

BMBF-Verbundprojekt

“Biologisch aktive Naturstoffe aus marinen Invertebraten der Tiefsee und ihren symbiontischen Bakterien”

Förderkennzeichen: 03FO236

mit Teilprojekten am Institut für Meereskunde Kiel, am GEOMAR Forschungszentrum Kiel und an der Universität Göttingen

Abschlussbericht

Leitung der Teilprojekte

Prof. Dr. Johannes F. Imhoff
Institut für Meereskunde an der Universität Kiel
Abt. Marine Mikrobiologie
Düsternbrooker Weg 20
D-24105 Kiel

Prof. Dr. Erwin Suess und Dr. P. Linke
GEOMAR Forschungszentrum
Abteilung Umweltgeologie
Wischhofstr. 1-3
D-24148 Kiel

Prof. Dr. Axel Zeeck
Institut für organische Chemie
Georg-August-Universität Göttingen
Tammannstr. 2
D-37077 Göttingen

Kiel, Juni 2001

Zusammenfassung des Verbundprojektes

Im Rahmen dieses Projektes wurde an zahlreichen Forschungsfahrten zu hydrothermalen Quellen und Cold Seeps teilgenommen. An allen Cold Seeps wurden ausgedehnte, auf Chemoautotrophie beruhende Gemeinschaften entdeckt, von denen aber nicht in allen Fällen symbiotische Lebensgemeinschaften geborgen werden konnten. Besonders in der Cascadia Subduktionszone konnten größere Mengen an Organismen gesammelt werden. An allen untersuchten Cold Seeps dominieren Bivalvia mit chemoautotrophen Symbionten die Lebensgemeinschaften. Für die genetischen Untersuchungen der endosymbiontischen Bakterien wurden mehrere Vertreter aus den Familien der Vesicomidae und Solemyidae herangezogen.

Die für die Tiefseefauna von Cold Seeps charakteristischen Bivalvia der Gattungen *Calyptogena* (Vesicomidae) sowie *Acharax* (Solemyidae) bildeten die Grundlage sowohl für die Isolierung von Naturstoffen als auch für die taxonomische Untersuchung der symbiotischen Lebensgemeinschaften. Die Zusammensetzung der Faunengemeinschaften und die Wechselwirkung zwischen dominanten Organismen und der Porenwasserchemie wurde in der Cascadia Subduktionszone und im Okhotskischen Meer intensiv untersucht und belegen eine klare Differenzierung des Vorkommens von *Calyptogena* und *Acharax* in Abhängigkeit vom Sulfidgradienten. Darüberhinaus wurden Bivalvia der Gattung *Bathymodiolus* (Mytilidae) sowie Individuen der Tiefseeschnecke *Ifremeria* sp. eines „hot vent“ Standortes bearbeitet. Für die Symbionten aus *Acharax* und *Conchocele* wurden phylogenetische Entwicklungslinien aufgezeigt, die deutlich getrennt sind von anderen Symbionten.

Mit den verwendeten Extraktionsmethoden für die tierischen Gewebe wurden die Proben in wenigen Schritten in drei Lösungsmittelextrakte aufgeteilt. Es ergab sich ein unpolarer Dichlormethanextrakt, ein polarer Methanolextrakt und ein mittelpolarer Acetonextrakt, wobei der Methanolextrakt keine auf den ersten Blick relevanten Metabolite enthielt. Aus der Dünnschichtchromatographie der Lösungsmittelextrakte ergaben sich deutliche Hinweise auf ein breites Metabolitenspektrum. Es konnten jedoch nur die Primärmetabolite Thymidin und Cholesterin identifiziert werden. Eine Isolierung und Charakterisierung einzelner Naturstoffe war aufgrund der geringen Substanzmengen nicht möglich gewesen. Die Frage, ob sich unter der großen Zahl analytisch sichtbarer Metabolite auch artspezifische, biologisch aktive Sekundärstoffe befinden, läßt sich daher nicht beantworten.

