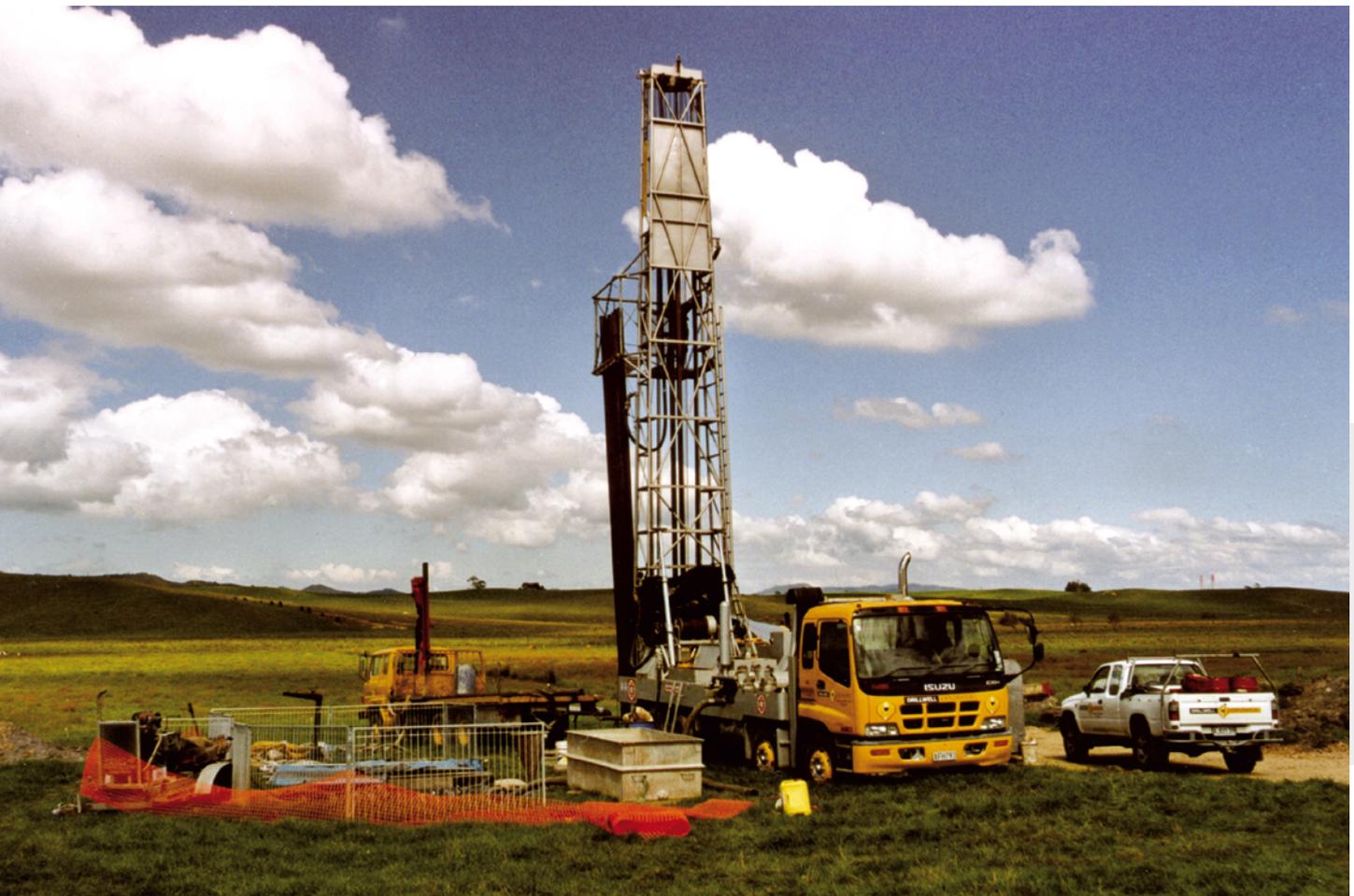


Nahrungsgrundlage für eine tiefe Biosphäre

Kai Mangelsdorf

Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ, Potsdam

In recent years a widely disseminated microbial deep biosphere was discovered in the subsurface of the Earth. This finding opens the view to a fascinating new world under our feet and forms a new topic in modern microbiology and geoscience research. With its recognition the curiosity arises how these deeply buried microorganisms are able to survive in the deep subsurface. Important questions concerning these survivalists are: what are the carbon and energy resources of these microbial ecosystems, what are the biotic and abiotic processes of substrate provision and what is the role of the deep biosphere in the organic matter transformation in the geological subsurface carbon cycle? The topic concerning the feedstock for deep microbial life forms the core of the deep biosphere research in Section Organic Geochemistry at GFZ German Research Centre for Geosciences.



Für lange Zeit bestand die wissenschaftliche Meinung, dass das Leben auf der Erde nur auf das Meer, die Erdoberfläche und die oberen Meter von Sedimenten beschränkt ist. In den letzten beiden Jahrzehnten kam man jedoch vor allem durch die Verbesserung von Nachweistechiken einem mikrobiellen Leben im tiefen Untergrund unserer Erde auf die Spur (Parkes et al., 1994), auf das man zuvor nur indirekte Hinweise erhalten hatte. Diese Entdeckung öffnete den Blick der Wissenschaft auf eine neue faszinierende Welt tief unterhalb der Erdoberfläche. An Land konnten Mikroorganismen in 3000 m tiefen Goldminen gefunden werden und in marinen Sedimenten bis zu einer Tiefe von etwa 1600 m, neuerdings sogar bis zu 2000 