

Mikrobielle Diversität

Fingerabdrücke mikrobieller Gemeinschaften im Meer

ANTJE BOETIUS, CHRISTINA BIENHOLD, SANDRA SCHÖTTNER, JUDITH UFKES, ALBAN RAMETTE
 MIKROBIELLE HABITAT-GRUPPE, MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR MARINE MIKROBIOLOGIE, BREMEN

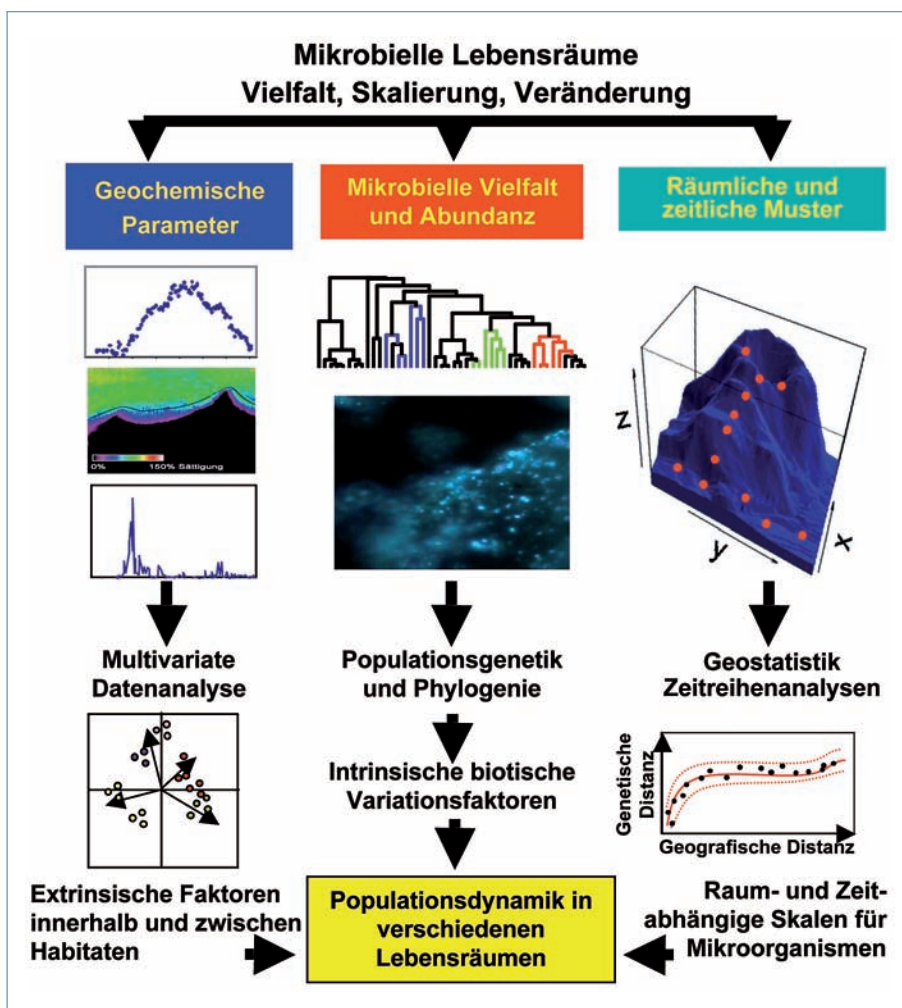
Die weitgehend unbekanntes mikrobiellen Gemeinschaften im Meeresboden können durch den Vergleich von molekularen Fingerabdrücken in ihrer Wechselwirkung mit der Umwelt und dem globalen Wandel untersucht werden.

Molecular fingerprinting tools allow an assessment of environmental controls of marine microbial community structure, including those related to global change.

