- Im Inneren von 19 von 23 Sedimentkernen konnte keinerlei Kontamination nachgewiesen werden.
- Die Proben haben damit höchste Qualität für geochemische und mikrobiologische Untersuchungen.

Die Gesamtzellzahlen nehmen mit der Tiefe exponentiell ab



Ermittlung der Zellzahl/Sedimenttiefe-Relation anhand der Zählergebnisse von vier Standorten im Pazifik (299 Einzelproben).

Parkes et al. 1994, Nature 371:410ff

nach Whitman et al., PNAS 95:6578-6583 (1998)

		Volumen / Fläche	Anzahl	Zellen
		Anzahl Organismen	Prok. [ $\times 10^6$ ]	[ $\times 10^{26}$ ]
<b>Aquatische Habitate:</b>				
Marin	Wassersäule	$1,37 \cdot 10^{24} \text{ cm}^3$	5 bzw $0,5 \text{ ml}^{-1}$	1011
	Sediment (0-10 cm)	$3,6 \cdot 10^{19} \text{ cm}^3$	$4600 \text{ ml}^{-1}$	170
Limnisch	Seen	$1,25 \cdot 10^{20} \text{ cm}^3$	$10 \text{ ml}^{-1}$	1,3
	Flüsse	$1,2 \cdot 10^{18} \text{ cm}^3$	$10 \text{ ml}^{-1}$	0,012
	Salzseen	$1,04 \cdot 10^{20} \text{ cm}^3$	$10 \text{ ml}^{-1}$	1,0
			<b>Gesamt</b>	<b>1180</b>
<b>Böden</b>		$8 \cdot 10^{18} \text{ cm}^3$	$10 - 100 \text{ g}^{-1}$	<b>2556</b>
<b>Subsurface (terrestrisch)</b>				<b>2500-25000</b>
<b>Subsurface (ozeanisch)</b>	0-1 - 10 m Tiefe		$2200 \text{ ml}^{-1}$	8490
	10-100 m Tiefe		450	15620
	100-600 m Tiefe		40-190	12590
	600-4000 m Tiefe		3,4-9,5	1130
			<b>Gesamt</b>	<b>38000</b>
<b>Verdauungsorgane</b>	Menschen	$5,6 \cdot 10^9$		0,0039
	Rinder	$1,3 \cdot 10^9$		0,029
	Schafe, Ziegen	$1,7 \cdot 10^9$		0,009
	Schweine	$8,8 \cdot 10^8$		0,0046
	Vögel (domest.)	$1,3 \cdot 10^{10}$		0,00024
	Termiten	$2,4 \cdot 10^{17}$		0,0065
			<b>Gesamt</b>	<b>0,053</b>
<b>Gesamtzellzahl</b>				<b>44000 - 66800</b>

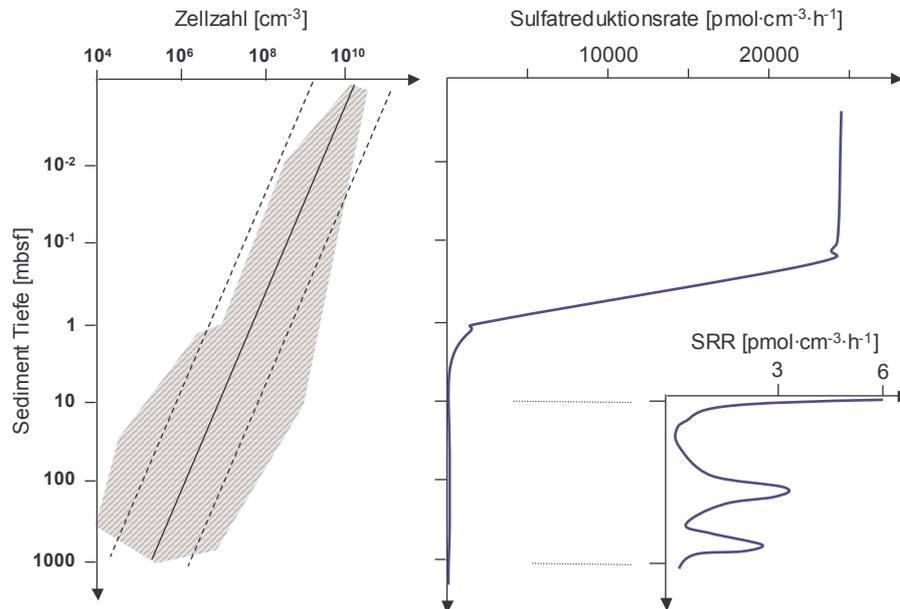
## Abschätzung der Gesamtzellzahl in der Biosphäre

keine Daten für Horizonte tiefer als 750 m

92 - 95 % des in Mikroorganismen gebundenen Kohlenstoffs in der Subsurface ( $325 - 519 \cdot 10^9 \text{ t C}$ )

Diese Menge entspricht 60-100 % des in Landpflanzen festgelegten Kohlenstoffs

Es gibt sehr viele Mikroorganismen in der *Subsurface*, die Aktivitäten hier sind allerdings ausgesprochen niedrig.