m. Hochrechnungen der Biomasse der tiefen Biosphäre ergaben, dass sie sich in den gleichen Mengendimensionen bewegt, wie die überall sichtbare Oberflächenbiosphäre. Allein schon diese Größe weist darauf hin, dass die tiefe Biosphäre einen großen Einfluss auf den globalen Kohlenstoffzyklus haben muss. Ihre spezifische Rolle ist aber bisher größtenteils unbekannt und deshalb Gegenstand der aktuellen Forschung (vgl. Beitrag von Kallmeyer „Die tiefe Biosphäre“ in diesem Heft).

Neben der Herausforderung, ein bisher unbekanntes Ökosystem zu erforschen, bestehen auch ökonomische Interessen bei der Untersuchung der tiefen mikrobiellen Gemeinschaften (Horsfield et al., 2007). Sie besitzen das Potenzial, biogene Energiereserven in Form von mikrobiell produziertem Methan zu bilden. Mikroorganismen sind aber auch in der Lage, durch Biodegradation von Erdöl in tiefen Lagerstätten Energiereserven zu zerstören. Zudem können diese mikrobiellen Gemeinschaften helfen, einen mit Öl kontaminierten Untergrund zu sanieren. Darüber hinaus tragen bisher unbekannte mikrobielle Gemeinschaften auch das Potenzial für neuartige biomedizinische Anwendungen, in dem sie z. B. Enzyme mit entsprechendem Potenzial in sich tragen. Ein anderer interessanter Forschungsansatz ist die tiefe Biosphäre als ein Modellsystem für ein Leben im tieferen Untergrund auf anderen Planeten. Die Oberflächen der anderen

Planeten unterscheiden sich zwar drastisch von der der Erde, doch im Untergrund könnten Bedingungen vorherrschen, die denen im Untergrund unseres Planeten entsprechen. Somit könnte ein vergleichbares Leben auch tief unterhalb der Oberfläche auf anderen Planeten existieren (vgl. Beitrag von Wagner et al. „Astrobiologie – dem Leben im Universum auf der Spur“ in diesem Heft).