Das Meer ist der Lebensraum einer bisher ungezählten Vielfalt des Lebens mit entscheidenden Funktionen in den Stoffkreisläufen der Erde. Einzellige Lebewesen im Ozean bilden ungefähr 90 Prozent der Biomasse und 98 Prozent der Primärproduktion, doch kennen wir die wenigsten von ihnen. Die Vielfalt von Bakterien und Archaeen im Meer macht nicht nur Mikrobiologen schwindelig. So enthält z. B. ein Teelöffel Schlamm vom Meeresboden eine Milliarde Zellen und mehrere Tausend Arten überwiegend unbekannter Bakterien.

In der Ökosystemforschung spielt die Kenntnis der Biodiversität von Lebensräumen aber eine wichtige Rolle – denn auf der Vielfalt und Interaktion der Gene, Populationen und Arten beruhen die Funktionen der Lebensgemeinschaften. Die Erfassung mikrobiellen Lebens wird heute durch schnelle molekulare Methoden vorangetrieben; dennoch befinden sich mikrobielle Ökologen weitgehend in der Entdeckerphase. So wie Darwin und seine Zeitgenossen vor 150 Jahren nach globalen Regeln zur Vielfalt und Verteilung von Pflanzen- und Tiergemeinschaften suchten, rätseln wir über die Struktur und Dynamik von mikrobiellen Gemeinschaften in ihrer Umwelt. Manche Forscher gehen sogar davon aus, dass Bakterienpopulationen keine Verbreitungsgrenzen kennen, sondern beliebig von sich ändernden Umweltfaktoren selektiert werden.

Heute wird der Ökosystemforschung vor allem eins abverlangt: Antworten zu geben auf die Frage, wie das Leben auf der Erde auf den Klimawandel reagiert und mit welchen Umweltveränderungen wann und wo in welchem Ausmaß zu rechnen ist. Da die Mikro-

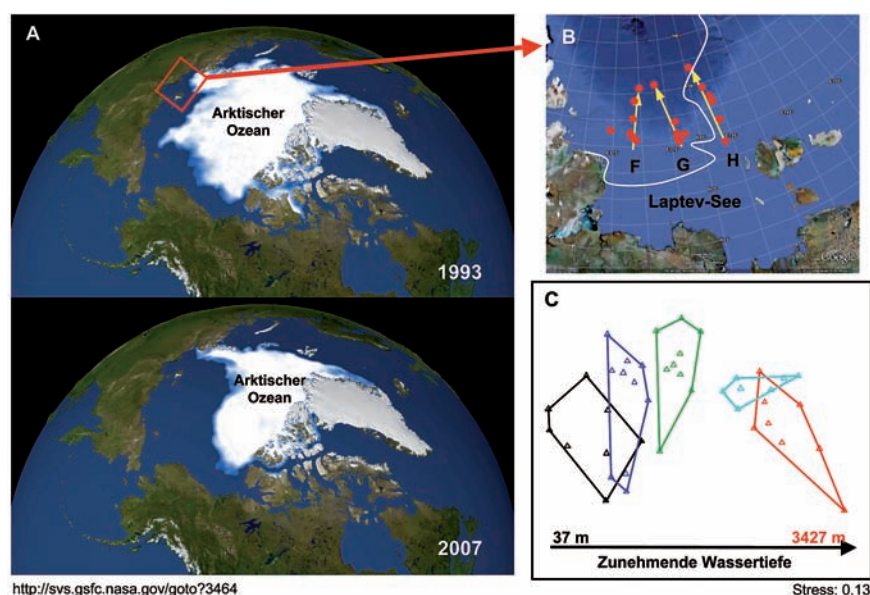


◀ **Abb. 1:** Verfahren zur Untersuchung der Wechselwirkung zwischen Umwelt und mikrobieller Biodiversität. Das Flussdiagramm zeigt, wie verschiedene Informationen zusammengefügt werden, um die Steuerung mikrobieller Gemeinschaften durch Umweltfaktoren zu analysieren [3].