Ziele des Verbundprojektes

Innerhalb des Verbundprojektes wurden biologisch aktive Naturstoffe aus Symbiosen zwischen Invertebraten und Bakterien von hydrothermalen Quellen und Cold Seeps untersucht. Um eine möglichst große Vielfalt derartiger Lebensgemeinschaften zu analysieren, sollten Organismen in verschiedenen Regionen der Tiefsee sowie verschiedene Arten innerhalb einer Region gesammelt werden. Um Unterschiede und Gemeinsamkeiten zu schon bekannten chemoautotrophen Gemeinschaften weltweit aufzuspüren, sollten Wirtstiere und Symbionten genetisch charakterisiert werden. Die Kombination der genetischen Untersuchungen der symbiontischen Bakterien und der Wirtstiere sollten Fragen zur Ko-Evolution und Spezialisierung der Symbiosen beantworten. Neben den regionalen Unterschieden wurden auch innerhalb eines Gebietes verschiedene Gemeinschaften beobachtet. Die geochemische Charakterisierung der Habitate der einzelnen Arten sollte helfen, die Kontrollmechanismen für die beobachteten kleinräumigen Zonierungen zu identifizieren. Die genetische Analyse der Symbionten sollte deren phylogenetische Einordnung ermöglichen und die Verwandtschaft sowie Artenvielfalt an Symbionten der untersuchten Symbiosen aufzeigen. Die chemische Strukturanalyse von Extrakten aus Symbionten-haltigen Geweben sollte wichtige Metabolite identifizieren und aufgrund von Strukturinformationen und Wirkungstests erlauben, deren biologisches Wirkungspotential abzuschätzen.

BMBF-Verbundprojekt
**“Biologisch aktive Naturstoffe aus marinen Invertebraten der Tiefsee und
ihren symbiontischen Bakterien”**

Förderkennzeichen: 03FO236C7

Abschlussbericht

Teilprojekt: **Mikrobiologie von Tiefseesymbiosen**
Förderkennzeichen: 03F0236A/1

Projektleiter: **Prof. Dr. Johannes F. Imhoff**

I. Zielsetzung

Innerhalb des Verbundprojektes wurden biologisch aktive Naturstoffe aus Symbiosen zwischen Invertebraten und Bakterien von hydrothermalen Quellen und Cold Seeps untersucht. Um eine möglichst große Vielfalt derartiger Lebensgemeinschaften zu analysieren, sollten Organismen in verschiedenen Regionen der Tiefsee sowie verschiedene Arten innerhalb einer Region gesammelt werden. Um Unterschiede und Gemeinsamkeiten zu schon bekannten chemoautotrophen Gemeinschaften weltweit aufzuspüren, sollten Wirtstiere und Symbionten genetisch charakterisiert werden. Die Kombination der genetischen Untersuchungen der symbiontischen Bakterien und der Wirtstiere sollten Fragen zur Ko-Evolution und Spezialisierung der Symbiosen beantworten. Neben den regionalen Unterschieden wurden auch innerhalb eines Gebietes verschiedene Gemeinschaften beobachtet. Die geochemische Charakterisierung der Habitate der einzelnen Arten sollte helfen, die Kontrollmechanismen für die beobachteten kleinräumigen Zonierungen zu identifizieren. Die genetische Analyse der Symbionten sollte deren phylogenetische Einordnung ermöglichen und die Verwandtschaft sowie Artenvielfalt an Symbionten der untersuchten Symbiosen aufzeigen. Die chemische Strukturanalyse von Extrakten aus Symbionten-haltigen Geweben sollte wichtige Metabolite identifizieren und aufgrund von Strukturinformationen und Wirkungstests erlauben, deren biologisches Wirkungspotential abzuschätzen.

