

Umweltgenomik

Rar, aber relevant: die seltene Biosphäre im Hoch-CO₂-Untergrund Egergraben

DANIEL LIPUS, ZEYU JIA, JENS KALLMEYER
DEUTSCHES GEOLFORSCHUNGSZENTRUM POTSDAM (GFZ)

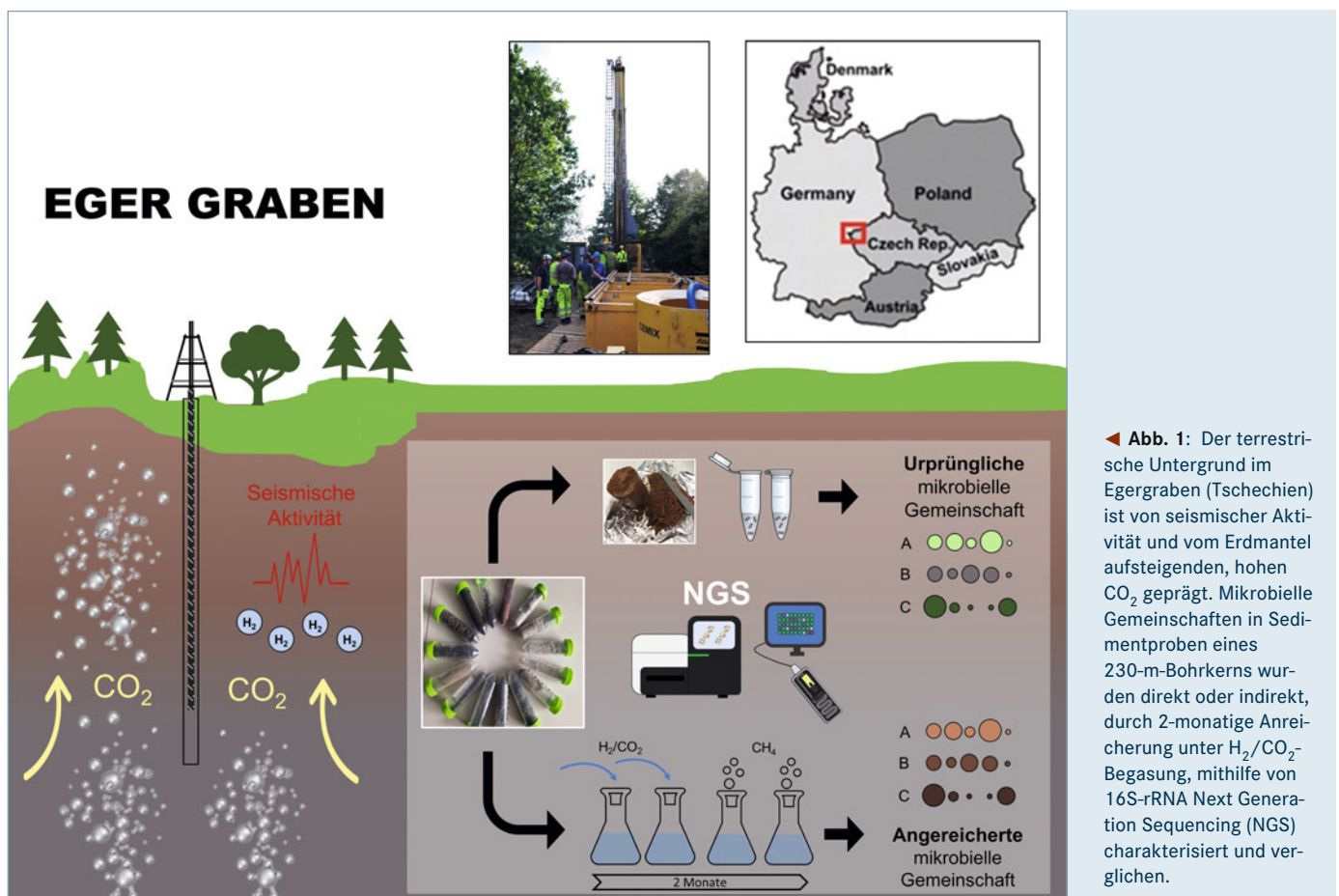
Understanding microbial behavior in high CO₂ subsurface systems is pivotal for CO₂ capture and mitigation and achieving long-term climate goals. Genomic analysis of sediments and enrichment cultures from the geologically active Eger Rift region emphasize the significance of the rare biosphere in such efforts. Despite being scarce in the native community, sulfate-reducing and methanogenic taxa became active under high CO₂ and H₂ conditions, highlighting their metabolic role in subsurface environments.

