

Alle Jahre wieder

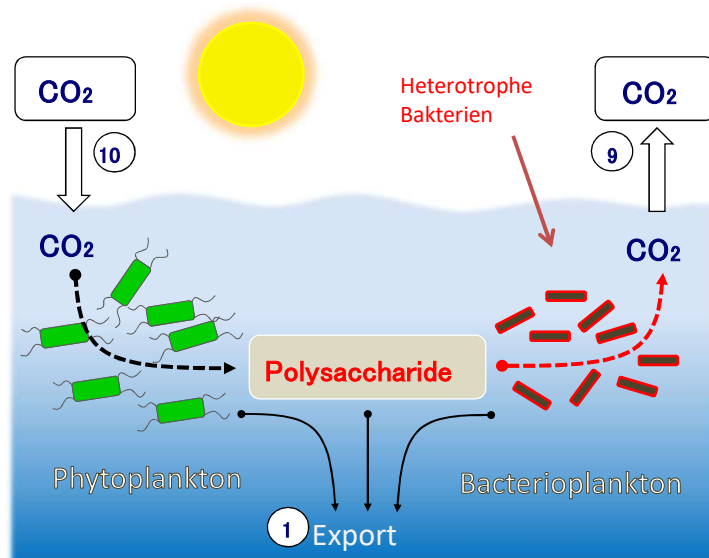
oder

„Wenn im Frühjahr die Bakterien blühen ...“

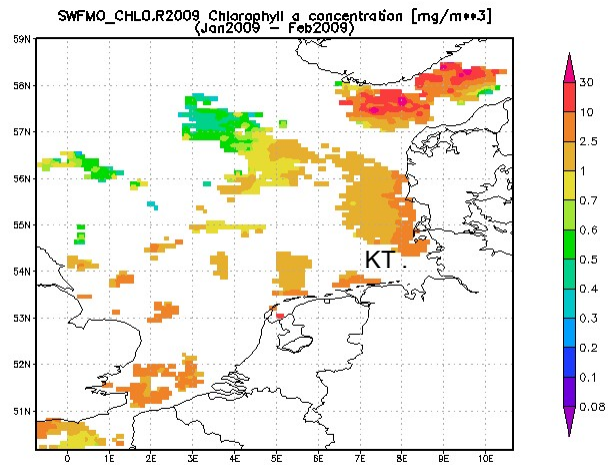
Rudolf Amann

Einblicke in die Arbeit der Abteilung Molekulare Ökologie

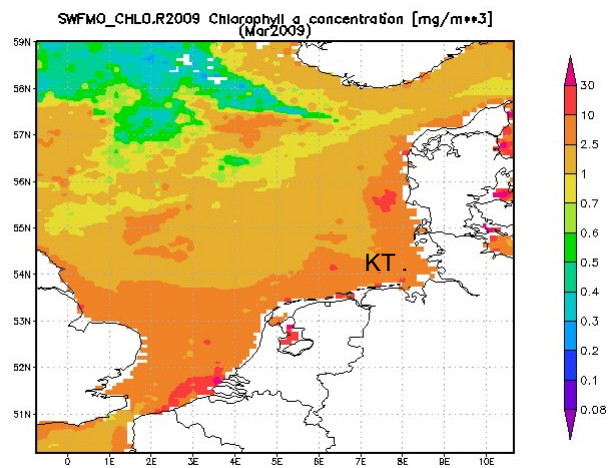
Wichtiger Teil (Gt/Jahr) des marinen Kohlenstoffkreislaufs



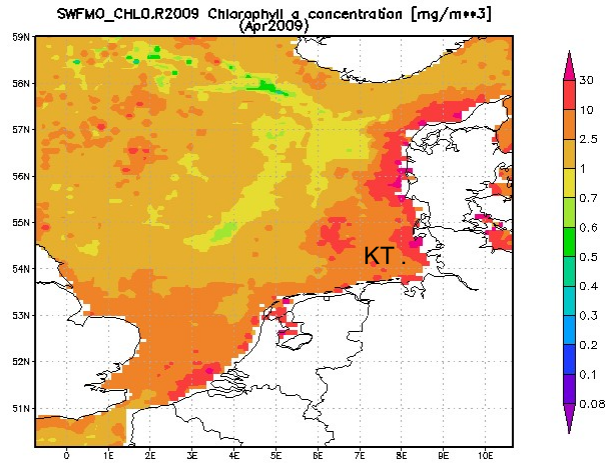
Satelliten über der Nordsee



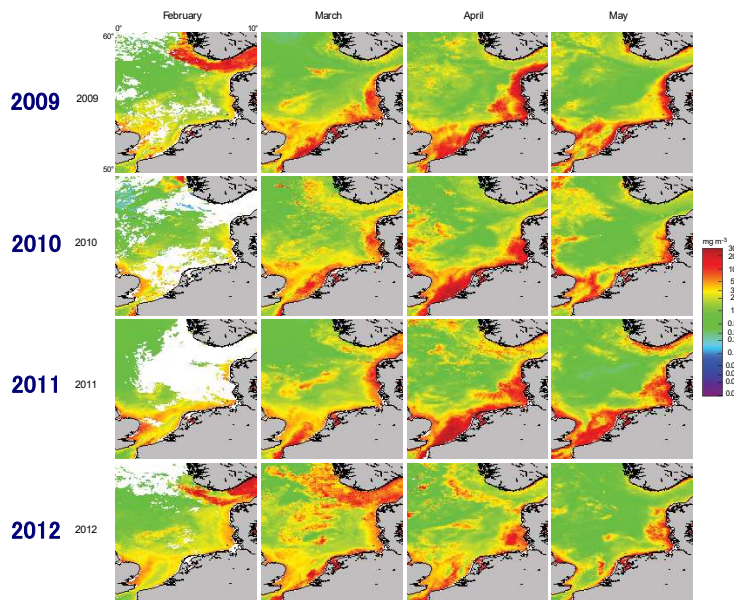
Chlorophyll im März 2009



... im April 2009

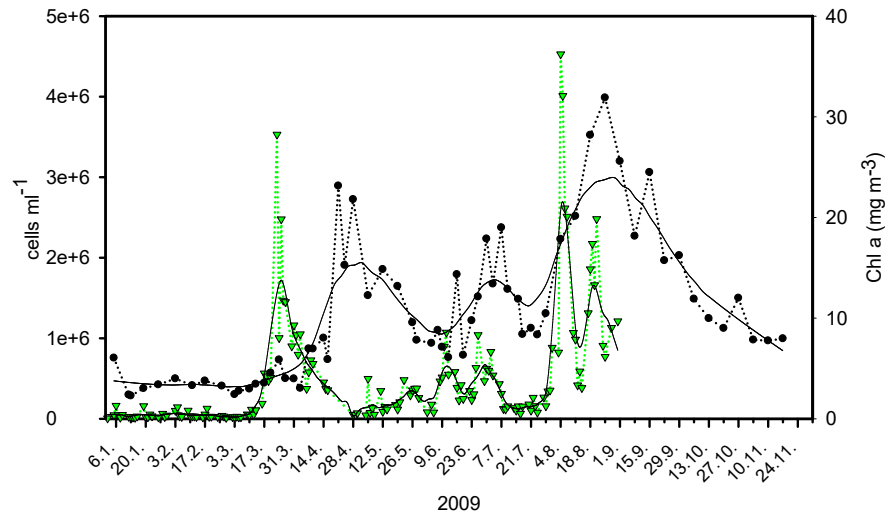


Wiederkehrende Frühjahrsblüten 2009-2012



All images retrieved from GlobColour website. Shown is the extended Europe area at full resolution (1km) as merged products using weighted averages of the following sensors: MERIS, MODIS-AQUA, SeaWiFS and VIIRS. See GlobColour website for details (<http://hermes.aod.fr/>). The Chlorophyll a concentrations are shown as monthly averages.