Document Control Sheet

1. ISBN or ISSN in progress	2. Type of Report Final report
3a. Report Title Biological active natural products from deep sea invertebrates and their symbiotic bacteria	
3b. Title of Publication	
4a. Author(s) of the Report (Family Name, First Name(s)) Imhoff, Johannes F.	5. End of Project 31.12.2000
4b. Author(s) of the Publication (Family Name, First Name(s))	6. Publication Date in progress
8. Performing Organization(s) (Name, Address) Institut für Meereskunde an der Universität Kiel FB 3: Mikrobielle Ökologie Düsternbrooker Weg 20 24105 Kiel	7. Form of Publication scientific journal
13. Sponsoring Agency (Name, Address) Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie (BMBF) 53170 Bonn	9. Originator's Report No. /.
	10. Reference No. O3F0236A/1
	11a. No. of Pages Report
	11b. No. of Pages Publication
	12. No. of References
	14. No. of Tables
	15. No. of Figures
16. Supplementary Notes. ./.	
17. Presented at (Title, Place, Date) ./.	
Aim of the present project was the isolation and characterisation of symbiotic bacteria from marine invertebrates of cold seeps and hot vents as well as the investigation of the ability of these symbioses to produce interesting new natural products. During several research cruises with RV SONNE and from several ocean regions different clam species were collected and conserved for further studies on board. Gill tissue was separated and freeze dried for the project partner in Göttingen (Prof. Zeeck), who did extraction and chemical analyses. Sequences of 16S rDNA of the symbionts were obtained and used to delineate the phylogenetic position of these bacteria within the tree of the Gammaproteobacteria.	
20. Publisher in progress	
21. Price ./.	

--	--

II. Ergebnisse

Bergung von Untersuchungsmaterial auf Forschungsfahrten.

Zu Projektbeginn des Projektes mußte auf Material zurückgegriffen werden, das auf früheren Forschungsfahrten gesammelt wurde. So hatten Untersuchungen von Hydrothermalquellen im Fiji-Becken des westlichen Pazifik (SO 134) zur Bergung von 8 Individuen der Tiefseemuschel *Bathymodiolus* sp., sowie von 10 Individuen einer Tiefseeschnecke (*Ifremeria* sp.) geführt. Die Beprobung von Cold Seeps des Makran-Gebietes im nördlichen Arabischen Meer (SO 130) lieferte Einzelexemplare von *Acharax* sp. und *Calyptogena* sp., deren Kiemengewebe präpariert wurde. Erstes im Rahmen dieses Projektes geborgenes Material von Tiefseesymbiosen wurde aus dem Nordostpazifik vor Washington und Alaska (SO 109, 110-1a/b, 110-2) erhalten und beinhaltete vor allem größere Mengen der für Cold Seeps charakteristischen Gattungen *Calyptogena* und *Acharax*. Weitere Forschungsfahrten und erhaltenes Probenmaterial sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Aufarbeitung von Zellmaterial für chemische Analysen.

Zellmaterial von Bivalvia der Gattungen *Bathymodiolus*, *Solemya*, *Acharax* und *Calyptogena* sowie von Tiefseeschnecken der Gattung *Ifremeria* wurde für chemische Untersuchungen aufgearbeitet. Die bearbeiteten Tiergruppen waren in ihren Körpergrößen deutlich unterschieden, aber auch innerhalb der Gattungen zeigten sich bei *Solemya* sp. und *Calyptogena* sp. unterschiedliche Schalenlängen.