DOI: 10.1007/s12268-024-2252-4
© The Author(s) 2024

Die globale Erderwärmung aufgrund steigender atmosphärischer CO₂-Konzentrationen ist eines der führenden Themen des

21. Jahrhunderts. Wissenschaftliche und ingenieurtechnische Lösungen zur Begrenzung der Freisetzung von CO₂ in die Atmo-

sphäre spielen dabei eine immer wichtigere Rolle. Ein Ansatz ist das Carbon Capture and Storage (CCS), bei dem CO₂ an seiner Quelle erfasst und in geeigneten unterirdischen Lagerstätten gespeichert wird. Projekte wie das vom GFZ Potsdam durchgeführte CO₂SINK in Ketzin lieferten dabei erste Daten zu den Auswirkungen von CCS auf die umgebende Umwelt [1]. Trotzdem sind die langfristigen Auswirkungen erhöhter CO₂-Konzentrationen in unterirdischen Umgebungen wenig erforscht, einschließlich der in diesen Ökosystemen lebenden mikrobiellen Gemeinschaften. Für diese menschengemachten Speicher liegen Beobachtungsdaten nur für einen kurzen Betrachtungszeitraum vor, während natürliche Hoch-CO₂-Systeme einen Blick in die Zukunft erlauben. Um die langfristige Stabilität und Nachhaltigkeit von



CCS weiter zu untersuchen, sind daher natürliche unterirdische Hoch-CO₂-Umgebungen interessante Studienorte.

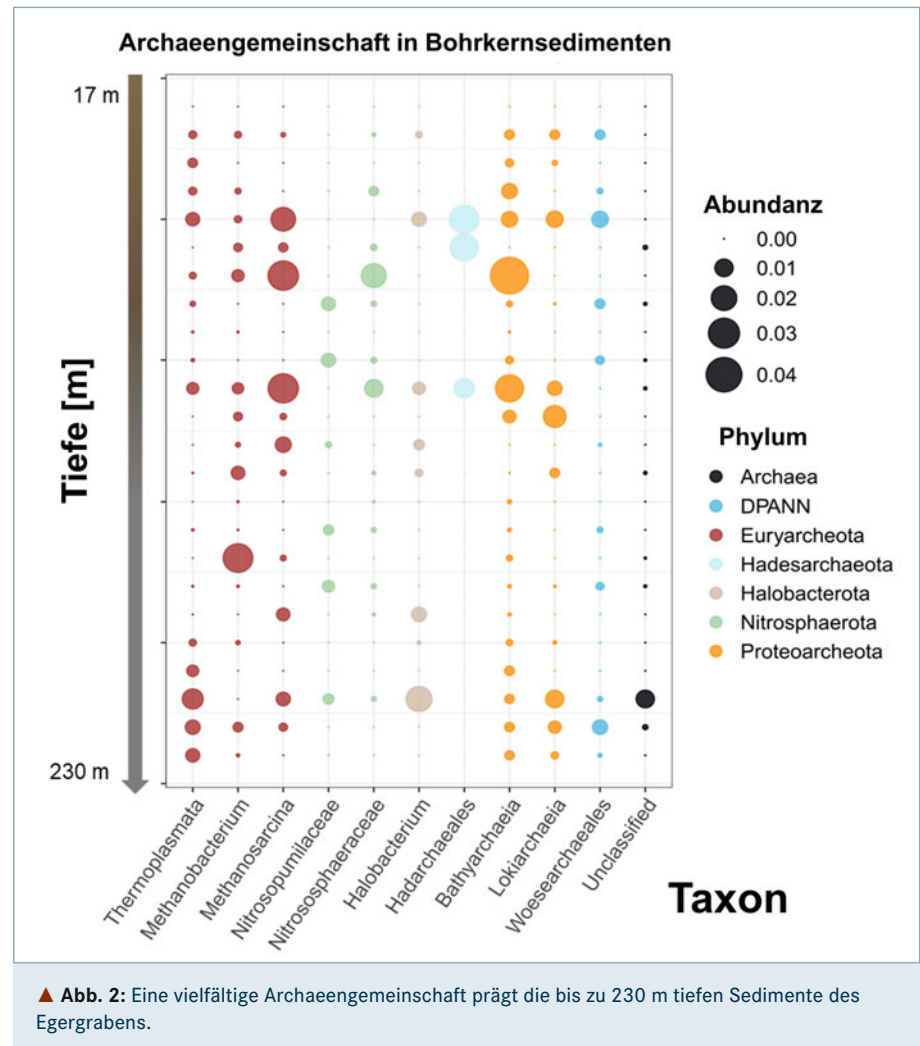
Das Untergrund-Ökosystem des Egergrabens bietet einzigartige Voraussetzungen