Wovon lebt die tiefe Biosphäre?

#### Organisches Material

In der Regel extrem refraktär (Kerogen) auch Erdöl, Braunkohle

Organische Material wegen der ansteigenden Temperaturen in den tiefen Sedimentschichten leichter verfügbar?

#### Alkane aus der ozeanischen Kruste

steigen in die darüberliegenden Sedimente auf und werden dort umgesetzt

(2003, Cowen et al., Science 299:120-123)

#### Wasserstoffbildung in Basalten?

Es wird postuliert, daß Basalte unter anoxischen Bedingungen elementaren Wasserstoff freisetzen können.

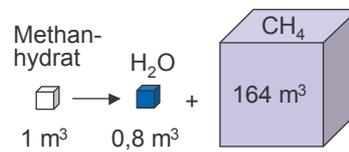
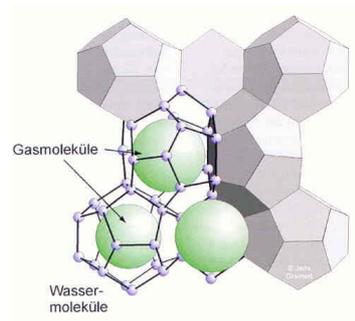
Der Wasserstoff kann für Sulfatreduktion, Methanogenese oder Homoacetogenese genutzt werden

## Methan

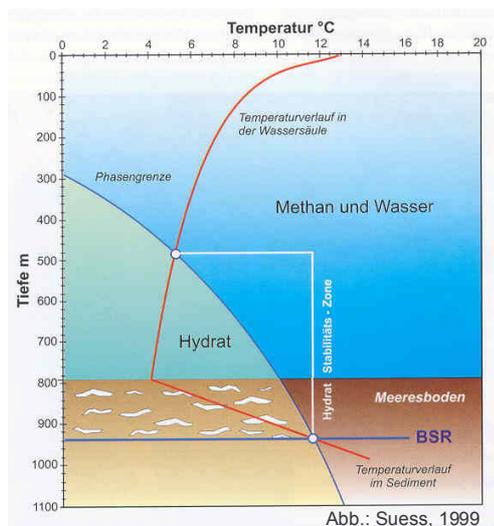
Vorkommen oft als Methanhydrat, (Methan-Wasser-Cluster) nur unter hohem Druck und/oder bei niedrigen Temperaturen stabil.

In sehr vielen *Subsurface*-Sedimenten, und Permafrost Böden nachgewiesen.

Die bislang gefundenen Vorkommen haben nach Schätzungen einen doppelt so hohen Brennwert wie alle Erdöl, Erdgas und Kohle-Vorkommen zusammen.

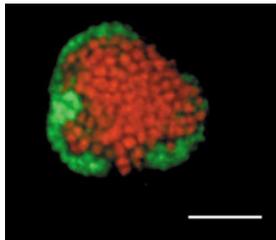


## Stabilitätsdiagramm



Subsurface-Sediment aus dem Pazifik mit Methanhydraten (weiß). Foto: H.Cypionka

Methan ist ein Endglied der anaeroben Nahrungskette. Um es weiter verwerten zu können müssen oxidierte Verbindungen mit einem positiveren Redoxpotential vorhanden sein (z.B. Sulfat).