Da für den Nachweis von Naturstoffen die Konzentration in den Extrakten ausschlaggebend ist, orientierte sich die Aufarbeitung daran, ausreichend Symbionten- und Weichkörpergewebe verfügbar zu machen. In der Regel wurden die Tiere aus der Schale oder dem Gehäuse herausgelöst, das Symbionten-haltige Gewebe wurde vom übrigen Weichkörpergewebe getrennt und separat gefriergetrocknet. War diese Trennung der Gewebe nicht möglich wurden Kiemen und Weichkörper vereint lyophilisiert. Um mögliche artspezifische bzw. individuen-spezifische Unterschiede zu berücksichtigen, wurden die Gewebe einzelner größerer Tieren getrennt gefriergetrocknet, lediglich bei kleineren Tieren wurden entsprechende Gewebe mehrerer Individuen gleicher Größe gepoolt. Es zeigte sich, daß bei kleineren Tieren die Gewebe nach dem Auftauen in einem schlechteren Zustand waren als die größerer Individuen. Die Tiere wurden bei -80°C tiefgefroren gelagert und unmittelbar nach dem Auftauen unter aseptischen Bedingungen präpariert. Die präparierten

Gewebe wurden für mindestens 12 Stunden bei -80°C tiefgefroren und dann unter einem Trocknungsdruck von 0,1 mbar bis zur Gewichtskonstanz gefrieretrocknet.

Untersuchungen zur Phylogenie der Symbionten

Identifizierung und phylogenetische Einordnung der symbiontischen Bakterien erfolgte mittels Sequenzierung ihrer 16S-rRNA Sequenzen. Da erste Versuche zur DNA-Isolierung aus homogenisiertem Kiemengewebe keine amplifizierbaren DNA-Präparationen erbrachten, wurde dazu übergegangen, die Symbionten zuvor durch differentielle Zentrifugation anzureichern. Die anschließende DNA-Extraktion wurde nach Standardverfahren durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß nur DNA-Extraktionen mit Symbiontengeweben, die nach der Probennahme an Bord präpariert, aliquotiert und tiefgefroren worden waren, zu hochmolekularen DNA-Präparationen führten.

Erfolgreiche PCR-Amplifikationen von 16S rDNA der Symbionten, durchgeführt mit universellen eubakteriellen Primern, wurden von Vertretern der Gattungen *Acharax* und *Calyptogena* aus verschiedenen Meeresgebieten erhalten. Die Amplifikate wurden unter Verwendung hierfür geeigneter Primer, über denaturierende Gradienten-Gelelektrophorese (DGGE) gereinigt und analysiert. Das mittels DGGE erhaltene Bandenmuster sollte neben den erwarteten thioautotrophen- auch mögliche methanotrophe Symbionten im Kiemengewebe nachweisen. Der Nachweis methanotropher Symbionten gelang jedoch nicht.

Ein Vergleich der erhaltenen 16S-rDNA-Sequenzen mit Datenbanksequenzen erlaubt die Identifizierung deutlich getrennter Entwicklungslinien von Symbionten verschiedener Wirtstiergruppen. Basierend auf den gewonnenen Sequenzdaten wurde ein spezifischer Primer für den Symbionten der *Calyptogena* sp. von Makran synthetisiert und ein 850 bp Sequenzabschnitt seiner 16S rDNA amplifiziert und sequenziert. Ein phylogenetischer Vergleich gruppiert diese Symbiontensequenz innerhalb der Symbionten der Gattungen *Calyptogena* und *Vesicomya* mit dem Symbionten von *Calyptogena pacifica* als nächstem Verwandten. Die erhaltene Sequenz zeigt 99,2% Identität zur 16S rRNA des Kiemensymbionten von *Calyptogena pacifica*.

III. Publikationen

Über die Ergebnisse wurde auf Workshops zur marinen Naturstoffforschung berichtet. Sie werden derzeit zur Publikation vorbereitet.

IV. Erfolgskontrollbericht

Das vorgeschlagene Verbundprojekt sollte einen Beitrag zum Förderprogramm des BMBF zur „Marinen Naturstoffforschung“ liefern, indem es in enger Kooperation von Umweltgeologen, Mikrobiologen und Naturstoffchemikern das Potential von Symbiosen an „hot vent“ und „cold seep“ Standorten zur Produktion biotechnologisch interessanter Naturstoffe erfaßt. In einer interdisziplinären Forschungskoooperation wurden symbiotische Lebensgemeinschaften von Invertebraten und Bakterien untersucht. Im Rahmen dieses Teilprojektes wurden die Symbiosen und die phylogenetische Stellung der Symbionten aus geographisch unterschiedlichen Regionen analysiert. Die Isolierung symbiotischer Schwefelbakterien gelang nicht. Es konnten verschiedene Entwicklungslinien symbiotischer Schwefelbakterien ihren Wirtstieren zugeordnet werden.