Ein solches, einzigartiges Ökosystem befindet sich im Gebiet des Egergrabens in der westlichen Tschechischen Republik (**Abb. 1**). In dieser Gegend ist der Untergrund durch seismische Aktivität und durch aktive Entgasung von CO₂ aus dem Erdmantel geprägt. Laut Schätzungen dauert das Entgasen seit dem Mittel-Pleistozän an und setzt seit etwa einer Million Jahren große Mengen an CO₂ frei [2], welche zwischen 14 und 43 kg m⁻² d⁻¹ variieren [2, 3]. Grundwasser in diesem Gebiet ist mit etwa 2 g L⁻¹ frei gelöstem CO₂ stark gasgesättigt. Im Egergraben treten außerdem beachtliche Konzentrationen an H₂ auf, welches höchstwahrscheinlich während der regelmäßig und episodisch auftretenden Erdbeben durch die Spaltung von Wassermolekülen auf der Oberfläche von durch die Erdbebenaktivität zerbrochenen Gesteine entsteht [4]. Diese einzigartigen Bedingungen bieten interessante Möglichkeiten, neben geologischen Prozessen auch mikrobielle Gemeinschaften und Prozesse zu erforschen. CO₂ und H₂ dienen dabei als potenzielle Nährstoffe für Mikroorganismen, u. a. als anorganische Elektronakzeptoren für Carboxylierungsprozesse [5, 6]. Gleichzeitig erlaubt die Erforschung dieser Prozesse Einblicke in den möglichen Einfluss von CCS-Operationen auf mikrobielle Gemeinschaften im Untergrund.

NGS als Zugang zu Daten mikrobieller Gemeinschaften und Prozesse

Mithilfe moderner genomischer Analyseverfahren war es möglich, Bohrkernproben aus dem Egergraben, welche als Teil des International Continental Drilling Program (ICDP) im August 2019 aus bis zu 230 m Tiefe genommen wurden, zu analysieren. Zur Untersuchung der im Untergrund des Egergrabens vorkommenden Biodiversität von Bakterien und Archaeen nutzten wir einen Amplikon-Sequenzierungs-Ansatz (16S-rRNA Gen). Die Sequenzen der Amplikondaten wurden mit bioinformatischen Verfahren und der Silva V138-Datenbank als Referenz annotiert.

Um aktive H₂/CO₂-Stoffwechselprozesse zu analysieren, wurden außerdem Mikroorganismen unter künstlicher H₂/CO₂-Atmo-



sphäre angereichert. Dabei wurde regelmäßig die Methankonzentrationen gemessen, um festzustellen, ob es zu mikrobieller Methanbildung kam. Nach zwei Monaten wurden die angereicherten mikrobiellen Gemeinschaften durch NGS-Amplikon- und Metagenomik-Verfahren charakterisiert.