Der tiefe Untergrund stellt als Lebensraum eine Herausforderung für Mikroorganismen dar und diese müssen dabei zu wahren Anpassungskünstlern werden. Im Vergleich zu den Lebensbedingungen an der Oberfläche muss sich das mikrobielle Leben mit zunehmender Tiefe immer extremeren Bedingungen stellen. So nehmen Druck und Temperatur mit der Tiefe zu, die Nährstoffe werden immer weniger, der Porenraum immer kleiner und die Verbindung zwischen den Poren, die Permeabilität, geringer und letztlich wird es für die Mikroorganismen immer schwieriger, an notwendige Energie- und Kohlenstoffressourcen zu gelangen, da das sedimentäre organische Material mit zunehmendem Abbau immer weniger angreifbar wird.

Substrate für die tiefe Biosphäre

Mit der weiten Verbreitung von mikrobiellem Leben im tiefen Untergrund stellt sich somit die Frage nach den Energie- und Kohlenstoffquellen für dieses mikrobielle Ökosystem. In vulkanischen Gesteinen, wie Basalten und Graniten, die nie mit photosynthetisch produzierter Biomasse in Kontakt gekommen sind, wurden Mikroorganismen gefunden, die in der Lage sind, notwendige Substrate aus anorganischen Geofluiden (z. B. Kohlendioxid, Wasserstoff und Stickstoff) zu synthetisieren, von denen dann wieder andere Mikroorganismen leben können. Diese Mikroorganismen werden als „Slimes“ bezeichnet, abgeleitet aus dem englischen Ausdruck „subsurface lithoautotrophic microbial ecosystems“.

Im Gegensatz dazu ist in marinen und terrestrischen Sedimentablagerungen das sedimentäre, ehemals photosynthetisch produzierte organische Material die offensichtliche Energie- und Kohlenstoffquelle. Da in der Tiefe kein Sauerstoff für Atmungsprozesse zur Verfügung steht, geht das organische Material durch anaerobe Prozesse mit Hilfe von z. B. Sulfat, Nitrat, Eisen (III) usw. in den Stoffwechsel ein. Das sedimentäre organische Material unterliegt während seiner Absenkungsgeschichte einer großen strukturellen Umwandlung und es wird vermutet, dass die tiefe Biosphäre stark an der Transformation und damit an der Reifung des organischen Materials in den tieferen Sedimenten beteiligt ist.

Neben dem in den Sedimenten feinverteilten organischen Material bieten insbesondere Akkumulationen von organischer

Links: Bohrung auf der Nordinsel Neuseelands im Rahmen des DEBITS-Projekts (Deep Biosphere in Terrestrial Systems) nach terrestrischen Schichten, die reich an organischem Kohlenstoff sind und daher als Nahrungslieferant für eine tiefe Biosphäre dienen können. (Foto: K. Mangelsdorf, GFZ)

Left: Drill site of terrestrial organic carbon rich layers forming potential feeder lithologies to sustain a deep biosphere conducted on the North Island of New Zealand in the scope of the DEBITS project (Deep Biosphere in Terrestrial Systems)



Kontakt: K. Mangelsdorf
(k.mangelsdorf@gfz-potsdam.de)



Abb. 1: Kern aus der DEBITS-1 Bohrung (Nordinsel Neuseeland) mit Kohlefragmenten als Beispiel für eine Tonablagerung, die reich an organischem Material ist. (Foto: K. Mangeldorf, GFZ)

Fig. 1: Core from the DEBITS-1 well (North Island New Zealand) with coal fragments, representing organic carbon rich clay lithology.