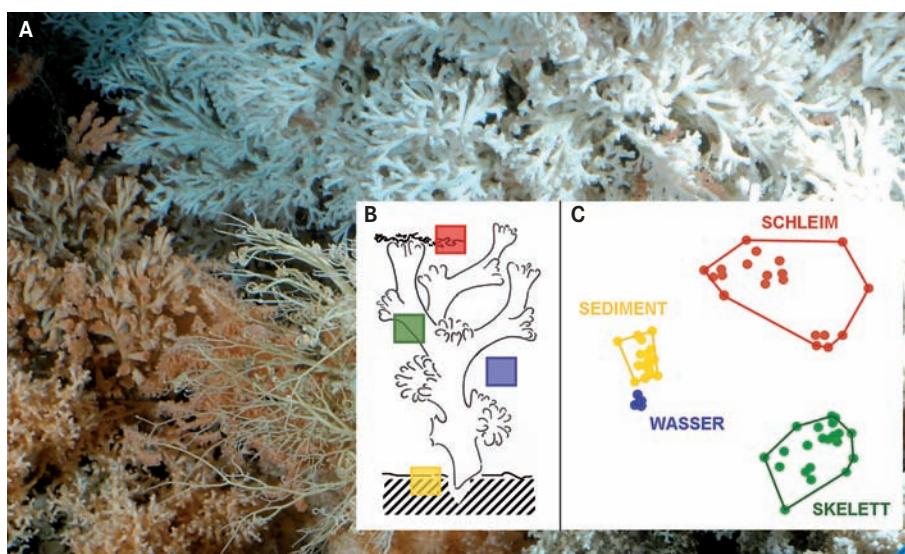
organismen im Meer eine so wichtige Rolle spielen für Nahrungsnetze und Stoffkreisläufe, wird es umso dringender, die Steuerungsfaktoren der mikrobiellen Biodiversität zu verstehen. Bisher fehlten allerdings die Methoden, die enorme Diversität von Mikroorganismen vergleichend zu erfassen. Neue *fingerprinting*-Methoden wie ARISA (*automated ribosomal intergenic spacer analysis*) oder das *454-massively parallel tag sequencing* (454-MPTS) ermöglichen es seit Kurzem, bei einer guten Kenntnis begleitender Umweltfaktoren, Hypothesen zur Verteilung mikrobieller Gemeinschaften zu testen (**Abb. 1**). Dabei dient die aus der georeferenzierten und gut charakterisierten Umweltprobe isolierte und aufgereinigte Gesamt-DNA als *template*. ARISA beruht auf der spezifischen, PCR-basierten Amplifizierung des ITS (*internal transcribed spacer*)-Elements, welches sich bei Bakterien zwischen den 16S- und 23S-rRNA-Genen im *rrn*-Operon befindet [1]. Bei 454-MPTS wird die hypervariable V6-Region des 16S-rRNA-Gens amplifiziert [2]. Beide Methoden nutzen das Konzept der „operationalen taxonomischen Einheiten“ (OTU), bei dem per Sequenzanalyse quantitative Vergleiche der Vielfalt und Struktur von mikrobiellen Gemeinschaften möglich sind, auch ohne sich auf ein Artenkonzept festlegen zu müssen [3].

Entwicklung der Bakteriengemeinschaften in der arktischen Tiefsee

Im Zuge des globalen Wandels kam es in der Arktis über die letzten Jahrzehnte zu dramatischen Umweltveränderungen wie Temperaturanstiegen und einer damit einhergehenden Abnahme der Eisbedeckung. Die Folgen für dort befindliche Lebensgemeinschaften vom Schelf bis zur Tiefsee können nicht abgeschätzt werden, schon alleine weil ihre Zusammensetzung und Verteilung noch weitgehend unbekannt sind. Daher wollen wir mit unseren Untersuchungen zunächst eine „Baseline“ erstellen, anhand derer zukünftige Veränderungen bakterieller Gemeinschaften in verschiedenen Bereichen des arktischen Kontinentalrands untersucht werden können. Dazu nutzen wir tiefgefrorene, geologische Archivproben und planen in den nächsten Jahren eine Vergleichsstudie mit dem Forschungsschiff „Polarstern“ an zuvor beprobten Stationen (**Abb. 2**). Zentrale Fragen befassen sich damit, wie Bakteriengemeinschaften am arktischen Meeresboden verteilt sind, und ob wir ihre Verteilungsmuster mit bestimmten Umweltfaktoren, bei-



