

## 7 Erweiterte Zusammenfassung und Ausblick

Schwämme (Klasse Porifera) sind seit dem Präkambrium fossil belegt und gelten als die ältesten Metazoen. In der interzellulären Matrix zahlreicher Schwammspezies finden sich dichte Populationen teilweise sehr spezifischer Mikroorganismen. Da Schwamm-Mikroben-Assoziationen in vielen erdgeschichtlichen Phasen als Riffbildner auftraten (BRUNTON und DIXON, 1994; RIDING und ZHURAVLEV, 1995), ist die Charakterisierung der Quellorganismen und des diagenetischen Schicksals von molekularen Zellbestandteilen aus Poriferen ein interessanter Aspekt der Organischen Geochemie. Ferner zeigten die Forschungsergebnisse der letzten Jahre, dass Poriferen oder ihre Assoziaten zu den potentesten Produzenten pharmakologisch aktiver Verbindungen zählen (PAWLIK, 1993; HAYGOOD *et al.*, 1999).

Etwa 50 Spezies der Porifera-Klassen Hexactinellida und Demospongiae global verteilter Kalt- und Tiefwasserlokationen wurden auf ihren Bestand an mikrobiellen Lipidbiomarkern untersucht. Ein großer Vorteil des Probenmaterials gegenüber dem aus Flachwassergebieten ist ein geminderter Eintrag durch phototrophe Organismen. Die Ergebnisse der im Beprobungsgebiet begleitend durchgeführten hydrochemischen Analysen weisen ebenfalls auf ganzjährig stabile Milieubedingungen auf dem Teil des mittelnorwegischen Schelfs hin, aus dem die überwiegende Anzahl der Poriferen stammt.

Zur Differenzierung estergebundener Komponenten bakterieller und eukaryotischer Lipide im Schwammextrakt wurden weiterhin etwa 50 Kultivate schwammassoziierter Bakterien der Proteobacteria- und Firmicutes-Gruppe auf ihr Fettsäure(FA)-Inventar überprüft. Es wurde beobachtet, dass Isolate der  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Proteobakterien unter den gewählten Kulturbedingungen vornehmlich gesättigte und einfach ungesättigte lineare C<sub>12</sub>- bis C<sub>19</sub>-FA in für ihre Gattung typischen Verteilungsmustern synthetisieren. Wie auch in einer Reihe früherer Studien an Bakterienisolaten, wurden zahlreiche individuelle FA wie z.B. Hexadecen- und Octadecensäuren in vielen Bakterientaxa vorgefunden. Die vorliegende Arbeit konnte zeigen, dass das Verhältnis dieser Komponenten die taxonomischen Differenzierung von  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Proteobakterien erlaubt.

Anhand des Inventars an Bakterienmembranfettsäuren wurde für die untersuchten Schwämme festgestellt, dass die traditionelle Einteilung der Poriferen in bakterienarm oder -reich (*sensu strictu*, Reiswig) mit Hilfe der Biomarkeranalyse semiquantitativ erfasst und differenziert werden kann (REISWIG, 1981). Wenngleich die Klasse der Hexactinellida im Vergleich mit den Demospongiae als eher bakterienarm anzusehen ist, wurden in beiden Klassen Spezies mit geringen bzw. dichten Bakterienpopulationen beobachtet. Insbesondere für die Angehörigen der Demospongiae wurde dokumentiert, dass weniger ihre phylogenetische Stellung als vielmehr ihr Habitus im Zusammenhang mit der Bakteriendichte steht. Mit wenigen Ausnahmen wurden relativ hohe Gehalte komplexer Gemische bakteriogener FA in kompakt gebauten Schwämmen großer Biomasse bzw. hohen Mesohylanteils beobachtet. Während sich die Profile von Bakterien-FA in diesen Schwämmen ähneln, unterscheiden sie sich generell von denen, die in früheren Studien von anderen Exemplaren berichtet wurden. Taxonomisch den bearbeiteten Individuen mit hohem Bakteriengehalt nahe stehende Spezies einfacherer Struktur, wie sie beispielsweise inkrustierende Schwämme besitzen, sind in vielen Fällen mit Bakteriengemeinschaften signifikant geringerer Dichte vergesellschaftet. Es konnte gezeigt werden, dass sich das Verhältnis  $n\text{-C}_{16:0}/n\text{-C}_{18:0}$  zur vorläufigen Beschreibung der Bakteriendichte in den untersuchten Kaltwasserschwämmen eignet.