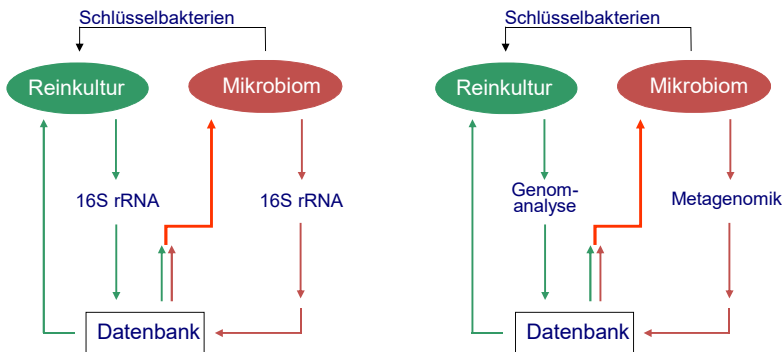
Die Frühjahrsphytoplanktonblüten brechen zusammen und die Algenbiomasse wird von Bakterien abgebaut



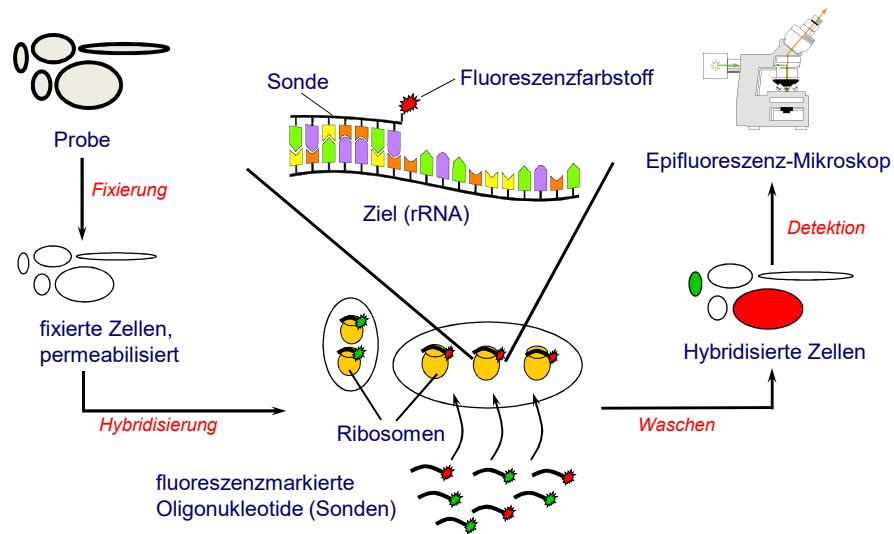
Werkzeuge des molekularen Ökologen
16S rRNA und (Meta-)Genomik

Diversität: Who is out there?
rRNA-Ansatz

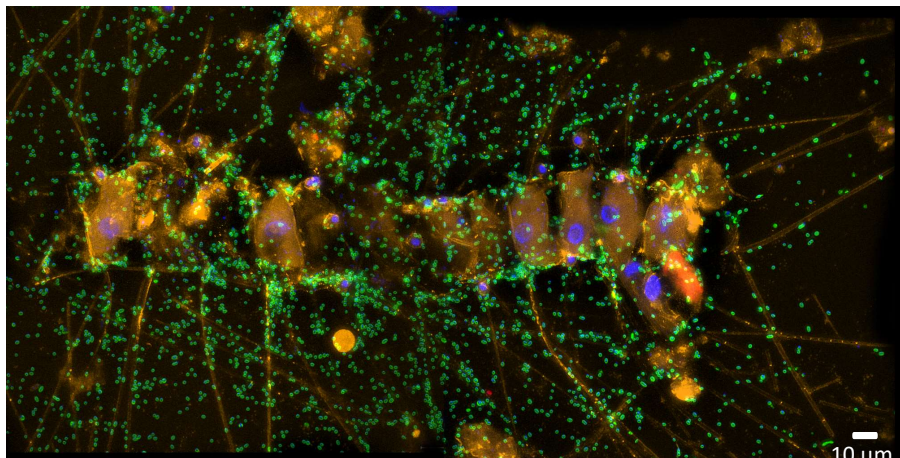
Funktion: What can they do?
Genomik/Metagenomik



Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung (FISH)
= Einzelzellidentifizierung auf der Basis der Phylogenie



Identifizierung, Lokalisierung und Quantifizierung von
heterotrophen *Bacteroidetes* mittels FISH



Bakenhus, Bennke, Fuchs (unpublished)

Der mikrobielle Teil des Lebens
ist zahlreich und ziemlich komplex

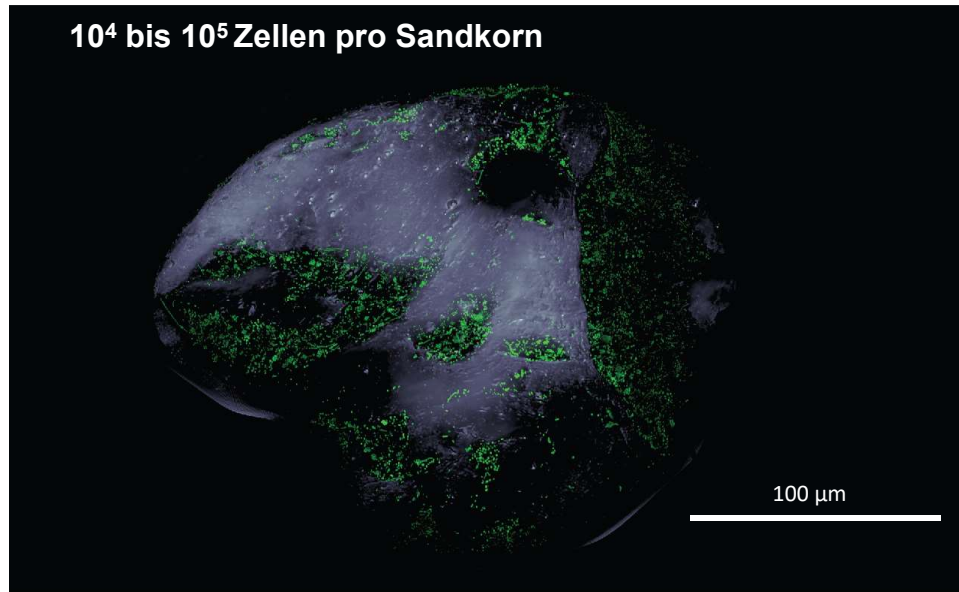
Boden	10^6 - 10^8 /cm ³	$\sim 3 \times 10^{29}$
Meerwasser	10^4 - 10^6 /cm ³	$\sim 1 \times 10^{29}$
marine Sedimente	10^7 - 10^9 /cm ³	$\sim 3 \times 10^{29}$
Darmbakterien	10^{10} - 10^{11} /cm ³	$\sim 6 \times 10^{25}$
„tiefe Biosphäre“	10^2 - 10^8 /cm ³	(4×10^{30} ?); heute eher 10^{28}

...es gibt mehr Bakterien ($\sim 1 \times 10^{30}$) auf der Erde
als Sterne ($\sim 1 \times 10^{25}$) im Universum...