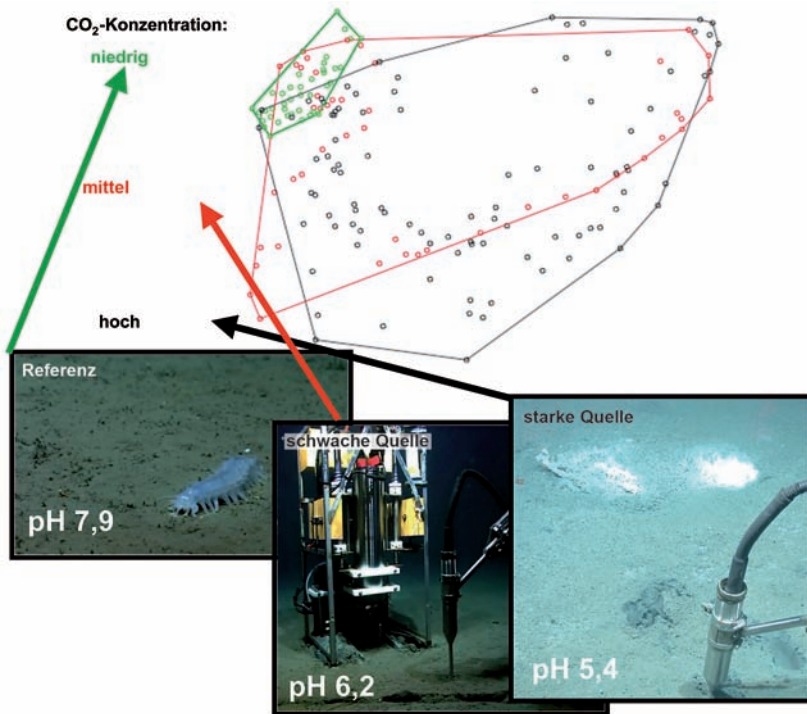
▲ **Abb. 2:** Bakteriengemeinschaften der tiefen Arktis. **A**, Arktischer Ozean mit der minimalen Eisbedeckung für die Jahre 1993 und 2007. **B**, drei Tiefentransekte (F, G, H) vor der russischen Laptev-See. Die Proben wurden vom Schelfrand im Süden bis zum zentralen Becken im Norden in Wassertiefen von 37 m bis 3427 m genommen [4]. Die Eisbedeckung zur Zeit der Probenahme ist mit einer weißen Linie markiert. **C**, Darstellung der bakteriellen Gemeinschaftsmuster mit nicht-metrischer multidimensionaler Skalierung (NMDS). Jeder Punkt entspricht dem bakteriellen Gemeinschaftsmuster einer Probe. Je weiter Punkte voneinander entfernt sind, desto unähnlicher die Gemeinschaft der entsprechenden Proben. Punkte gleicher Farbmarkierung gehören ähnlichen Wassertiefen an.



▲ **Abb. 3:** Bakteriengemeinschaften von Kaltwasserkorallenriffen. **A**, Kaltwasserkorallen des norwegischen Røst-Riffs in 400 Meter Wassertiefe (Bild: Jago Team, IfM Geomar). **B**, schematische Darstellung der mikrobiellen Habitate im Riff. **C**, Ähnlichkeitsanalyse der bakteriellen Gemeinschaften der verschiedenen Habitate mittels NMDS. Punkte gleicher Farbmarkierung gehören dem gleichen Habitat-Typ an. Weitere Erklärungen siehe Abb. 2C.