Matrix einen besonderen Lebensraum für die Mikroorganismen im tiefen Untergrund, da hier ausreichend Nahrung zur Verfügung steht. Solche Akkumulationen können z. B. Öllagerstätten, Kohleablagerungen und Gashydratschichten sein (vgl. Beitrag Luzi-Helbing et al. „Die Wechselwirkungen zwischen Biosphäre und Gashydraten“ in diesem Heft). Die überwiegende Menge an bekannten Ölreserven ist häufig stark biodegradiertes Öl, wie z. B. im Orinoco-Teergürtel in Venezuela oder in den Athabasca-Ölsanden in Kanada. Bei der Biodegradation von Erdölen werden insbesondere die auch für die anthropogene Nutzung wichtigen n-Alkane (Kerosin, Benzin und Diesel) abgebaut. Das verbleibende Öl weist eine zunehmend schlechtere Qualität auf. Die Biodegradation von Erdöllagerstätten ist in der Regel ein Prozess, der bereits über geologische Zeiträume hinweg abgelaufen ist. Öl steigt vom sehr heißen Ort seiner Entstehung, wo nach heutigem Wissensstand kein mikrobielles Leben möglich ist (Erdölmuttergestein mit Temperaturen zwischen 100 bis 150 °C), in kühlere Reservoirsteine (< etwa 80 °C) auf, in denen sich bereits Mikroorganismen befinden. Es wird vermutet, dass sich einige dieser Mikroorganismen dann an die Bedingungen in einer Erdöllagerstätte anpassen und das Erdöl in einem oftmals über Jahrmillionen andauernden Prozess als Nahrungsquelle nutzen können.

Kohlelagen stellen ebenfalls eine natürliche Akkumulation von Nahrungssubstraten für eine tiefe Biosphäre dar. Die Untersuchungen von kohlehaltigen Schichten aus Neuseeland (Abb. 1) durch das GFZ haben gezeigt, dass eine lebende mikrobielle Gemeinschaft an die Kohleschichten assoziiert ist. In unmittelbarer Nähe an die Kohlen angrenzenden Sandschichten, die ihrerseits arm an organischem Material sind, lassen sich erhöhte Mengen an speziellen mikrobiellen Biomolekülen finden. Diese Bio-

moleküle sind nur in lebenden Mikroorganismen über längere Zeiträume stabil und eignen sich daher als Anzeiger für lebende mikrobielle Gemeinschaften. Unsere Untersuchungen zeigen, dass der Anteil an Substraten, wie Format und Acetat, in den Kohleschichten recht hoch ist, diese Substrate in der angrenzenden Silt- und Sandschicht aber nahezu nicht vorkommen (Vieth et al., 2008). Dies legt den Schluss nahe, dass die Kohleschichten die assoziierten mikrobiellen Gemeinschaften mit ausreichend Substraten versorgen (Abb. 2).

Die Kohle erfährt über geologische Zeiten hinweg im Zuge zunehmender Absenkung und der damit einhergehenden Zunahme von Druck und Temperatur eine Reifung, die sich in einer strukturellen Transformation des organischen Materials widerspiegelt. Die Untersuchungen von Substratmengen in Kohlen unterschiedlicher Reifung haben gezeigt, dass die Anteile von Substraten wie z. B. Acetat mit zunehmender Reife abnehmen (Abb. 3). Die stärkste Abnahme liegt dabei in einem Reifebereich, der einem Temperaturbereich entspricht, in dem mikrobielles Leben möglich ist. Dies zeigt an, dass während der Reifung Substrate aus den Kohlen freigesetzt werden, die eine hervorragende Nahrungsgrundlage für eine tiefe Biosphäre darstellen (Glombitza et al., 2009). Ob diese aktiv durch mikrobielle Einflussnahme oder durch rein abiotische Prozesse freigesetzt werden, ist bisher nicht bekannt und wird Gegenstand zukünftiger Forschung sein. Erste Kalkulationen der Substratmengen deuten an, dass die bei der Transformation des organischen Materials während der Reifung freigesetzten Substrate ausreichen, eine tiefe Biosphäre über geologische Zeiträume hinweg zu versorgen. Ähnliche Ergebnisse erbrachten Untersuchungen des GFZ von Kohlen, die in einer Sedimenttiefe von 2000 m vor der Halbinsel Shimokita vor der Küste Japans während der