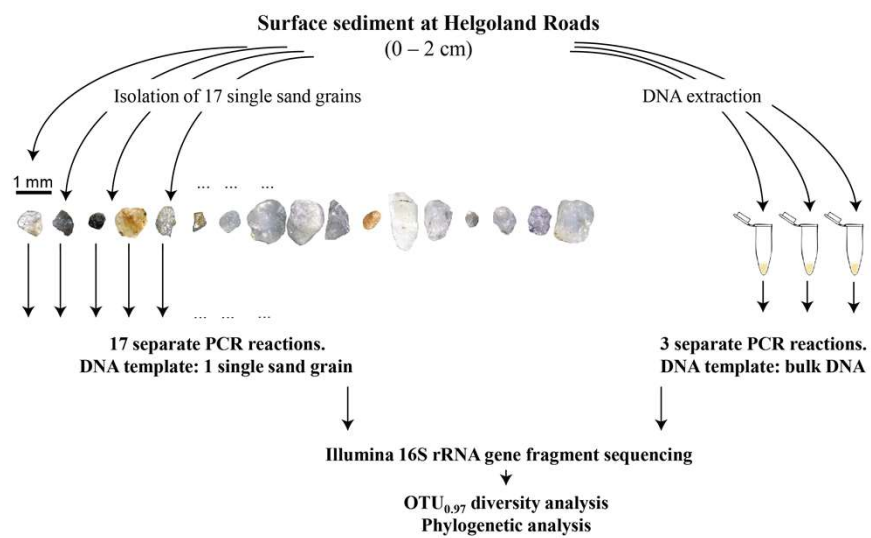
W.B. Whitmann et al. 1998



Lichtmikroskopie eines einzelnen Sandkorns

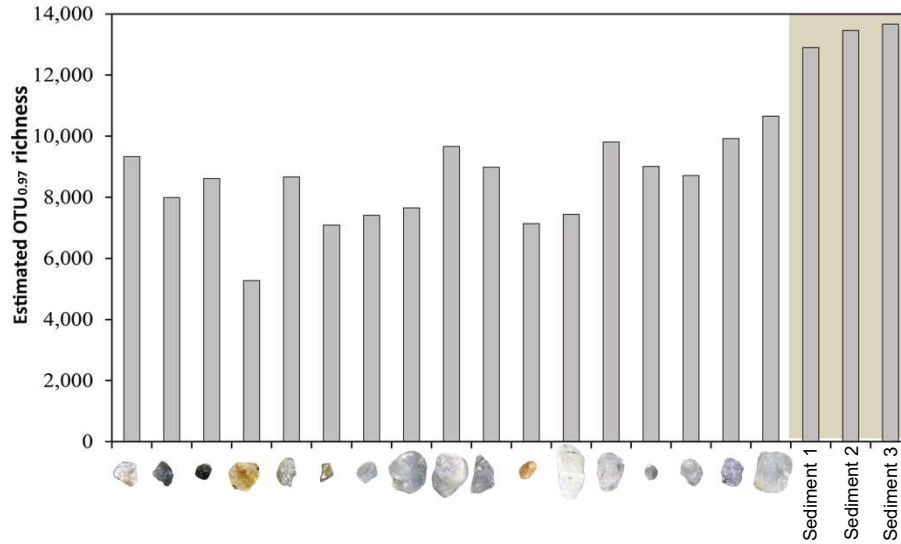


Vergleichende Diversitätsanalyse von 17 Sandkörnern

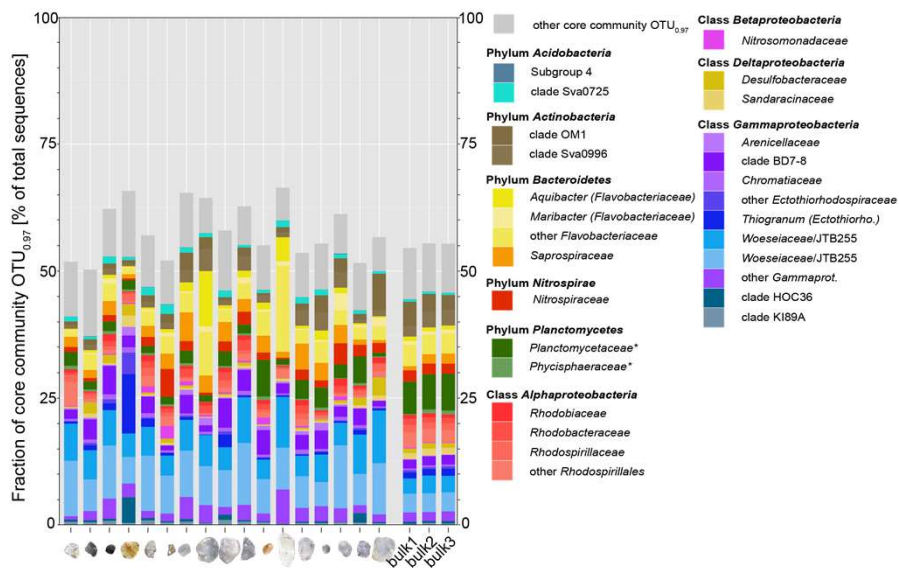


Probandt et al. ISME J. 2018

Hohe Bakteriendiversität auf jedem einzelnen Sandkorn

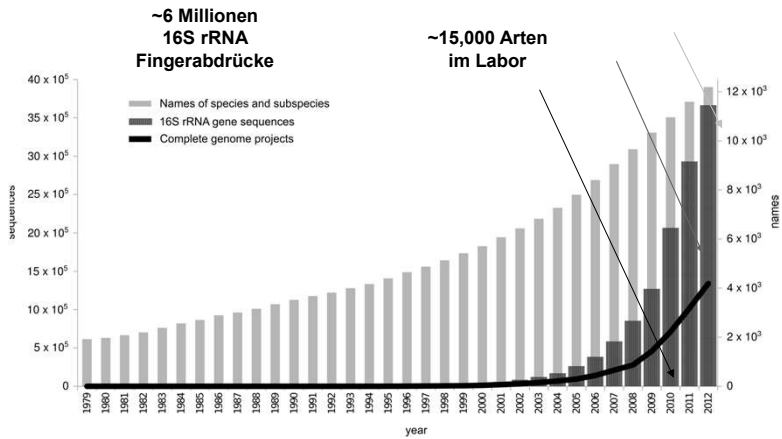


Die Kernlebensgemeinschaft jedes Sandkorns ist ähnlich und katalysiert alle zentralen Stoffkreisläufe



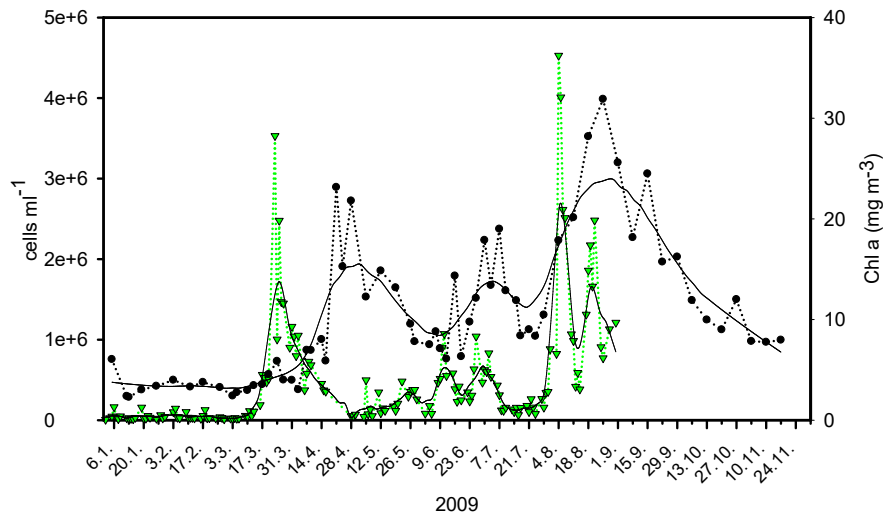
Probandt et al. ISME J. 2018

... dazu kommt, dass die Artenzahl hoch ist (mindestens eine Million Bacteria and Archaea, vielleicht sogar Milliarden von Arten oder mehr)
 ... und die wenigsten davon (~15000) sind schon in Reinkultur im Labor vorhanden