Der Finanzierungs- und Zeitplan wurde eingehalten.

Patente wurden nicht angemeldet.

Tabelle 1. Forschungsfahrten

vor PAKISTAN	Cold seeps	SONNE 130	April./Mai 1998	MAKRAN II	<i>Calyptogena pacifica</i>
BANDA BOGEN OCHOTZK. MEER	Cold seeps Cold seeps	SONNE 139 AKAD. LEVRENTYEV MARSH. GELOVANY	Jan./Feb. 1999 August/Sept. 1999 Sept. 2000	GINCO III KOMEX KOMEX	<i>Acharax</i> sp. <i>Conchocele disjuncta</i>
vor ALASKA	Cold seeps	SONNE 97 SONNE 110-1b, 110-2	Sept. 1994 Juli/August 1996	KODIAK-VENT SORO	<i>Calyptogena phaseoliformis</i> <i>Acharax</i> sp.
vor OREGON	Cold seeps	SONNE 109, 110-1a SONNE 143 SONNE 148	Mai/Juli 1996 Juni/August 1999 Sommer 2000	HYDROTRACE TECFLUX I TECFLUX II	<i>Calyptogena kilmeri</i> <i>Calyptogena pacifica</i> <i>Acharax</i> sp.
vor COSTA RICA	Cold seeps	SONNE 144	Oktober/Nov. 1999	PAGANINI	keine Beprobung
NORD-FIJI BECKEN	Hot vents	SONNE 134	Aug./Sept. 1998	HYFIFLUX II	<i>Bathymodiolus</i> sp. <i>Ifremeria</i> sp.
BRANSFIELD STR.	Hot vents	NB PALMER 99-04 SONNE 155	März/Mai 1999 März 2001	HYDROARC HYDROARC	keine Ventfauna

BMBF-Verbundprojekt
**“Biologisch aktive Naturstoffe aus marinen Invertebraten der Tiefsee und
ihren symbiontischen Bakterien”**

Abschlussbericht

Teilprojekt: **Verbreitungsmuster, geochemische und biologische Charakterisierung der
der Hydrothermal- und Cold-Seep Gemeinschaften**

Förderkennzeichen: 03F0236B

Projektleiter: **Prof. Dr. E. Suess, Dr. P. Linke**

I. Zielsetzung

Ziel des Teilprojektes war es, die Verbreitungsmuster von chemoautotrophen Gemeinschaften zu erfassen, die zugrunde liegenden kontrollierenden Faktoren zu bestimmen und Organismen für die phylogenetischen und biochemischen Untersuchungen an den Endosymbionten zu sammeln. Auf zahlreichen Ausfahrten wurden zu diesem Zwecke Proben gesammelt und analysiert.

II. Ergebnisse

In jedem der untersuchten Gebiete wurden chemoautotrophe Organismen beobachtet und zum Teil intensiv beprobt. Diese Proben wurden den beteiligten Arbeitsgruppen von Herrn Prof. Imhoff und Herrn Prof. Zeeck zur weiteren Bearbeitung zur Verfügung gestellt.

Ergebnisse aus den Untersuchungsgebieten:

Oregon Subduktionszone

Im Rahmen des Projektes TECFLUX wurden drei Forschungsfahrten (SO 143, AT9904, SO 148) zu den Gashydrat-Vorkommen am Hydratrücken in der Oregon Subduktionszone

durchgeführt. Im Verlaufe dieser Fahrten wurden chemoautotrophe Organismen in großer Menge und an verschiedenen Standorten gesammelt. Der Schwefelwasserstofffluß stellt einen wichtigen die Verbreitung der chemoautotrophen wie auch heterotrophen Organismen kontrollierenden Faktor dar (Sahling et al. accepted).