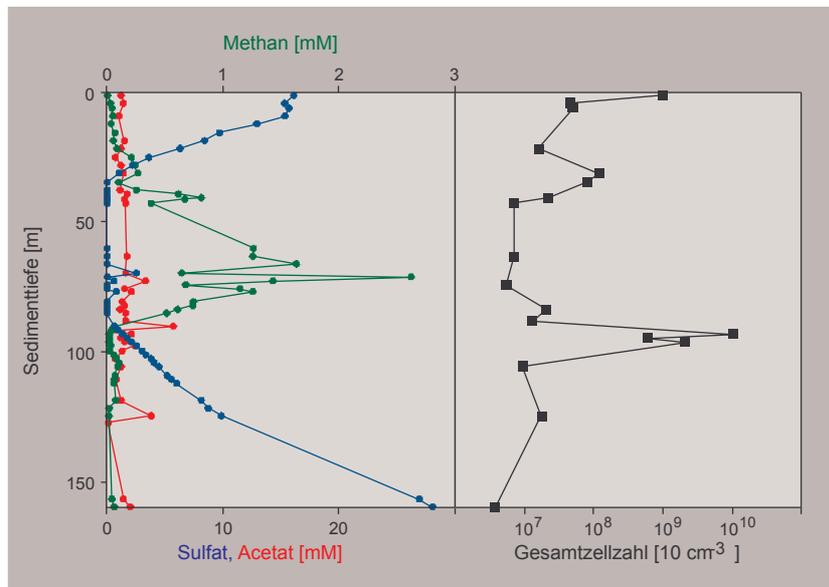


Konsortium aus Methan-oxidierenden Archaeen (rot) und sulfatreduzierenden Bakterien (Grün). Vorkommen oberhalb von Gashydraten in Sedimenten des West-Atlantiks.

Boetius et al. 2000, Nature 407:623ff



ATP	$\Delta G_o' = -32 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
In der Zelle	$\Delta G_o' \text{ ca. } 50 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$



Sedimentprofile von Methan, Acetat und Sulfat, sowie der Gesamtzellzahlen in Sedimenten des Pazifiks vor Peru. (Sass et al. BIOspektrum 5/03)

Handelt es sich bei den Bakterien aus der *Subsurface* um die selben Typen wie an der Erdoberfläche?

In den meisten Untersuchungen wurden Sporenbildner isoliert  
→ Überdauerungsstadien?

In mehreren *Subsurface*-Standorten wurden mit molekularökologischen Methoden Mikroorganismen nachgewiesen, die phylogenetisch isoliert sind und die aus Oberflächenhabitaten bislang nicht bekannt sind.

Bsp.: Flexibacter (green non sulfur bacteria, GNSB)

## Beispiele zur Untersuchung von Bakteriengemeinschaften der tiefen Biosphäre

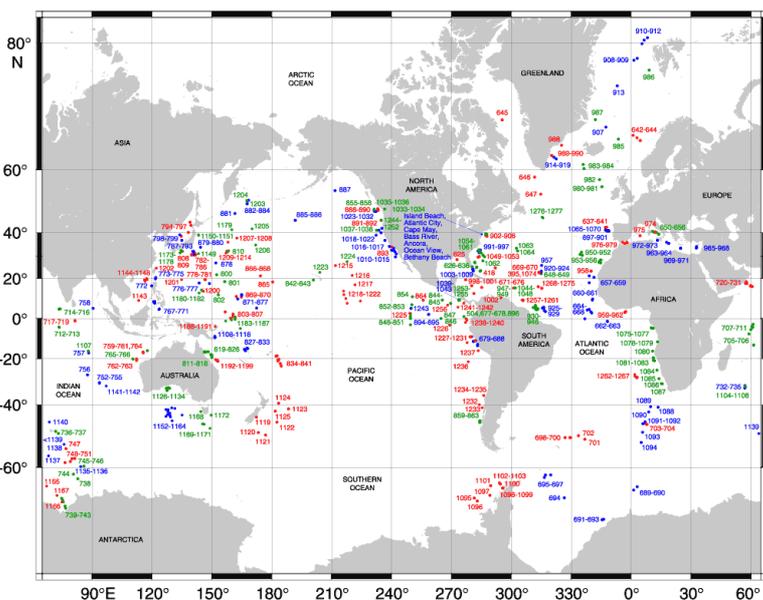
The integrated ocean drilling program (IODP) will focus on three broad scientific themes:

Solid earth cycles and geodynamics

Environmental change, processes and effects

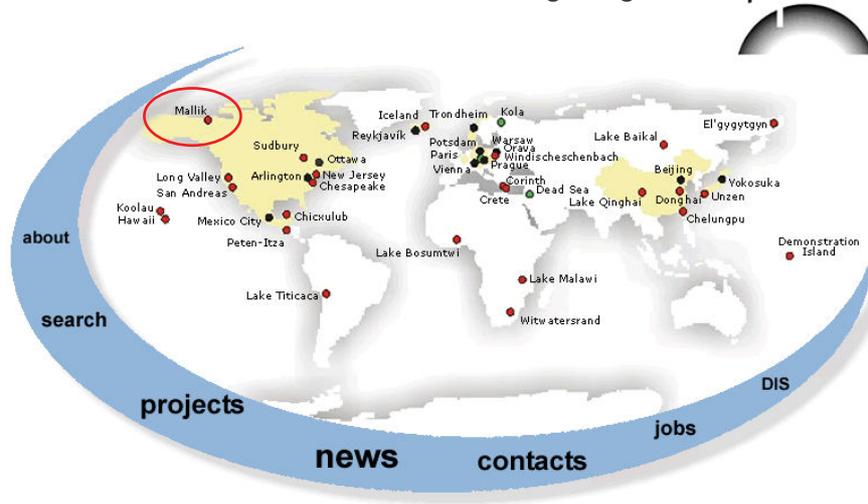
The deep biosphere and the subseafloor ocean  
 New evidence suggests that vast microbial populations may live within a broad range of temperatures and pressures, where sediment and rock appear to provide life-sustaining resources. Microbes that characterize these extreme environments are now broadly considered a potential source of new bio-materials and are the basis of ideas for new biotechnical applications, such as water treatment and microbially enhanced oil recovery...

IODP will probe this environment globally, providing the first comprehensive characterization of this ocean below the seafloor.



IODP Legs 100-210, Sites 625-1277

## International Continental Scientific Drilling Program icdp |



Disclaimer  
Although care has been taken in preparing the information contained in this document, neither Operational Support Group ICDP nor GeoForschungsZentrum Potsdam does and can guarantee the accuracy thereof. Anyone using the information does so at their own risk and shall be deemed to indemnify Operational Support Group ICDP and GeoForschungsZentrum Potsdam from any and all injury or damage arising from such use.

**GFZ** Application by GFZ Data Centre  
copyright (c) ICDP/OSG  
GeoForschungsZentrum Potsdam  
September, 2003

### Mallik 2002 Gas Hydrate Research Well Program

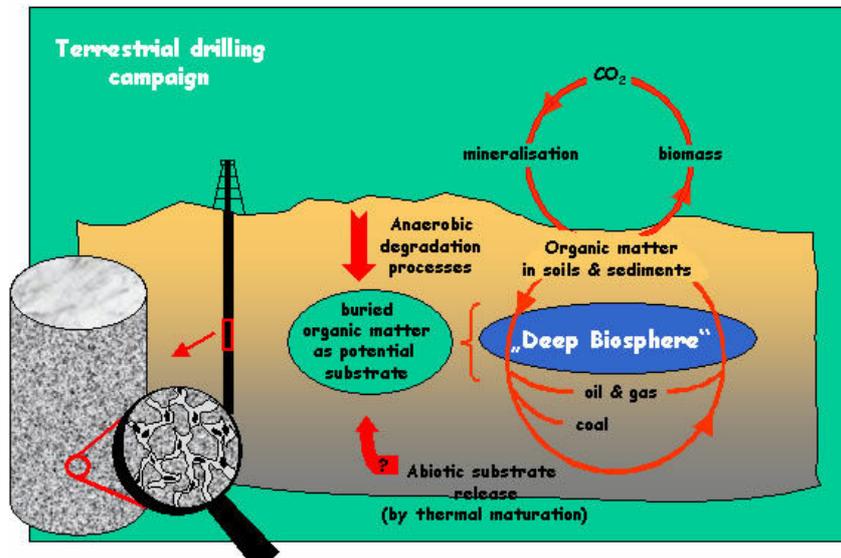


The project **focused on geophysical and geological studies**, and extended production testing. On this website you can get information about the drillhole advance and the works of scientists from various fields. So have a look at the scientific data and the drilling region, **north of Canada, beyond the Arctic Circle.**

This is the homepage of the Mallik 2002 Drilling Program, **an international research project on Gas Hydrate Production** in the Northwest Territories of Canada.

<http://www.icdp-online.de/sites/mallik/index/index.html>

## Mallik 2002 Gas Hydrate Research Well Program



### § 4. Physiologische Variationen.

Die vorhergehende Darstellung der Physiologie der Bakterien wird in vielen Punkten den Eindruck gegeben haben, wie unvollkommen unser Wissen zur Zeit noch ist, und wie wenig wir mit Sicherheit von den allgemeinen Gesetzen wissen, nach denen sich das Bakterienleben entfaltet. In den allermeisten Fällen dürfen wir nur sagen, dass dies oder jenes unter diesen oder jenen bestimmten Verhältnissen gilt, und wir müssen mit unseren Verallgemeinerungen sehr vorsichtig sein. Unsere Kenntnis von den Bakterien ist in Wirklichkeit noch ganz fragmentarisch.

Aus:  
Schmidt & Weis, 1902  
Die Bakterien  
Gustav Fischer Verlag Jena