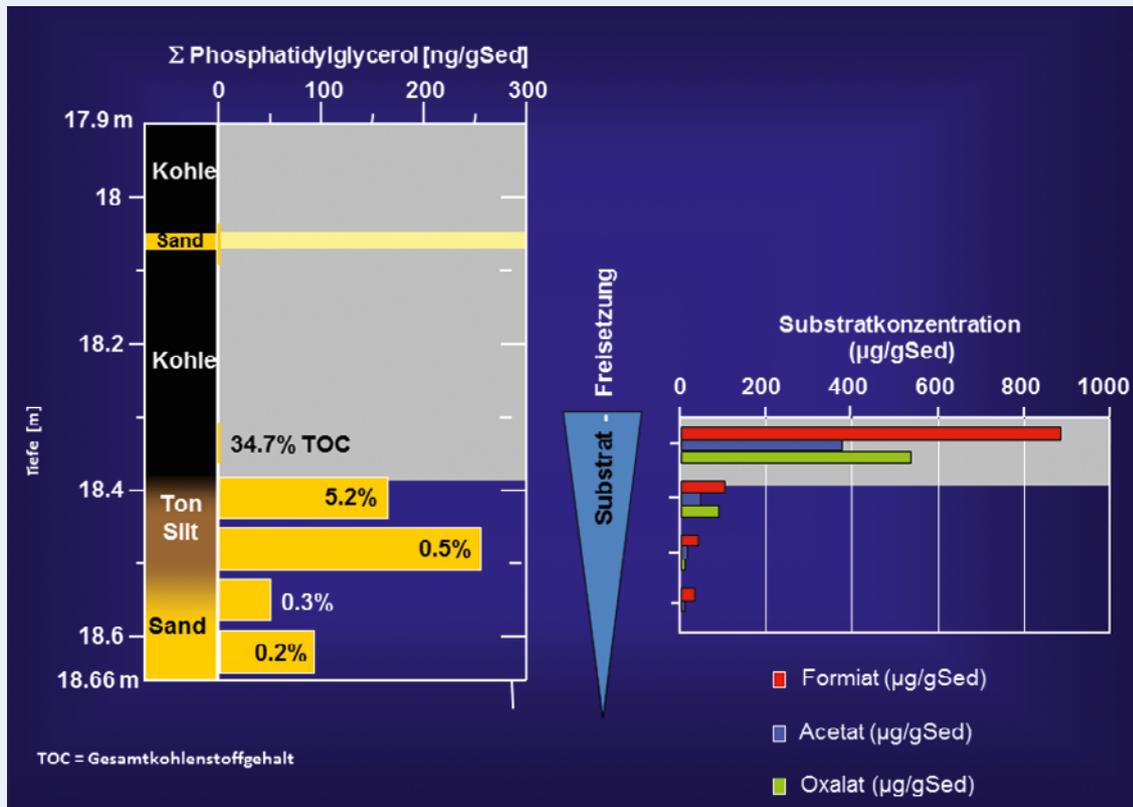


Abb. 2: Kernabschnitt aus der Bohrung DEBITS-1 mit einer Wechsellagerung aus Kohleschichten, die reich an organischem Material, und angrenzenden Silt- und Sandschichten, die arm an organischem Material sind. Die Lebendbiomarker (Phosphatidylglycerole, Bestandteile mikrobieller Zellmembranen) weisen auf eine an die Kohle assoziierte tiefe mikrobielle Gemeinschaft hin. Messungen von mikrobiellen Substratkonzentrationen deuten auf eine Versorgung der mikrobiellen Gemeinschaft durch Substratfreisetzung aus der Kohle. (Abb.: K. Mangelsdorf, GFZ)

Fig. 2: Core segment from the DEBITS-1 well with organic carbon rich coal layers adjacent to organic carbon poor silt- and sandstone layers. The lifemarker (phosphatidylglyceroles, constituents of microbial cell membranes) profile indicates deep microbial community associated to the coal layer. Measurements of the microbial substrates point to a substrate release from the coals to sustain the microbial community in the adjacent lithologies.