spielsweise der Eisbedeckung oder dem Eintrag organischen Materials, korrelieren können. Erste Auswertungen zeigen einen deutlichen Zusammenhang der Gemeinschaftsmuster mit der Wassertiefe (**Abb. 2**). Die Auswertung der begleitenden Parameter aus der Umweltdatenbank für diese Region verrät, dass die stärkste Änderung entlang der Wassertiefe der sich verringernde Eintrag von

Algendetritus aus der Deckschicht ist. Die Eisbedeckung kann als eigenständiger Faktor nur einen sehr kleinen Teil der Variabilität in der bakteriellen Gemeinschaft erklären, vermutlich weil gerade aus dem Meereis ein Großteil der Nahrung für die Tiefseelebensgemeinschaften kommt. Seit der Probenahme im Jahr 1993 ist die Meereisbedeckung stark zurückgegangen und der Kontinental-



▲ **Abb. 4:** Diversität bakterieller Gemeinschaften bei abnehmendem pH durch hohe Gehalte von CO₂ in Tiefseesedimenten. Die NMDS-Darstellung der bakteriellen Gemeinschaftsstrukturen zeigt den signifikanten Effekt des CO₂-Gehalts (hier als pH) im Sediment. Weitere Erklärungen siehe Abb. 2. (Bilder: MARUM, Universität Bremen).

rand der Laptev-See, der noch vor wenigen Jahrzehnten permanent von Eis bedeckt war, ist nun über längere Zeiträume im arktischen Sommer eisfrei. Die zukünftigen vergleichenden Untersuchungen werden wertvolle Einblicke in die Veränderungen der bakteriellen Gemeinschaften unter dem Einfluss des globalen Wandels liefern.

Mikrobielle Gemeinschaften in Kaltwasserkorallenriffen

Ein besonderer Tiefseelebensraum sind die großen Kaltwasserkorallenriffe, deren Ausdehnung erst in den letzten 15 Jahren entdeckt wurde. Sie erstrecken sich in einem riesigen Gürtel in bis zu 1.000 Meter Wassertiefe um die Kontinentalränder gemäßigter Breitengrade. Insbesondere durch die riffbildenden Eigenschaften einzelner Steinkorallenarten entstehen komplexe dreidimensionale Strukturen, die den Tiefseetieren eine Vielzahl unterschiedlicher Habitate bieten. Wir haben uns gefragt, ob sich die Vielfalt von Habitaten und Tieren an Korallenriffen auch in der bakteriellen Diversität widerspiegelt. Da Tiefseekorallenriffe zu den von Fischerei, Ozeanerwärmung und -versauerung bedrohten Meereslebensräumen gehören, ist es zudem wichtig, ihre Funktion zu verstehen. Aus der Ökologie tropischer Korallenriffe ist zu schließen, dass Mikroorganismen eine wichtige Rolle für die Funktion der

Riffhabitate innehaben. Für die Tiefseeriffe ist bisher allerdings nur wenig über die Interaktion zwischen Mikroorganismen und Korallen bekannt.

Uns interessiert, welche Faktoren die bakterielle Diversität im Riffsystem prägen. Besonderes Augenmerk liegt dabei auf dem Vergleich verschiedener mikrobieller Habitate, welche entweder direkt Korallen-assoziiert sind (Schleim, Gewebe oder Skelettoberfläche) oder der unmittelbaren Korallenumwelt angehören (Wasser und Sediment). Erste Ergebnisse zeigen, dass sowohl Schleim als auch Skelettoberfläche jeweils von sehr unterschiedlichen Bakteriengemeinschaften besiedelt sind und in ihrer Signatur zudem deutlich von denen der Wassersäule und des Meeresbodens abweichen (**Abb. 3**, [4]). Regional tragen die Tiefseekorallenriffe daher in einem hohen Maße zur Diversität von Bakterien am Meeresboden bei. Wir untersuchen derzeit die Herkunft und Verbreitung der Korallen-assoziierten Bakteriengemeinschaften, um mehr über ihre Rolle in dieser faszinierenden Tiefseelebensgemeinschaft zu erfahren.