Sunda Fore-Arc-Becken

Im Rahmen des Projektes GINCO III wurde eine Forschungsfahrt (SO 139) zu einer antiklinalen Struktur im Fore-Arc Bereichs des Sunda Arc durchgeführt (Wiedicke et al. subm.). Am ‚Snail Hill‘ wurden reichhaltige chemoautotrophe Organismen entdeckt, leider konnten nur wenige Exemplare der Muschel *Acharax* sp. (Solemyidae) in diesem Gebiet geborgen werden.

Ochotskisches Meer

Im Rahmen des Projektes KOMEX wurden zwei Forschungsfahrten (LV 28, GE99) mit russischen Forschungsschiffen zum Sachalin Schelf und ins Derugin Becken im Ochotskischen Meer durchgeführt. Am Sachalin Schelf wurden Methan-Austrittsstellen gefunden, an denen in den Tiefen > 400 m Cold-Seep-typische Makrofauna zu finden war (Sahling et al. in prep.). In diesem Untersuchungsgebiet konnte ein einziges Exemplar der Muschel *Conchocele bisecta* (Thyasiridae) geborgen werden. Fluid Venting führt im Derugin Becken zu massiven Barytvorkommen und dem Auftreten von diversen Cold-Seep Gemeinschaften (Sahling et al. in prep.).

Makran Subduktionszone

Im Rahmen des Projektes MAKRAN II (SO 135) wurden Cold Seeps am Kontinentalhang vor Pakistan entdeckt und beprobt. Neben den geologischen Ventcharakteristika konnten die Seeps auch biologisch und geochemisch (Linke et al. in prep.) sowie microbiologisch (Schmaljohann et al. 2001) charakterisiert werden. Aus diesem Gebiet wurden lebende *Calypotgena pacifica* (Vesicomyside) und *Acharax* sp. (Solemyide) geborgen.

Costa Rica Subduktionszone

Eine Ausfahrt (SO 144-2) wurde im Rahmen des Projektes PAGANINI zu dem erosiven Kontinentalrand von Costa Rica durchgeführt (Bohrmann et al. subm.). Hier konnten ausgedehnte chemoautotrophe Gemeinschaften entdeckt werden, leider war eine Probennahme aus zeitlichen Gründen nicht möglich.

Bransfieldstraße, Antarktische Halbinsel

Insgesamt wurden drei Fahrten (ANT XV/2, NBP 9904, SO 155) zu den hydrothermalen Quellen am Hook Ridge in der Bransfieldstraße durchgeführt. Im Zuge dieser Fahrten wurden Pogonophora der Gattung *Sclerolinum* beprobt, es traten keine weiteren Hot-Vent-typischen Organismen auf.

III. Ausblick

Mit den in diesem Teilprojekt gewonnenen Ergebnissen lassen sich die globalen Verbreitungsmuster chemoautotropher Organismen verstehen. Der Sulfidfluß an Cold Seep und hydrothermalen Quellen ist der wesentliche Faktor, der die Verbreitung der global verbreiteten Organismengruppen, der Bivalvia-Familien Vesicomidae und Solemyidae sowie der filamentösen Bakterien der Gattung *Beggiatoa* beeinflusst (Sahling et al. accepted). Weiterhin bestimmt die Wassertiefe die Verbreitung der einzelnen chemoautotrophen Arten (Sahling et al. in prep.). Cold seeps sind entgegen bisheriger Vorstellung vermutlich deutlich häufiger an Kontinentalrändern anzutreffen als bisher angenommen. So konnte ausgedehnter Methanfluß in Gebieten entdeckt werden, die nicht mit der bisherigen Vorstellung von Fluidfluß aufgrund von Akkretion an tektonisch aktiven Kontinentalrändern in Verbindung stehen (Greinert et al. in prep., Wiedicke et al. subm.). Durch das häufige Auftreten von Cold Seeps entlang der Kontinentalränder kommt es zu einem großen genetischen Austausch zwischen den chemoautotrophen Organismen, die einer durch geographischen Isolation verursachten Artbildung entgegensteht.