IODP-Expedition 337 erbohrt wurden. Das sedimentäre organische Material stellt damit eine nachhaltige Nahrungsgrundlage für die tiefe Biosphäre dar.

Bei dem mikrobiellen Abbau des organischen Materials werden zunächst die schwächeren Bindungen in der organischen Matrix aufgebrochen, da für deren Spaltung weniger Energie aufgewandt werden muss. Nach und nach bleiben in der Matrix die stabileren Verbindungen zurück und das Material wird für einen mikrobiellen Abbau immer weniger angreifbar. Neue Untersuchungen deuten allerdings an, dass das organische Material durch zunehmende Absenkung und den damit steigenden Umgebungstemperaturen wieder aktiviert werden kann. Inerte Bindungen werden durch die höhere Energie im System wieder angreifbar. Somit bleibt das sedimentäre organische Material

auch in tieferen Zonen durch die zunehmende Temperatur für den mikrobiellen Stoffwechsel zugänglich.

In noch tieferen Zonen kommt man in einen Übergangsbereich, wo mikrobielles Leben aufgrund der erhöhten Temperaturen (< 80 bis 90 °C) gerade noch möglich ist, und wo erste thermisch induzierte Bindungsspaltungen der Kohlenwasserstoffgenese im organischen Material stattfinden können, wenn auch auf sehr niedrigem Level. In diesen Zonen kann es dennoch zu einer direkten geothermisch induzierten Substratfreisetzung für sehr tiefe mikrobielle Gemeinschaften kommen – also zu einer direkten Kopplung zwischen geothermischen und mikrobiologischen Prozessen (Horsfield et al., 2006). Untersuchungen der Kohlereifesequenzen haben gezeigt, dass genau in dieser Übergangsphase erhöhte Werte an Fettsäuren auftreten, die

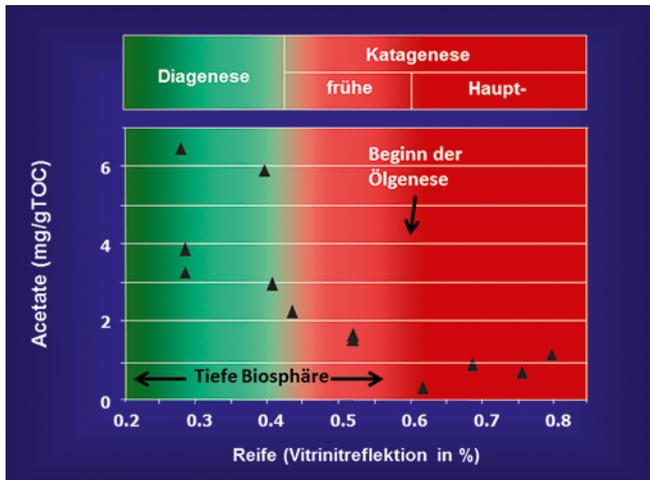


Abb. 3: Abnahme der Acetatkonzentration mit zunehmender Reife von Kohlen einer neuseeländischen Kohlereifesequenz. Die Hauptabnahme liegt in einem Reifebereich (Temperaturen $<80\text{ }^{\circ}\text{C}$) in dem eine tiefe Biosphäre existieren kann. Somit setzen Kohlen während der Reifung Substrate frei, die eine Nahrungsgrundlage für tiefe mikrobielle Gemeinschaften bilden. (Abb.: K. Mangelsdorf, GFZ)

Fig. 3: Decrease of acetate concentration with increasing maturity of the coals from a New Zealand maturity sequence. The main decrease overlaps with a maturity interval (temperatures lower $80\text{ }^{\circ}\text{C}$), where a deep biosphere can exist. Therefore, coals release substrates forming a feedstock for deep microbial communities.