Bakteriengemeinschaften untermeerischer CO₂-Quellen

Eine der wichtigsten Fragen für die Zukunft der Meere ist die Auswirkung der zunehmenden Menge an gelöstem CO₂ im Meeres-

wasser, die zu einer Erniedrigung des pH und einer Verringerung von Carbonat führt. Diese Versauerung bedroht kalkbildende Organismen wie Kalkalgen, Flügelschnecken, Muscheln und Korallen. Daher wird nach Lösungen für die Verringerung der industriellen CO₂-Emissionen in die Atmosphäre gesucht, die die Ozeanversauerung, Erderwärmung und andere Aspekte des Klimawandels verursachen. So wird die Speicherung von abgeschiedenem CO₂ in den tiefen Meeresboden diskutiert und derzeit auch schon in der Nordsee im industriellen Maßstab getestet. Um das Umweltrisiko einer solchen Entsorgung abschätzen zu können – etwa bei ungewollten Leckagen der CO₂-Speicherstätten –, braucht es zunächst Kenntnisse des Effektes von hohen CO₂-Konzentrationen auf die Lebensgemeinschaften am Meeresboden. Wir erforschen dazu natürliche Quellen von CO₂ am Tiefseeboden an Hydrothermalquellen. Eines dieser natürlichen Analoge, die Yonaguni-Kuppe, befindet sich in der Okinawa-Tiefseerinne vor Japan in einer Tiefe von 1.350 Metern [5]; sie wurde im März 2008 im Rahmen der SUMSUN-Expedition („Studien zur marinen CO₂-Sequestrierung durch Untersuchung natürlicher hydrothermalen CO₂-Ausstritte im nördlichen Westpazifik“) mit dem Forschungsschiff „Sonne“ beprobt. Hier steigt hoch konzentriertes flüssiges CO₂ im Meeresboden empor, welches den pH-Wert der Sedimente extrem sinken lässt. Um die Auswirkung von CO₂ auf die Lebensgemeinschaften von den Bakterien bis zu größeren Tieren zu untersuchen, wurden Sedimentproben entlang eines pH-Gradienten entnommen, also an Orten niedriger (Referenz), mittlerer (schwache Quelle) und hoher (starke Quelle) CO₂-Konzentration. Der Vergleich der Bakteriengemeinschaften entlang der CO₂-Gradienten (**Abb. 4**) zeigt eine starke Veränderung: Während am Referenzstandort – charakterisiert durch normale Umweltbedingungen – eine hohe Ähnlichkeit zwischen den beprobten Bakteriengemeinschaften ermittelt wurde, zeigen die beiden von CO₂ beeinflussten Standorte „Low Seepage“ und „Vent“ eine völlig andere Zusammensetzung sowie enorme Unterschiede zwischen den verschiedenen Meeresboden-Proben. Der CO₂-Ausstoß am Meeresboden scheint also eine starke Veränderung der bakteriellen Gemeinschaftsstrukturen zu verursachen. Ebenso fanden wir große Unterschiede in der Besiedlung durch kleine und größere Meerestiere an den gleichen Standorten, die darauf schließen lassen, dass

sich nur bestimmte Organismen dem hohen CO₂-Gehalt anpassen können.

