



*A Sea of Change: Impacts of Reduced Nitrogen and Phosphorus Loads on Coastal Phytoplankton Communities*

A.M. Burson

**Een zee van verandering:**  
*Effecten van de afname in stikstof- en fosfaatbelasting op  
het fytoplankton in kustwater*

Amanda Burson

De hoeveelheid voedingsstoffen die de Noordzee en andere kustwateren instromen wordt sterk beïnvloed door menselijke activiteiten. Gedurende meerdere decennia nam de nutriëntenbelasting geleidelijk toe, wat uiteindelijk resulteerde in eutrofiëring van mariene kustecosystemen. Om de negatieve effecten van eutrofiëring een halt toe te roepen werd in 1986 in internationaal verband afgesproken om de hoeveelheid stikstof en fosfaat die via Europese rivieren de Noordzee instroomt te halveren. In de beginjaren 2000 was de totale afname van de fosfaatbelasting, met 50-70%, succesvoller dan de totale afname van de stikstofbelasting, met zo'n 20-30%. Deze onbalans in de afname van deze twee belangrijke voedingsstoffen zou kunnen leiden tot verschuivingen in de productiviteit, soortensamenstelling en voedingswaarde van marien fytoplankton aan de basis van het mariene voedselweb. Om beter te begrijpen of en hoe deze verschuiving in de nutriëntenbelasting het fytoplankton in de Noordzee heeft beïnvloed, heeft dit proefschrift zich gericht op de volgende drie doelstellingen:

- Het eerste doel is om vast te stellen of deze meerjarige verandering in de nutriëntenbelasting de verhouding van de nutriëntenconcentraties in de Noordzee heeft veranderd, en of dat heeft geleid tot veranderingen in de nutriënten die limiterend zijn voor de primaire productie van de Noordzee.
- Het tweede doel is om te onderzoeken hoe deze verschuivingen in nutriënt limitatie de soortensamenstelling en biochemische samenstelling van het fytoplankton in de Noordzee zouden kunnen beïnvloeden.
- Het derde doel is om het fytoplankton van de Noordzee te gebruiken als een model systeem voor een beter fundamenteel begrip van de effecten van concurrentie tussen soorten op de soortensamenstelling van ecosystemen.

Nutriënt limitatie in de Noordzee werd onderzocht door meerdere vaartochten met het onderzoekschip RV Pelagia langs een transect van de kustzone naar het midden van de Noordzee (Hoofdstuk 2). Analyse van opgeloste anorganische nutriënten maakte een duidelijke gradiënt zichtbaar van exceptioneel hoge N:P ratio's in het kustwater tot lage N:P ratio's in het midden van de Noordzee. De aanwezigheid van zulke hoge N:P ratio's is een aanwijzing voor fosfaat (P) limitatie, en staat haaks op de traditionele gedachte dat de productiviteit van mariene ecosystemen vooral door stikstof wordt gelimiteerd. Dezelfde gradiënt is echter ook aanwezig in het seston (=fytoplankton en detritus) van de Noordzee, waarbij we ook bijzonder hoge N:P en C:P ratio's in het seston van de kustzone vonden en veel lagere waarden in de centrale Noordzee (Hoofdstuk 2).

De ruimtelijke gradiënt in nutriënt limitatie werd bevestigd door bioassays met nutriëntenbemesting aan boord van het onderzoekschip (Hoofdstuk 2). De groei van het fytoplankton in de kustzone werd gelimiteerd door P, er was een overgangszone met co-limitatie van N en P verder uit de kust, en N was limiterend in de centrale Noordzee. Diatomeeën in het kustwater werden ge-co-limiteerd door silicaat en P, terwijl bij dinoflagellaten en nanoflagellaten waaronder veel mixotrofe soorten sprake was van co-

limitatie door N en P. De verschillende manieren waarop verschillende soorten reageerden gaven aan dat verdere afname van de fosfaatbelasting zonder gelijktijdige afname van de stikstofbelasting waarschijnlijk zal leiden tot een verdere terugloop van de overlast veroorzakende schuimalg *Phaeocystis*, maar minder effectief zal zijn in het beperken van schadelijke algengroei door dinoflagellaten. Dat dinoflagellaten kunnen leiden tot schadelijke algengroei met grote problemen voor de waterkwaliteit wordt goed geïllustreerd door de bloei van de bijzonder giftige *Alexandrium ostenfeldii* in de provincie Zeeland in 2012 (Hoofdstuk 6).