auch Bestandteile von mikrobiellen Zellmembranen sind. Die erhöhten Werte zeigen an, dass hier eine tiefe Biosphäre durch thermische Substratfreisetzung stimuliert worden sein könnte. In noch tieferen Zonen mit Temperaturen weit über $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ist nach heutigem Kenntnisstand vermutlich kein mikrobielles Leben mehr möglich. Allerdings beginnt ab $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ die Zone, in der in Ablagerungen, die reich an organischem Kohlenstoff sind, eine intensive Kohlenwasserstoffgenese durch thermisch induzierte Spaltungsprozesse einsetzt. Diese Kohlenwasserstoffe wandern dann, wie oben bereits beschrieben, aus den sogenannten Muttergesteinen wieder in die darüber liegenden Sedimente. Somit können die aus dem sedimentären organischen Material in den tiefen und heißen Zonen generierten Kohlenwasserstoffe wiederum eine Nahrungsgrundlage für eine tiefe Biosphäre in höheren Erdschichten darstellen.

Methoden der Probenahme

Eine Voraussetzung für die Untersuchung der tiefen Biosphäre ist Probenmaterial, das nicht während der Bohrung, bei der in der Regel eine Bohrspülung zum Einsatz kommt, kontaminiert



Abb. 4: Entnahme von Probenmaterial für die Untersuchung tiefer mikrobieller Ökosysteme: a) Entnahme von Unterproben zur Bestimmung der Eindringtiefe der Bohrspülung, b) Einschweißen der Kerne in eine Kunststoffolie und Entnahme von Sauerstoff sowie Begasung mit Stickstoff, c) Probenahme in einer Probenahmebox unter Stickstoffatmosphäre und d) Probeentnahme aus dem inneren Bereich des Kerns („inner coring“) (Fotos: K. Mangelsdorf, GFZ)

Fig. 4: Sampling of sample material for deep biosphere research: a) sampling of subsample to determine the penetration depth of the drilling fluid into the core material, b) sealing of the cores into a plastic foil with subsequent removal of oxygen and filling with nitrogen, c) sampling in a glove box under nitrogen atmosphere and d) sampling of the central part of the core (inner coring)

wird. Da die mikrobiellen Zellzahlen von der Oberfläche (rund 10^9 Zellen pro cm^3) in die Tiefe stark abnehmen (etwa 10^5 bis 10^6 Zellen pro cm^3 in 1000 m Tiefe) können die tiefen Sedimente sehr leicht mit Mikroorganismen von der Oberfläche kontaminiert werden. Bei einer Bohrung mit Bohrspülung lässt sich eine Kontamination nicht vermeiden, allerdings lässt sie sich kontrollieren (Mangelsdorf und Kallmeyer, 2010). Zu diesem Zweck werden der Bohrspülung chemische Tracer oder fluoreszierende Partikel zugefügt. Die fluoreszierenden Partikel haben dabei ungefähr die Größe eines Mikroorganismus. Anhand der Tracer kann dann am Bohrkern festgestellt werden, wie weit die Bohrspülung und damit die potentielle Kontamination in den Kern eingedrungen ist. Dafür werden aus dem Kernquerschnitt Unterproben aus der Mitte und aus dem Randbereich entnommen und hinsichtlich der Kontaminationstracer untersucht (Abb. 4). Kernmaterial, das bis in die Kernmitte Spuren der Tracer aufweist, kann für weitere Untersuchungen nicht verwendet werden und muss verworfen werden.