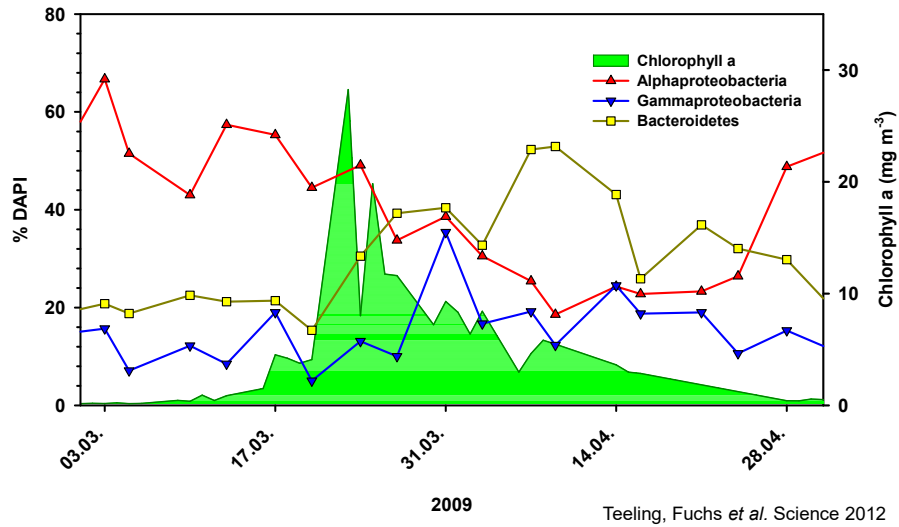


Yarza et al. Nature Rev. Microb. 2014

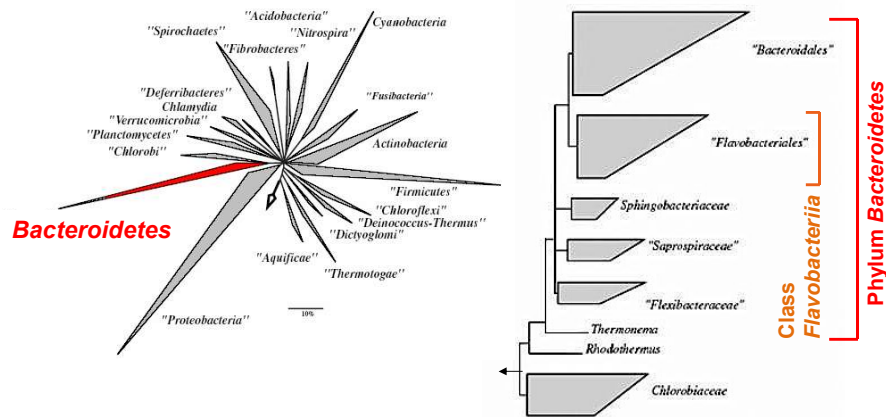
Aber jetzt zurück zu den Fröhjahrphytoplanktonblüten



... der Abbau der Algenbiomasse geht einher mit einer Vermehrung des Bakteriengruppe der *Bacteroidetes*

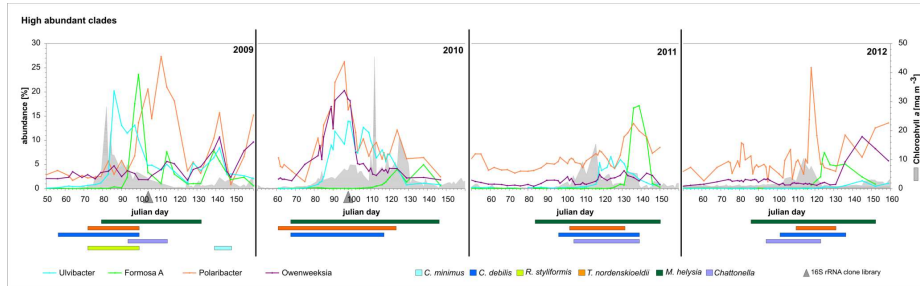


Bacteroidetes sind eine Entwicklungslinie der *Bacteria*, zu der die marinen *Flavobacteriia*, aber auch unsere Darmbakterien gehören



16S rRNA-based tree (Ludwig & Klenk, 2001)

Bestimmte *Bacteroidetes*-Gattungen treten regelmäßig während der Frühjahrsblüte auf



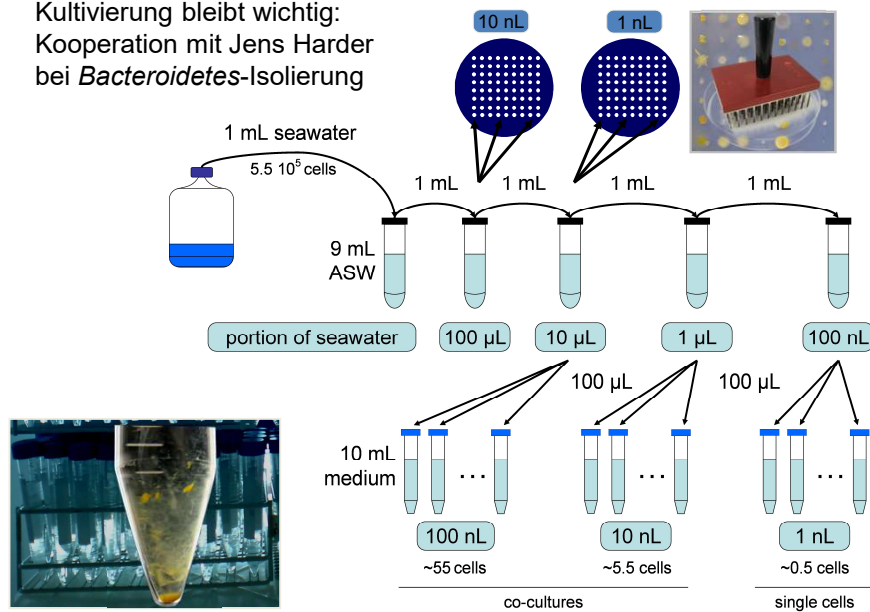
Bernhard Fuchs

Flow Cytometry Gruppe:

- Christin Bennke
- Anissa Grieb
- Greta Giljan
- Greta Reintjes
- Peter Rücknagel

Teeling, Fuchs *et al.* eLife 2016

Kultivierung bleibt wichtig: Kooperation mit Jens Harder bei *Bacteroidetes*-Isolierung



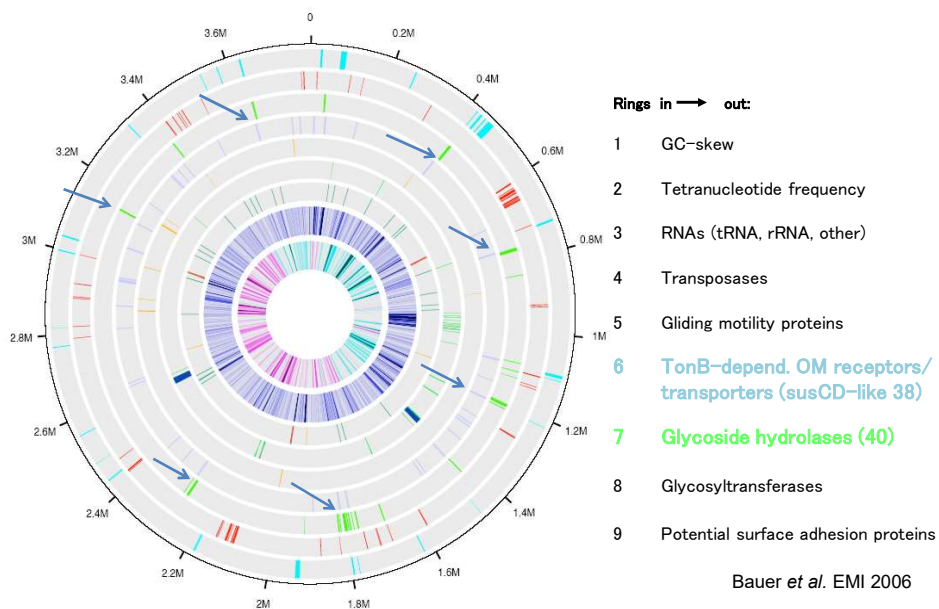
Hahnke & Harder SAM 2015; Hahnke *et al.* EMI 2014

Ein Vertreter der *Bacteroidetes*: *Gramella forsetii* KT0803



- Planktonisolat aus der südlichen Nordsee, Station KT vor Helgoland (Eilers et al. AEM 1999)
- Phylum *Bacteroidetes*, Klasse *Flavobacteriia*
- Das 3.8 Mbp Genome von KT0803 wurde 2006 publiziert (Bauer et al. Environ. Microbiol. 2006)
- Der Stamme wurde zu einem Labormodel für eine Polysaccharid-verwertendes Bakterium