Zukünftige Aufgaben der mikrobiellen Biodiversitätsforschung

Unsere ersten Ergebnisse lassen vermuten, dass es Regeln der Verteilung und Ähnlichkeit von Bakteriengemeinschaften gibt, die mit räumlichen, abiotischen und biotischen Umweltfaktoren zusammenhängen. Aber nicht nur die Struktur der Artenvielfalt ist interessant, sondern auch die relative Verteilung. Es gibt mikrobielle Gemeinschaften im Meer, deren Biomasse zu mehr als 50 Prozent aus einer Art besteht. Was macht diese Arten so erfolgreich? Einen hohen Anteil der Vielfalt von Bakterien und Archaeen machen selten vorkommende Populationen aus, über deren Rolle und Funktion wir noch kaum etwas wissen. Wie passen sie sich an die Umwelt an? Es wird immer deutlicher, wie schnell die Meeresumwelt – vom Meeres bis zur Tiefsee – auf den globalen Wandel reagiert, und wie weit der Eingriff des Menschen in die Geo- und Biosphäre des Ozeans schon reicht, z. B. in der Verschiebung der Arten dominanz und der geografischen Verbreitungszonen von Fischen und Plankton. In Zeiten sich verknappender Meeresressourcen – etwa von Öl, Gas oder Fisch – und eines Überschusses von Abfallprodukten an Land und in der Atmosphäre gibt es dabei viele neue Ideen, wie wir uns die Weiten des Meeres und die Vielfalt des Lebens im Meer zunutze machen können. Dabei ist die Erforschung der Mikroorganismen, ihrer Verbreitung,

Funktion und Evolution eine der spannendsten Herausforderungen.

Danksagung

Wir danken der Arbeitsgruppe Mikrobielle Habitate und besonders unseren Technikern für ihre Mitarbeit, außerdem der Max-Planck-Gesellschaft, der DFG, dem BMBF sowie der Graduiertenschule GLOMAR „Global Change in the Marine Realm“ an der Universität Bremen für die Unterstützung der Projekte. ■

Literatur

- [1] Fisher MM, Triplett EW (1999) Automated approach for ribosomal intergenic spacer analysis of microbial diversity and its application to freshwater bacterial communities. *Appl Environ Microbiol* 65:4630–4636
- [2] Sogin ML, Morrison HG, Huber JA et al. (2006) Microbial diversity in the deep sea and the underexplored „rare biosphere“. *PNAS* 103:12115–12120
- [3] Ramette A (2009) Quantitative community fingerprinting methods for estimating the abundance of operational taxonomic units in natural microbial communities. *Appl Environ Microbiol* 75:2495–2505

[4] Schöttner S, Hoffmann F, Wild C et al. (2009) Inter- and intra-habitat bacterial diversity associated with cold-water corals. *ISMEJ* 3:756–759

[5] Inagaki F, Kuypers MMM, Tsunogai U et al. (2006) Microbial community in a sediment-hosted CO₂ lake of the southern Okinawa Trough hydrothermal system. *PNAS* 103:13899–13900

[6] Boetius A, Damm E (1998) Benthic oxygen uptake, hydrolytic potentials and microbial biomass at the Arctic continental slope. *Deep-Sea Research I* 45:239–275

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Antje Boetius
HGF-MPG-Brückengruppe für Tiefseeökologie und -Technologie
Alfred-Wegener-Institut für Polar und Meeresforschung der Helmholtz Gemeinschaft
Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie
Celsiusstraße 1
D-28359 Bremen
Tel.: 0421-2028-860
Fax: 0421-2028-690
aboetius@mpi-bremen.de
www.mpi-bremen.de/en/Habitat_Group.html

AUTOREN



Prof. Dr. Antje Boetius¹ ist Leiterin der Mikrobiellen Habitat-Gruppe des MPI für Marine Mikrobiologie. Sie wurde 2009 mit dem Gottfried-Wilhelm-Leibniz-Preis der DFG ausgezeichnet. Zu ihren Forschungsschwerpunkten zählen die mikrobielle Ökologie, extreme Lebensräume der Tiefsee sowie die Bedeutung des Ozeans im globalen Kohlenstoffkreislauf. **Dr. Alban Ramette⁴** ist Wissenschaftler der Mikrobiellen Habitat-Gruppe und beschäftigt sich mit molekularen und statistischen Methoden zur Untersuchung der Biodiversität von Mikroorganismen. **Christina Bienhold²** und **Judith Ufkes³** sind Doktoran-

den der Graduiertenschule der Exzellenzinitiative GLOMAR an der Universität Bremen. **Sandra Schöttner⁵** ist Doktorandin im ESF EUROCORES-Projekt MICROSYSTEMS in Kooperation zwischen der LMU in München (AG Dr. Christian Wild) und dem MPI in Bremen.