IV. Publikationen

Bohrmann G, Jung C, Heeschen K, Weinrebe W, Baranov B, Cailleau B, Heath R, Hühnerbach V, Hort M, Kath T, Masson D, Trummer I (subm.) Widespread fluid expulsion along the seafloor of the Costa Rica convergent margin. Terra Nova.

Linke P, von Mirbach N, Berner U, Schmaljohann R, Kath T (in prep.) Geochemical and biological manifestation of fluid venting from a canyon cutting through the Makran accretionary wedge off Pakistan.

Sahling H, Galkin SV, Foerstel H, Greinert J, Suess E (in prep.) Cold-seep communities on the Sakhalin continental shelf and slope and in the Derugin Basin (Sea of Okhotsk).

- Sahling H, Rickert D, Lee RW, Linke P, Suess E (accepted) Macrofaunal community structure and sulfide flux at gas hydrate deposits from the Cascadia convergent margin. *Mar Ecol Prog Ser*.
- Sahling H, Süling J, Kath T, Imhoff JF (in prep.) The phylogeny of thiotrophic bacterial endosymbionts in marine bivalves from cold seep habitats.
- Schmaljohann R, Drews M, Walter S, Linke P, Rad Uv, Imhoff JF (2001) Oxygen-minimum zone sediments in the northeastern Arabian Sea off Pakistan: a habitat for the bacterium *Thioploca*. *Mar Ecol Prog Ser* 211: 27-42.
- Wiedicke M, Sahling H, Beiersdorf H, Delisle G, Faber E, Marchig V, Weiss W, Mirbach Nv, Afiat A (subm.) Characteristics of an active vent in the fore-arc basin of the Sunda arc, Indonesia. *Mar Geol*.

IV. Erfolgskontrollbericht

Innerhalb des Teilprojekts konnten chemoautotrophe Organismen in den verschiedenen Untersuchungsgebieten gesammelt werden. Die Entdeckung sowie geochemische und biologische Charakterisierung der chemoautotrophen Gemeinschaften wurde ausführlich im Schlußbericht dargestellt und führt zu einer Reihe von Publikationen, wie der Beilage zu entnehmen ist. Die Vielfalt und Menge an gesammelten Organismen hing stark von den technischen Möglichkeiten auf den durchgeführten Fahrten ab. Während für die phylogenetischen Untersuchungen eine große Vielfalt von Bivalvia (*Conchocele* sp.: Thysiridae, *Acharax* sp.: Solemyidae, *Calyptogena pacifica*, *C. kilmeri*: Vesicomidae) aus verschiedenen Gebieten (vor Makran, Oregon, Indonesien und im Okhotskischen Meer) zur Verfügung standen konnten große Mengen an Organismen für biochemische Analysen nur in der Oregon Subduktionszone gesammelt werden.

Wesentlichstes Ergebnis der geochemischen und biologischen Charakterisierung der Cold Seep Gemeinschaften ist, daß bestimmte Organismengruppen einen direkten Hinweis auf den Sulfidfluß geben. Dadurch ist eine Abschätzung der Stoffflüsse aufgrund der Kartierung der Gemeinschaften möglich und damit eine Abschätzung, wieviel Methan an diesen Standorten umgesetzt wird.

Im Rahmen des Finanz- und Zeitplans wurden alle wesentlichen Untersuchungen durchgeführt. Von der genetischen Charakterisierung der Invertebraten mußte aus zeitlichen Gründen abgesehen werden, ohne daß dadurch die Ergebnisse an Aussagekräftigkeit verloren haben.