Gramella forsetii: Genomannotation

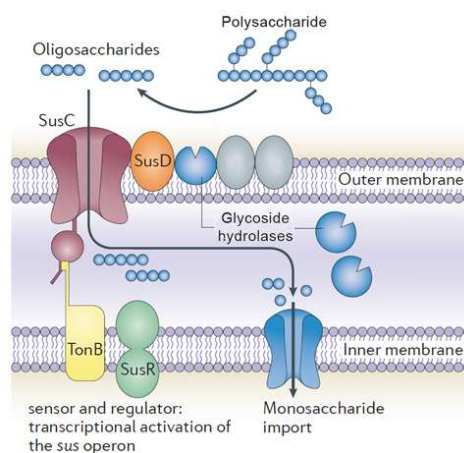
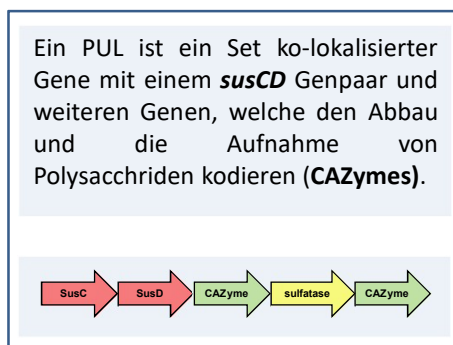


Genomanalyse von 53 Harder-Isolaten mariner *Flavobacteriia*

• Genomgröße:	2 - 6 Mbp	Schnitt	3.83 Mbp
• Zahl der rRNA Operone:	2 – 7		3.2
• Zahl der PULs:	0 – 30		7.4
• Zahl der CAZymes:	47 - 236		127
• # von Abbau-CAZymes:	15 – 155		55
• Zahl der Sulfatasen:	0 – 95		10
• Zahl der Peptidasen:	61 – 296		167
• Peptidase/CAZyme Ratio:	0.77 -2.72		1.77

Kappelmann et al. 2018

Polysaccharide Utalization Locus (PUL)



Modified from Koropatkin et al., 2012

Algen-Polysaccharide sind komplexe Zucker



- ~40 % (bis zu 70%) der Algentrockenmasse bestehen aus Polysacchariden, der Rest sind vor allem Proteine, Lipide und Nukleinsäuren
- Die Zuckerfraktion ist strukturell extrem vielfältig, ihre Zusammensetzung ist wenig verstanden und beides führt dazu, dass wir die Mineralisierung der Algenbiomasse zu Kohlendioxid im Meer nicht gut verstehen.



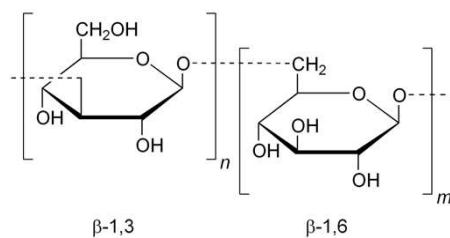
Speicherstoffe:

- α -Glucane wie Stärke
- β -Glucane (e.g. Laminarin in Diatomeen)

Strukturkomponenten und sekretierte Glycane:

- Mannane
- Alginate, Pektin, Chitin
- Transparente Exopolymere (TEP), z.B. Fucoidan

Laminarin

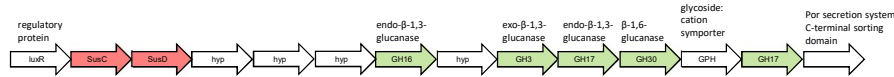


- Nur aus Glukose bestehendes Polysaccharid
- Besteht aus β -1,3 Glukosekette mit β -1,6 Glukose-Dekorierung
- Lösliches Polysaccharid, Polymer aus 20-25 Glukose-Einheiten
- Hauptspeicher-Polysaccharid vieler Mikroalgen einschließlich der Kieselalgen

PULs, die vermutlich Laminarin-Abbau kodieren

Laminarin

Polaribacter sp. Hel1_33_49/78/96



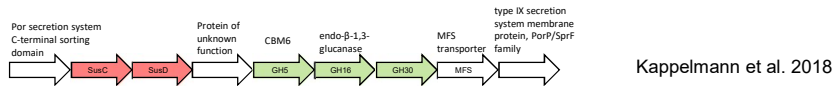
Gillisia sp. Hel1_29 & Hel1_33_143, *Gramella* sp. MAR_2010_147



Gramella sp. MAR_2010_102, *Gillisia* sp. Hel1_86

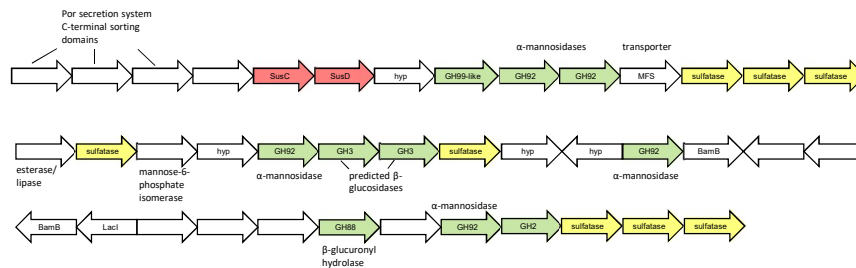


Polaribacter sp. Hel1_33_49/78/96, *Formosa* sp. Hel3_A1_48, *Flavobacteriaceae bacterium* sp. MAR_2010_10



Großes PUL, wohl für den Abbau sulfatierter α-Mannane

Polaribacter sp. Hel1_33_49/78/96



- *Polaribacter* sp. Hel1_33_49/78/96 erreicht in Frühjahralgenblüten regelmäßig hohe Dichten (>10%; mehrere 10e5 Zellen/ml)
- So sind 6.75% der Metagenom-Sequenzen am 23. April 2010 fast identisch zum *Polaribacter* sp. Hel1_33_49/78/96 Genom

Kappelmann et al. 2018

Funktionsvorhersagen mittels CAZymes und PULs



Hanno Teeling

Projektgruppe von Hanno Teeling

Thematik: Vergleichende (Meta-)Genomics und integrative funktionelle Analyse mariner polysaccharid-abbauender Bakterien mit Schwerpunkt auf den *Bacteroidetes*.