Da Sauerstoff oftmals schädlich für die Mikroorganismen der tiefen Biosphäre ist, werden die erbohrten Kerne direkt nach der Bohrung in Kunststoffolien eingeschweißt, der verbliebene

Sauerstoff wird durch eine Stickstoffatmosphäre ersetzt. Die Probenahme der Kerne findet dann häufig in Probenahmeboxen mit einer Stickstoffatmosphäre statt. Dies ist insbesondere für mikrobiologische Arbeiten wichtig, bei denen es um die Kultivierung der Mikroorganismen geht. Da der äußere Teil des Kerns grundsätzlich mit der Bohrspülung in Kontakt kommt, wird immer nur der innere Teil des Kerns beprobt („inner coring“). An den so gewonnenen Proben lassen sich sowohl die mikrobiologischen Methoden und die biogeochemischen Biomarkeruntersuchungen, als auch die geochemischen Untersuchungen bezüglich unterschiedlicher Substratquellen durchführen.

Fazit und Ausblick

Die Untersuchung der tiefen Biosphäre stellt eine relativ junge Disziplin in den modernen Geobiowissenschaften dar. Über die Prozesse der Substratgewinnung im tiefen Untergrund, also den direkten Wechselwirkungen zwischen der tiefen Biosphäre und dem sedimentären organischen Material, ist bisher nur wenig bekannt. Es stellt sich die Frage, inwieweit die tiefe Biosphäre an der über geologische Zeiträume ablaufenden Transformation des sedimentären organischen Materials beteiligt ist und welche Rolle die tiefe Biosphäre im geologischen und letztlich auch im globalen Kohlenstoffkreislauf spielt. Aus diesen Fragen eröffnet sich ein weites Feld für die zukünftige Forschung, in dem nicht nur die Erforschung der Lebensweise von Mikroorganismen unter den extremen Bedingungen des Untergrunds im Mittelpunkt stehen wird, sondern auch anwendungsbezogene Themen bezüglich der Gewinnung von Ressourcen, der Nutzung des tiefen Untergrunds, der mikrobiellen Umweltsanierung und der medizintechnischen Anwendung.

Zitierte und weiterführende Literatur

- Glombitza, C., Mangelsdorf, K., Horsfield, B. (2009): A novel procedure to detect low molecular weight compounds released by alkaline ester cleavage from low maturity coals to assess its feedstock potential for deep microbial life. - *Organic Geochemistry*, 40, 2, p. 175-183.
- Horsfield, B., Kieft, T. L., Amann, H., Franks, S. G., Kallmeyer, J., Mangelsdorf, K., Parkes, R. J., Wagner, D., Wilkes, H., Zink, K.-G. (2007): The Geobiosphere. - In: Harms, U., Koeberl, C., Zoback, M. D. (Eds.), *Continental Scientific Drilling: A Decade of Progress, and Challenges for the Future*, Springer, p. 163-212.
- Horsfield, B., Schenk, H. J., Zink, K.-G., Ondrak, R., Dieckmann, V., Kallmeyer, J., Mangelsdorf, K., di Primio, R., Wilkes, H., Parkes, R. J., Fry, J., Cragg, B. (2006): Living microbial ecosystems within the active zone of catagenesis: implications for feeding the deep biosphere. - *Earth and Planetary Science Letters*, 246, 1-2, p. 55-69.
- Mangelsdorf, K., Kallmeyer, J. (2010): Integration of Deep Biosphere Research into the International Continental Scientific Drilling Program. - *Scientific drilling: reports on deep earth sampling and monitoring*, 10, p. 46-55.
- Parkes, R. J., Cragg, B. A., Bale, S. J., Getliff, J. M., Goodman, K., Rochelle, P. A., Fry, J. C., Weightman, A. J., Harvey, S. M. (1994): Deep bacterial biosphere in Pacific Ocean sediments. - *Nature*, 371, 6496, p. 410-413.
- Vieth-Hillebrand [Vieth], A., Mangelsdorf, K., Sykes, R., Horsfield, B. (2008): Water extraction of coals – potential for estimating low molecular weight organic acids as carbon feedstock for the deep terrestrial biosphere. - *Organic Geochemistry*, 39, 8, p. 985-991.