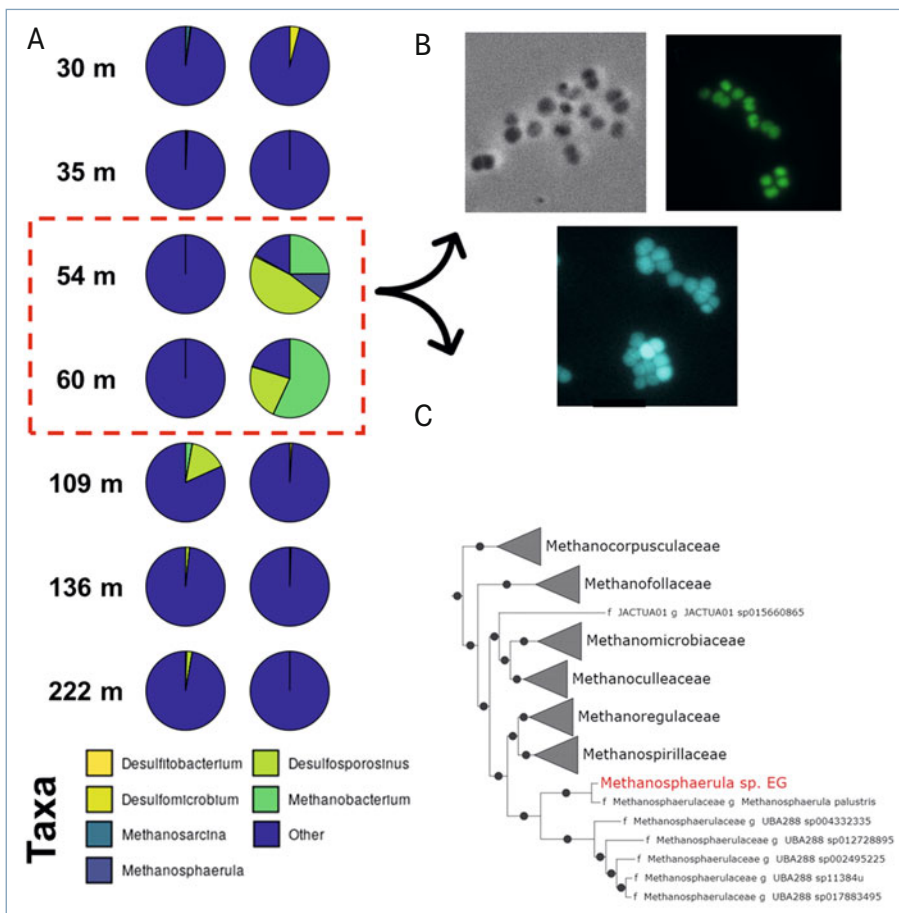
Mixotrophe Gemeinschaften und hohe Archaeenvielfalt

Die genomische Auswertung der Bohrkernproben zeigte eine wenig abundante, mixotrophe Gemeinschaft, die nicht wie erwartet von anaeroben chemoautotrophen Organismen dominiert wurde. Stattdessen fanden wir viele in Oberflächenböden, Gewässern oder Rhizomen vorkommende Mikroorganismen, z. B. die aeroben Gattungen *Pseudomonas* und *Phyllobacterium* oder die anaeroben Gattungen *Alshewanella*. In einigen Tiefen wurden auch Sulfatreduzierer, wie *Sulfurimonas* und *Desulfosporosinus*, und sporenbildende Organismen, wie *Bacillus*, identifiziert.

Allerdings deuten die Daten auch auf eine hohe Archaeenvielfalt hin. Archaeen waren nicht übermäßig abundant, kamen aber in allen analysierten Proben vor (**Abb. 2A**). Dazu gehören z. B. der Stamm der halophilen *Halobacterium* und *Bathyarchaeota*, welche potenziell zur CO₂-Fixierung durch Acetogenese beitragen können. Besonders relevant war allerdings die Entdeckung von methanogenen, CO₂- und H₂-metabolisierenden Stämmen *Methanobacterium* und *Methanosarcina*.

Anreicherungen bieten einen Blick in die seltene Biosphäre

Um herauszufinden, wie aktiv Mikroorganismen und besonders Archaeen unter konstant hohen CO₂/H₂-Bedingungen sind, wurden Anreicherungskulturen mit Eger-Sedimenten angesetzt. Die Ergebnisse waren eindeutig: Unter hohen CO₂- und H₂-Bedingungen war es möglich, dominante und aktive methanproduzierende Gemeinschaften aus bestimmten Tiefen anzureichern. Dabei wurde die meiste Aktivität in Anreicherungen aus Tie-



▲ **Abb. 3:** Anreicherung und Charakterisierung von *Methanosphaerula* aus Sedimenten des Egergrabens **A**, Anreicherung von methanogenen Archaeen und Sulfatreduzierern aus 54 m und 60 m tiefen Sedimenten. **B**, Mikroskopaufnahmen von *Methanosphaerula* zeigen die sphärische Morphologie der Zellen. **C**, Phylogenetische Analyse des rekonstruierten Draft Genomes (*Methanosphaerula* EG) weist eine Ähnlichkeit zum einzigen anderen weltweit bekannten Methanosphaerulagenom auf.

fen gemessen, in denen ursprünglich nur sehr wenige oder gar keine methanogenen Archaeen festgestellt wurden. Besonders dominant waren die Gattungen *Methanobacterium* und *Methanosphaerula* (**Abb. 3A**). Daneben wurden in einigen Proben noch hohe Abundanzen von Sulfatreduzierern, insbesondere der Gattung *Desulfosporosinus*, festgestellt.