In allen bakterienreichen Poriferen sind in Gram-negativen und -positiven Bakterien weit verbreitete Lipide wie divers strukturierte FA und verschiedene Hopanoide vorhanden. Die Lipidprofile kennzeichnen in diesen Schwämmen divers strukturierte Bakteriengemeinschaften. Weiterhin wurden in solchen Exemplaren mehrere Lipidklassen, die bis jetzt (I) keinem Produzenten zugeordnet werden konnten oder (II) lediglich in Bakterien anderer Biotope beobachtet wurden, in teilweise hohen Konzentrationen gefunden. Neben den Struktureigenschaften weist die Verteilung solcher Lipidbestandteile in den Demospongien darauf hin, dass sie bakteriogenen Ursprungs sind. Komplexe Isomergemische mittkettig methylverzweigter FA, die mit dieser Komposition von keinem isolierten Bakterienstamm beschrieben wurden, sind mit bis über 50 % die dominante Substanzklasse kurzkettiger FA in allen *Bakterienschwämmen*. Für den astrophoriden Schwamm *Geodia macandrewii* wurde gezeigt, dass ein Großteil (67 Gew.-%) der mcb-C<sub>18:0</sub> in einer separaten Phospholipidfraktion estergebunden vorliegt. Basierend auf ihren strukturellen Eigenschaften werden Sulfat reduzierende  $\delta$ -Proteobakterien,  $\beta$ - oder  $\gamma$ -Proteobakterien oder Actinomycetales als Quellorganismen angenommen. Die Resultate der Analyse stabiler C-Isotope bewiesen für *Geodia barretti*, dass mittkettig methylverzweigte FA von Schwammzellen aufgenommen und verlängert werden.

Detaillierte Analysen zur Verteilung der Strukturen im Gewebe von *Geodia barretti* legten zusammen mit den Befunden simultan angesetzter histotechnologischer Verfahren anderer Bearbeiter die Vermutung nahe, dass die Produzenten einen (fakultativ) anaeroben Metabolismus betreiben. Diese Beobachtungen stehen im Einklang mit der anhand früherer Untersuchungen anderer Forschergruppe aufgestellten Hypothese, dass methylverzweigte FA charakteristische Strukturen evolutionär primitiver Bakterien sind. Es ist aus diesem Grund zu vermuten, dass mcb-FA die Koevolution von Poriferen und assoziierten Bakterien widerspiegeln.

Monoalkylglyceroletherlipide, deren Alkyleinheiten 14 bis 19 C-Atome umfassen, deuten die Präsenz von Sulfat reduzierenden  $\delta$ -Proteobacteria oder Clostridia (Phylum Firmicutes) in bakterienreichen Schwämmen an. Ferner treten in diesen Exemplaren C<sub>29</sub>- bis C<sub>31</sub>-Dicarbonsäuren, die ebenfalls Signaturlipide anaerober Clostridia sind, in deutlichen Konzentrationen (bis 2 % der FAME-Fraktion) auf. Anhand der Biomarkeranalyse wurden somit mehrfach Hinweise auf O<sub>2</sub>-abgereicherte Kompartimente im Gewebe bakterienreicher Schwämme gewonnen.

In dieser Arbeit gelang erstmals der lipidchemische Nachweis von Archaeen als schwammassoziierte Mikroorganismen in zahlreichen Hexactinellida und mehreren Demospongiae. Die Verteilungsmuster ethergebundener, linearer C<sub>40</sub>-Isoprenoide (Biphytane) und Homologe mit einem bis drei Alkylingen deuten an, dass schwammassoziierte Archaeen vom Phylum der Crenarchaeota dominiert werden, und ein zusätzlicher Beitrag von Euryarchaeota entstammt. Wie das Vorkommen ungebundener Isoprenoid-KW in den Schwämmen zeigt, treten Archaeen bevorzugt in Schwämmen mit geringer Bakteriendichte wie in den meisten Hexactinellida und axinelliden Demospongien auf.

Die erzielten Resultate dienen als Grundlage einer gezielten mikrobiologischen Bearbeitung von Schwämmen im Hinblick auf biotechnologische Fragestellungen. Wie sich gezeigt hat, erfordert eine vollständige Charakterisierung des Mikroorganismeninventars die Kombination mehrerer konventioneller mikrobiologischer Methoden. Die zielorientierte Analyse der Lipide von Bakterien und Archaeen hat sich dagegen als wenig aufwändiges Verfahren erwiesen, das neben den rein qualitativen Befunden insbesondere quantitative Aussagen zu der Struktur der Bakterienpopulation

erlaubt. In dieser Arbeit wurden für viele Schwammexemplare deutliche Hinweise auf individuelle Taxa schwammassoziiertter Mikroorganismen gewonnen, die, wie Clostridia, Sulfat reduzierende Proteobacteria oder Archaea, bis jetzt nur sehr selten in mikrobiologischen Studien für andere Poriferen dokumentiert sind. Die Beobachtung, dass sich Angehörige der Clostridia und der Actinomycetales bislang als bedeutende Lieferanten hoch aktiver Sekundärmetaboliten herausgestellt haben, unterstreicht somit die Relevanz der Biomarkeranalyse in Schwämmen.