Lennart Kappelmann



Meghan Chafee

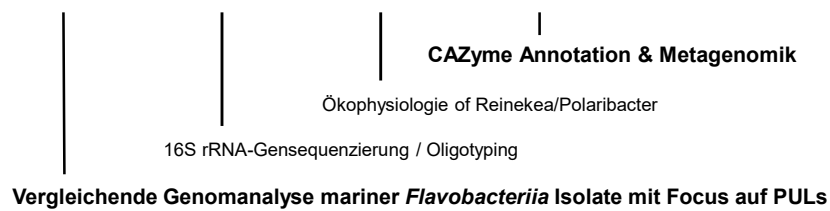


Burak Avci



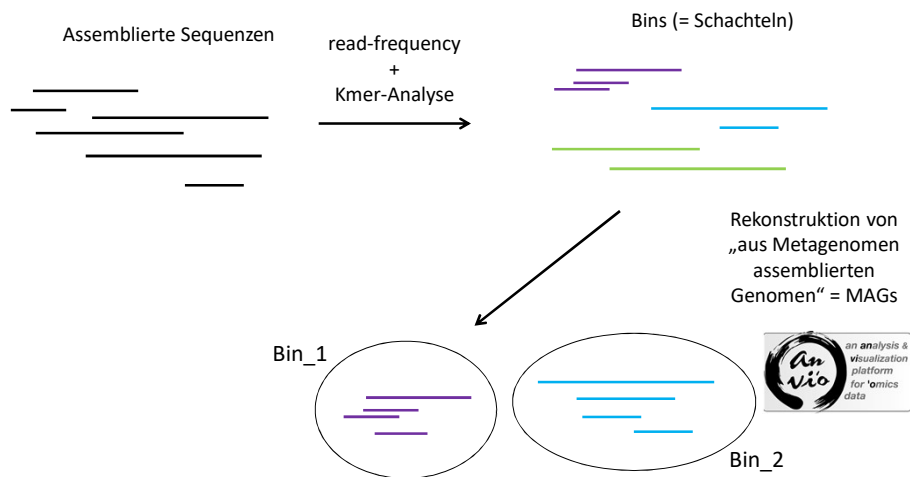
Karen Krüger

& Ben Francis

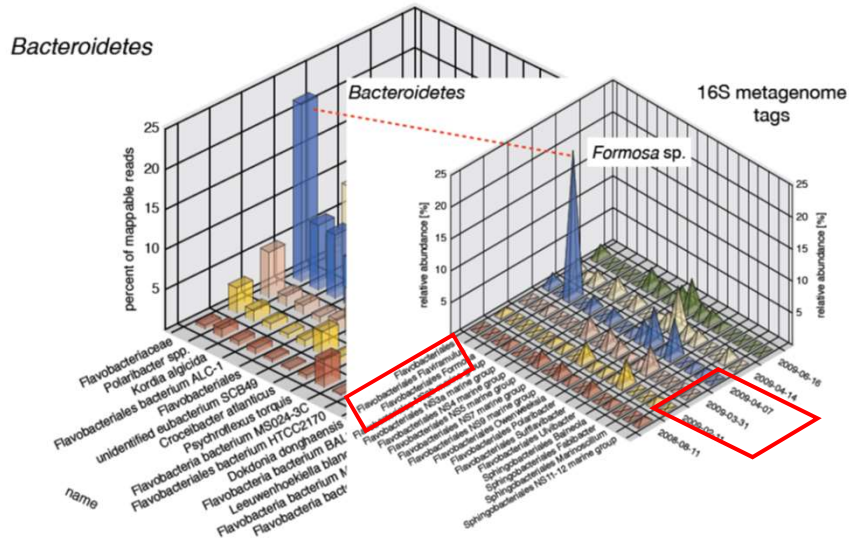


Metagenomik =

Gesamt-DNA isolieren, häckseln, zusammenbauen und sortieren

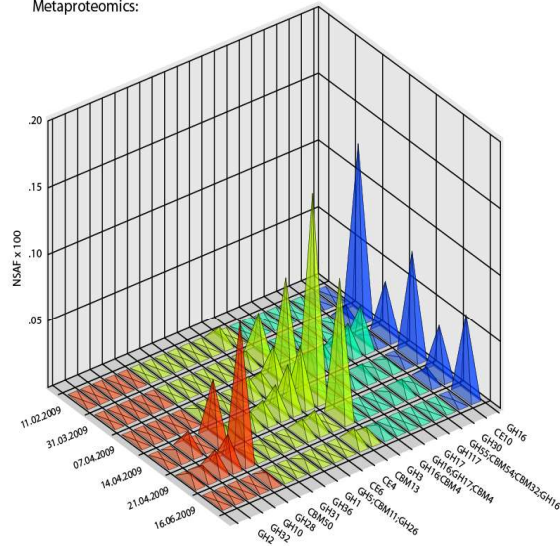


Metagenomik & taxonomisches Binning



Teeling, Fuchs *et al.* Science 2012

Metaproteomics:



CAZY nomenclature:

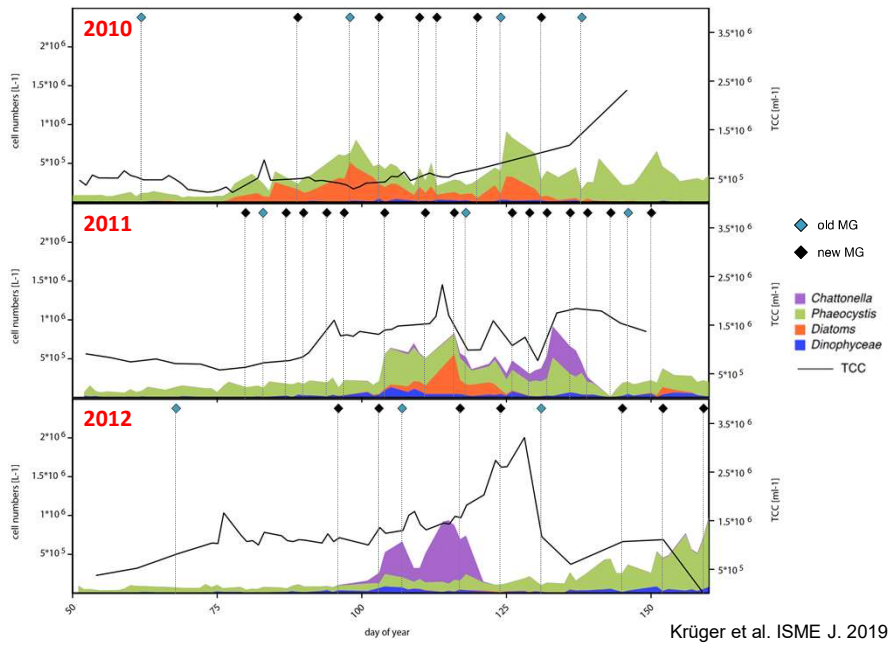
- CBM - Carbohydrate Binding Module
- CE - Carbohydrate Esterase
- GH - Glycoside Hydrolase
- GT - Glycosyl Transferase
- PL - Polysaccharide Lyase

- GH16 - div. functions, e.g. laminarinase
- CE10 - div. functions, e.g. choline & sterol esterases
- GH30 - div. functions, e.g. β -fucosidase
- GH55 - exo- β -1,3-glucanase, endo- β -1,3-glucanase
- CBM54 - binding to glucan, xylan, chitin
- CBM32 - binding to galactose, lactose, LacNac
- GH117 - algal neoagarose degradation
- GH17 - div. functions
- CBM4 - binding to xylan, various glucans, cellulose
- GH3 - div. functions
- CBM13 - binding to galactose, xylan, mannose, GalNac
- CE4 - e.g. chitin and peptidoglycan deacetylase
- CE6 - acetyl xylan esterase
- GH5 - div. functions
- CBM11 - binding to β -1,4-glucan, β -1,3-/1,4-glucans
- GH26 - β -mannanase, β -1,3-xylanase
- GH1 - div. functions
- GH36 - α -galactosidase
- GH31 - div. functions
- CBM50 - binding to chitin, peptidoglycan
- GH28 - polygalacturonases
- GH10 - endo-1,4- β -xylanase, endo-1,3- β -xylanase
- GH32 - div. functions, e.g. inulinase or levanase
- GH2 - div. functions

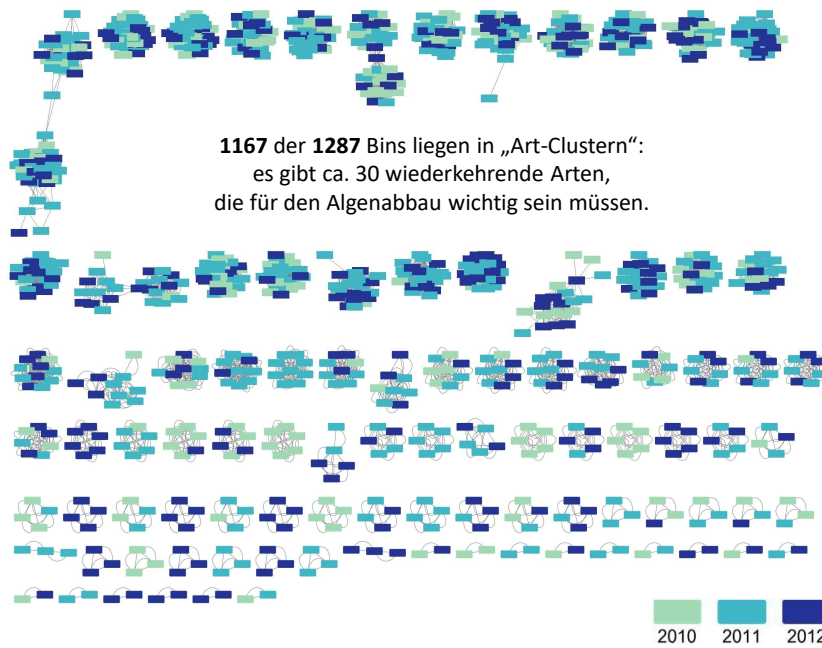
Metagenomik und -proteomik zeigen: Die Transporter und Enzyme der *Bacteroidetes* dominieren den Polysaccharid-Abbau während der Frühjahrsblüte in der Nordsee!