Auch diese Organismen kamen nur in sehr geringen Mengen in den ursprünglichen Sedimenten vor. Ist H_2 vorhanden, könnten sie das im Sediment vorhandene Sulfat reduzieren. Dies verdeutlicht die Fähigkeit von *Desulfosporosinus*, sich an die einzigartigen Bedingungen im Egergraben anzupassen und das tektonisch erzeugte H_2 zu nutzen.

Die seltene Biosphäre darf nicht unterschätzt und sollte durch Kultivierung erforscht werden

Unsere Daten legen nahe, dass sowohl methanogene Archaeen als auch sulfatreduzierende Bakterien im Eger-Rift der „seltene Biosphäre“ zugeordnet werden können. Dieses populäre mikrobielle ökologische Konzept von Sogin *et al.* [7, 8] bezieht sich auf Mikroorganismen mit geringer Häufigkeit, die aber trotzdem zur phylogenetischen Vielfalt in einer Gemeinschaft und zur gesamten mikrobiellen Aktivität beitragen.

Die Ergebnisse der Mikrobiomanalyse im Egergraben heben hervor, wie wichtig es ist auch wenig abundante Gemeinschaften in

Hier steht eine Anzeige.

 Springer

eine Mikrobiomanalyse einzubeziehen, besonders in Ökosystemen mit wechselnden äußeren Bedingungen. Außerdem unterstreichen unsere Beobachtungen eindeutig, dass Anreicherungen und Kultivierungsansätze wichtige Daten zur Dynamik von mikrobiellen Gemeinschaften in Ökosysteme unter variablen Bedingungen beisteuern und damit komplementär zu neben direkten genomischen Mikrobiomanalysen sind. In diesem Fall nutzen methanogene Archaeen und Sulfatreduzierer die hohen CO₂- und H₂-Konzentrationen und zeigen, inwieweit sich Mikroorganismen an die geochemischen Bedingungen und indirekt geologische Gegebenheiten anpassen können. Somit tragen sie zu Stoffwechselkreisläufen auch in nährstoffarmen, *low biomass*-Systemen, wie der terrestrischen tiefen Biosphäre, bei.

Kultivierung ermöglicht Rekonstruktion und Charakterisierung eines seltenen *Methanosphaerula*-Genoms

Durch die Anreicherung kam es auch zur Entdeckung einer besonderen, sonst selten beschriebenen Art von Methanogenen, eines neuen Stamms der Gattung *Methanosphaerula*. Wie beschrieben, wurden genomische Sequenzen dieses Organismus gar nicht oder nur in sehr kleinen Mengen in den originalen Sedimentproben entdeckt. Durch die Anreicherung gelang es uns, aus zwei Tiefen *Methanosphaerula* zu aktivieren, und zu deutlich erhöhten Abundanzen heranwachsen lassen. Unter dem Mikroskop ist die sphärische Morphologie der Zellen gut sichtbar (**Abb. 3B**). Durch einen metagenomischen Sequenzierungsansatz wurde dann das Genom rekonstruiert. Dabei weist unser Genom hohe Ähnlichkeit zum einzigen anderen bekannten Stamm und detailliert beschriebenen Genom dieser Gattung auf (**Abb. 3C**), welches aus einem Sumpf an der amerikanischen Ostküste stammt [9, 10]. Zurzeit kultivieren und erforschen wir diesen neuen Stamm umfangreich, da er als Mitglied der seltenen Biosphäre des Egergrabens eine wichtige ökologische Rolle spielen könnte.