Teeling, Fuchs *et al.* Science 2012

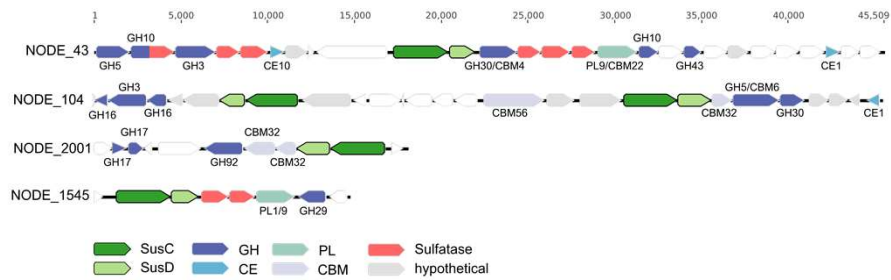
38 Metagenome aus Frühlingsblüten



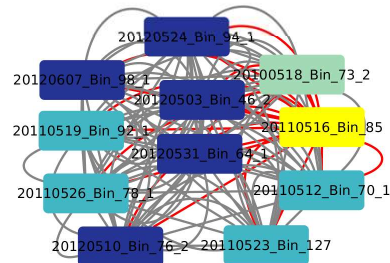
Vergleich der Metagenome zeigt *Bacteroidetes*-Schlüsselarten



PULs in Bin_85 vom 16. Mai 2011



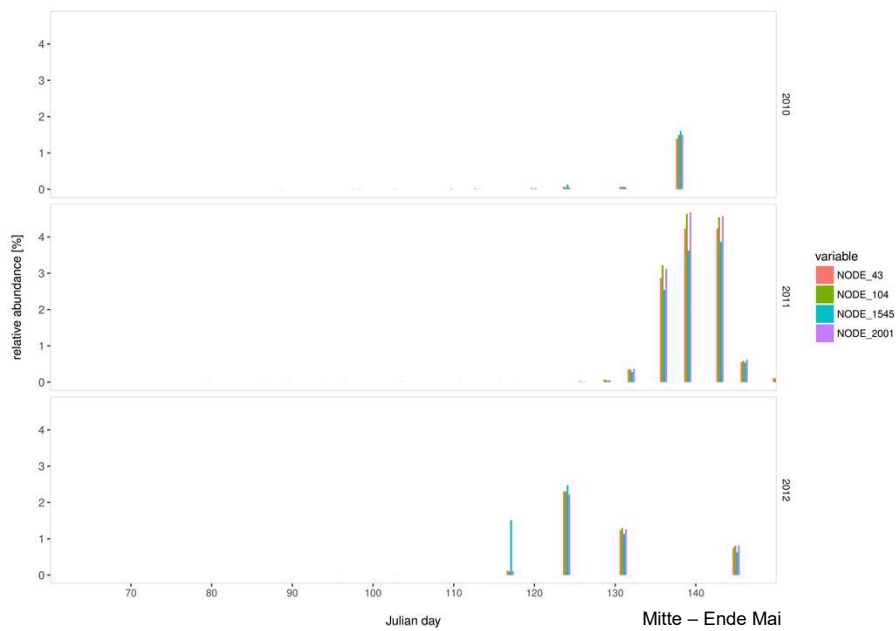
Vollständigkeit des Metagenom-assemblierten Genoms_B85: 96%



Nächster Verwandter: *Formosa_Hel3_A1_48* (ANI 70%)

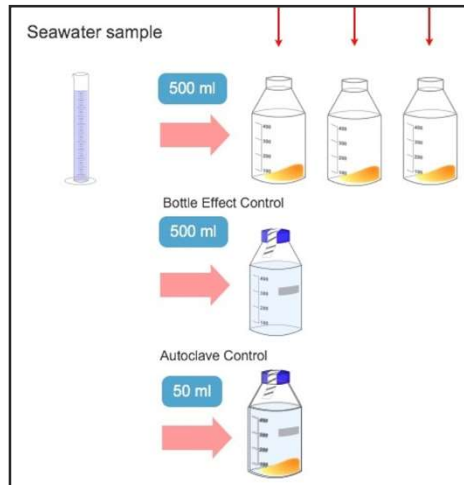
Krüger et al. ISME J. 2019

Die Bacteroidetes-Art "Bin_85" ist ein Spätblüher



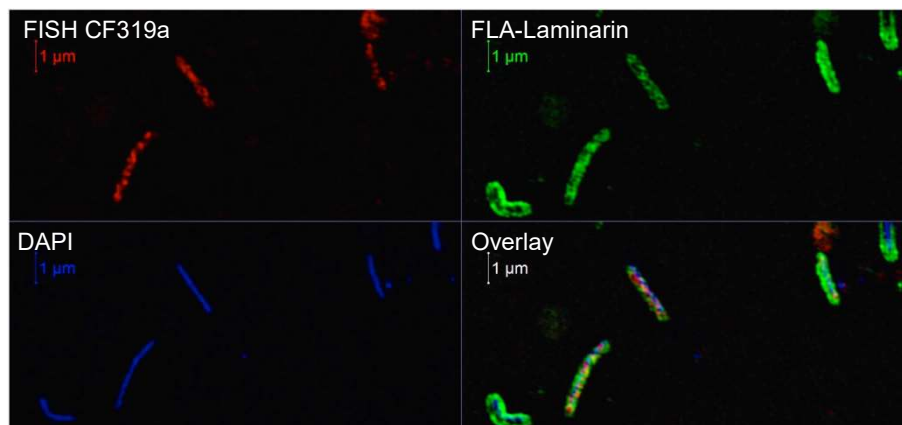
FLA-Laminarin

Kann man Bakterien beim Fressen zuschauen?
Ja, mit fluorescein-markierten Polysacchariden



Amosti, C. (2003) "Fluorescent derivatization of polysaccharides and carbohydrate-containing biopolymers for measurement of enzyme activities in complex media." *Journal of Chromatography B* 793(1): 181–191.

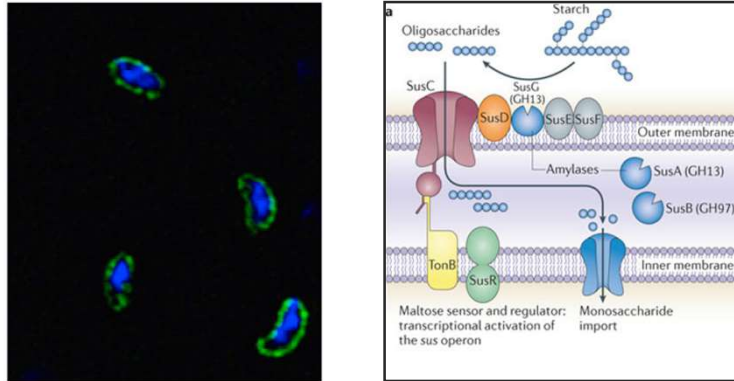
Visualisierung der Polysaccharid-Aufnahme und Einzelzellidentifizierung durch FISH



Doppelfärbung mit FISH und FLA-Laminarin beweist die Substrataufnahme durch marine *Flavobacteria* in das Periplasma.

Reintjes et al. 2017

Grüner Ring beweist Transport der Fluorescein-markierten Zucker ins Periplasma



Dieser Mechanismus der marinen *Flavobacteriia* ist homolog zu dem von Darmbakterien. Hier liegt der Schlüssel zum evolutionären Erfolg, da so der „Return of Investment“ optimiert wird.

Cuskin, F., et al. (2015). "Human gut Bacteroidetes can utilize yeast mannan through a selfish mechanism." *Nature* 517(7533): 165-169.

Schlussfolgerungen

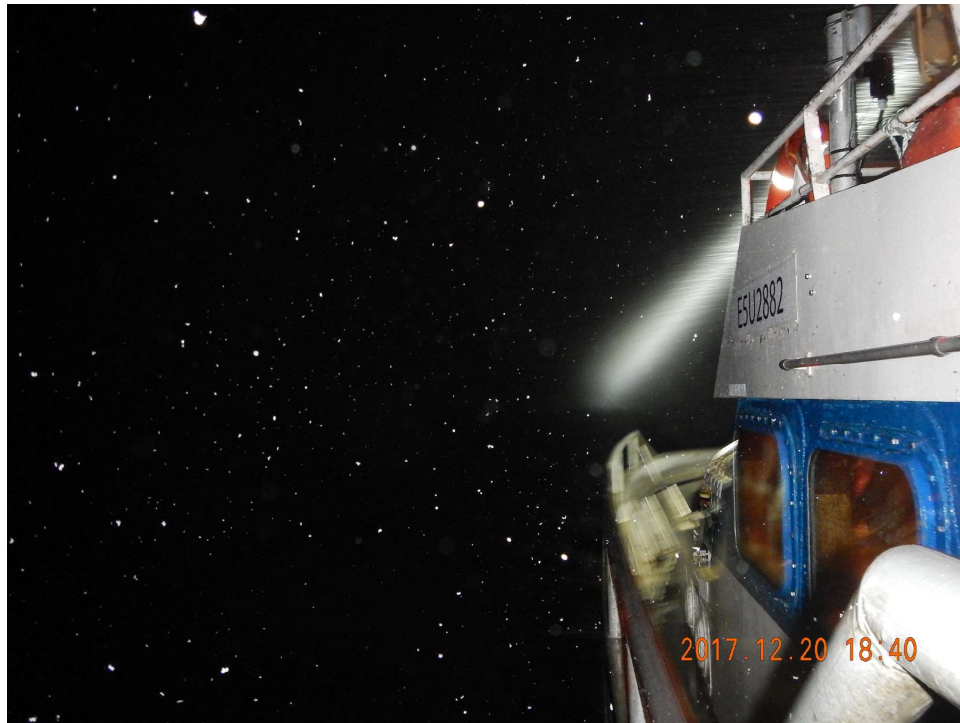
- Die komplexe Welt der heterotrophen Meeresbakterien lässt sich durch wiederholte saisonale Studien besser verstehen. Wir können nach einer guten Dekade an Forschung vorhersagen, welche Bakterien zu welcher Zeit in der südlichen Nordsee vorkommen und welche Funktion sie im Kohlenstoffkreislauf übernehmen.

Schlussfolgerungen

- Die komplexe Welt der heterotrophen Meeresbakterien lässt sich durch wiederholte saisonale Studien besser verstehen. Wir können nach einer guten Dekade an Forschung vorhersagen, welche Bakterien zu welcher Zeit in der südlichen Nordsee vorkommen und welche Funktion sie im Kohlenstoffkreislauf übernehmen.
- In der nächsten Dekade wollen wir testen, ob sich diese Erkenntnisse auf den offenen Ozean und dort vor allem auf die höheren Breitengrade übertragen lassen, wo der globale Beitrag der Bakterien zum Kohlendioxidgehalt der Atmosphäre größer ist.
- Neben den *Bacteroidetes* gibt es noch andere Bakteriengruppen, die wir beim bakteriellen Abbau der Algenbiomasse nicht vergessen dürfen, die *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Planctomycetales*...

Schlussfolgerungen

- Die komplexe Welt der heterotrophen Meeresbakterien lässt sich durch wiederholte saisonale Studien besser verstehen. Wir können nach einer guten Dekade an Forschung vorhersagen, welche Bakterien zu welcher Zeit in der südlichen Nordsee vorkommen und welche Funktion sie im Kohlenstoffkreislauf übernehmen.
 - In der nächsten Dekade wollen wir testen, ob sich diese Erkenntnisse auf den offenen Ozean und dort vor allem auf die höheren Breitengrade übertragen lassen, wo der globale Beitrag der Bakterien zum Kohlendioxidgehalt der Atmosphäre größer ist.
 - Neben den *Bacteroidetes* gibt es noch andere Bakteriengruppen, die wir beim bakteriellen Abbau der Algenbiomasse nicht vergessen dürfen, die *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Planctomycetales*...
- *Es gibt noch viel zu tun!*

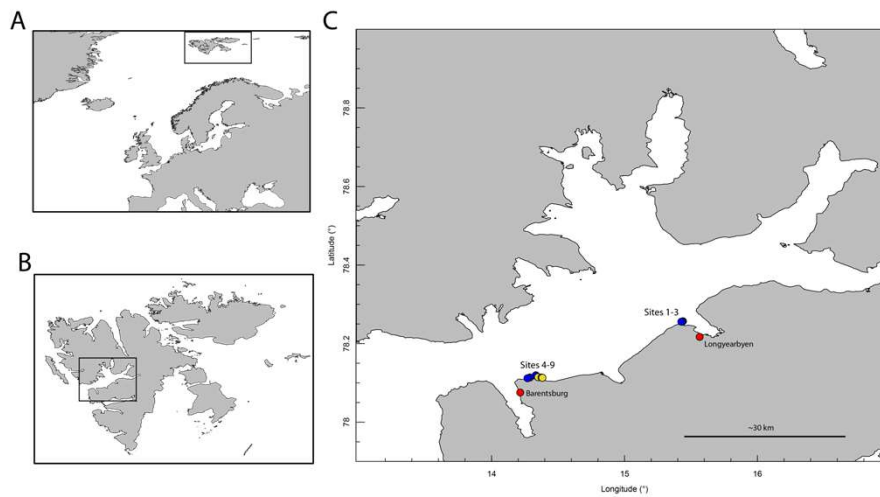


**MolEcol Svalbard Trips
Dezember 2017 & 2018**

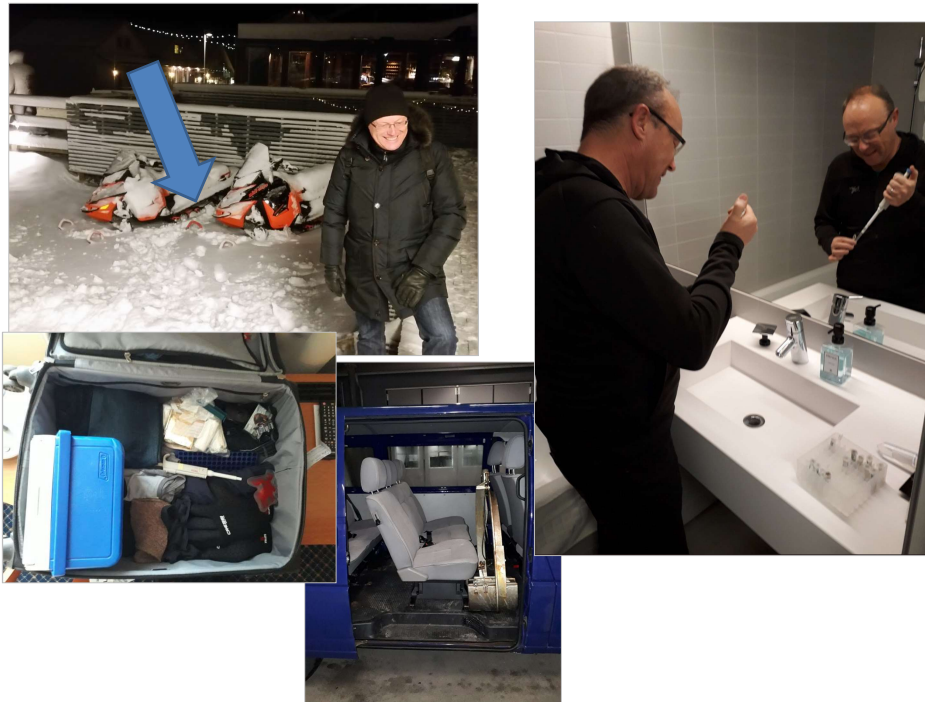
**“Bakterienjagd in der
Polarnacht“**



Sampling area







Danksagung

Den MitarbeiterInnen meiner Abteilung und dem ganzen Bremer MPI,
in Bezug auf diesen Vortrag geht mein besonderer Dank an:

Bernhard Fuchs
Ben Francis
Katrín Knittel
Karen Krüger
David Probandt
Greta Reintjes
Hanno Teeling

& den vielen Kollegen aus Helgoland, Greifswald, ...

Wer hat es bezahlt:

Max-Planck-Gesellschaft



DFG, BMBF
&
DOE-JGI