Die Erforschung der seltenen Biosphäre ist wichtig

Unsere Studie zeigt, wie mithilfe von genomischer und klassischer mikrobiologischer

Analysen wichtige Erkenntnis über mikrobielle Gemeinschaften in einzigartigen Ökosystemen wie der tiefen Biosphäre gewonnen werden können. Diese Daten dienen nicht nur der Grundlagenforschung, wie z. B. der Entdeckung neuer oder selten vorkommender Mikroorganismen, sondern auch der Erschließung neuer Technologien, z. B. CCS, und sind somit ein wichtiger wissenschaftlicher Beitrag zum Weg in eine nachhaltige und klimaorientierte Zukunft. ■

Literatur

- [1] Morozova D, Zettlitzer M Let, D et al. (2011) Monitoring of the microbial community composition in deep subsurface saline aquifers during CO₂ storage in Ketzin, Germany. *Energy Procedia* 4: 4362–4370
- [2] Weinlich FH, Bräuer K, Kämpf H et al. (1999) An active subcontinental mantle volatile system in the western Eger rift, Central Europe: Gas flux, isotopic (He, C, and N) and compositional fingerprints. *Geochim Cosmochim Acta* 63: 3653–3671
- [3] Nickschick T, Kämpf H, Flechsig C et al. (2015) CO₂ degassing in the Hartoušov mofette area, western Eger Rift, imaged by CO₂ mapping and geoelectrical and gravity surveys *Int J Earth Sci* 104: 2107–2129
- [4] Bräuer K., Kämpf H, Niedermann S et al. (2008) Natural laboratory NW Bohemia: comprehensive fluid studies between 1992 and 2005 used to trace geodynamic process. *Geochem Geophys Geosystems* 9
- [5] Chapelle FH, O'Neill K, Bradley P et al. (2002) A hydrogen-based subsurface microbial community dominated by methanogens. *Nature* 415: 312–315
- [6] Reith F (2011) Life in the deep subsurface. *Geology* 39: 287–288

- [7] Curtis PS, Hanson PJ, Bolstad P et al. (2002) Biometric and eddy-covariance based estimates of annual carbon storage in five eastern North American deciduous forests. *Agric For Meteorol* 113: 3–19
- [8] Sogin ML, Morrison HG, Huber JA et al. (2006) Microbial diversity in the deep sea and the underexplored "rare biosphere". *Proc Natl Acad Sci* 103: 12115–12120
- [9] Cadillo-Quiroz H, Yavitt JB, Zinder SH (2009) *Methanosphaerula palustris* gen. nov., sp. nov., a hydrogenotrophic methanogen isolated from a minerotrophic fen peatland. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 928–935
- [10] Cadillo-Quiroz H, Browne P, Kyrpides N et al. (2015) Complete genome sequence of *Methanosphaerula palustris* E1-9CT, a hydrogenotrophic methanogen isolated from a minerotrophic fen peatland. *Microbiol Resour Announc* 3: 10–1128

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Jens Kallmeyer
 Deutsches GeoForschungszentrum Potsdam (GFZ)
 Haus A 71, Raum 353
 Telegrafenberg
 D-14473 Potsdam
 kallm@gfz-potsdam.de

AUTOREN



Daniel Lipus

2008–2012 Bachelorstudium in Biology an der Iona University (USA). 2012–2017 Masterstudium und Promotion in Umweltingenieurwesen an der University of Pittsburgh (USA). 2017–2018 PostDoc am National Energy Technology Laboratory in Pittsburgh. 2018–2024 wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Sektion Geomikrobiologie am Deutschen GeoForschungszentrum GFZ, Potsdam. Seit 2024 Assistant Professor an der Thomas and Jefferson University in Philadelphia, USA.



Zeyu Jia

2013–2017 Bachelorstudium in Bio-Engineering. 2017–2020 Masterstudium in Biologie an der Shanghai Jiao Tong University, China. Seit 2020 Doktorand in der Sektion Geomikrobiologie am Deutschen GeoForschungszentrum GFZ und Stipendiat des Chinese Scholarship Councils.



Jens Kallmeyer

1998 Diplom in Geologie an der Universität Bremen. 2003 Promotion am Max-Planck-Institut für marine Mikrobiologie in Bremen. 2005–2006 Postdoc u. a. am NASA Astrobiology Institute, Rhode Island, USA. 2008–2012 Nachwuchsgruppenleiter an der Universität Potsdam. Seit 2012 Senior Scientist am Deutschen GeoForschungszentrum GFZ, Potsdam.