Hoe verschuivingen in nutriënt limitatie de soortensamenstelling van fytoplankton in de Noordzee kunnen beïnvloeden, werd onderzocht in gecontroleerde laboratorium experimenten (Hoofdstuk 3). De klassieke resource competitie theorie voorspelt dat veranderingen in nutriënt ratio's zullen leiden tot veranderingen in de fytoplankton soortensamenstelling. De nutriëntenbelasting hypothese is een uitbreiding van deze klassieke theorie, die voorspelt dat een afname van de nutriëntenbelasting ook zal leiden tot veranderingen in de soortensamenstelling als de nutriënt ratio's hetzelfde blijven, doordat de interactie tussen soorten verschuift van competitie om licht naar competitie om nutriënten. Zeven chemostaat experimenten, met elk een unieke combinatie van stikstof- en fosfaatbelasting, werden uitgevoerd om deze voorspellingen te testen. De resultaten tonen aan dat zowel veranderingen in N:P ratio's als veranderingen in totale nutriëntenbelasting effect hebben op de fytoplankton soortensamenstelling, in overeenstemming met de theoretische voorspellingen. We vonden echter een grotere diversiteit aan soorten dan was voorspeld door de theorie. Deze hoge diversiteit kan worden toegeschreven aan neutrale coëxistentie van de soorten, of aan verschillen in pigmentsamenstelling tussen diatomeeën, groenalgen en cyanobacteriën die een subtiele vorm van niche differentiatie mogelijk maken waarbij soorten gebruik maken van verschillende delen van het onderwater lichtspectrum.

Om beter te begrijpen hoe de biochemische samenstelling van fytoplankton wordt beïnvloed door veranderingen in nutriënt limitatie hebben we de biomoleculen van het fytoplankton in de experimenten van Hoofdstuk 3 nader geanalyseerd (Hoofdstuk 4). Hiertoe voegden we de stabiele <sup>13</sup>C isotoop toe aan fytoplankton uit de chemostaat experimenten en analyseerden we de opname van het toegevoegde <sup>13</sup>C in belangrijke biomoleculen zoals aminozuren, koolhydraten en vetzuren. Stikstof limitatie leidde tot een afname van het aminozuur gehalte van de cellen, en afname van de omzetting van niet-essentiële naar essentiële aminozuren, in vergelijking met fosfaat- of licht limitatie. Het glucose gehalte van de cellen, voor opslag van koolhydraten, nam juist toe bij stikstof limitatie, terwijl structurele koolhydraten en vetzuren niet significant varieerden met het type nutriënt limitatie. Fosfaat limitatie bleek geen impact te hebben op het aminozuur gehalte. We hadden onvoldoende biomassa beschikbaar voor de analyse van <sup>13</sup>C in nucleïnezuren, maar het is bekend van andere studies dat P limitatie het RNA gehalte van cellen verlaagd. Deze veranderingen in biochemische samenstelling kunnen een effect hebben op fytoplankton groei, en zijn bepalend voor de voedingswaarde van fytoplankton voor hogere trofische niveau's in het voedselweb (Hoofdstuk 4).

Niche-gebaseerde modellen en de neutrale theorie voor biodiversiteit verschillen in hun voorspelling hoe de fytoplankton samenstelling zal reageren op veranderingen in de nutriëntenbelasting. Het uitgangspunt van niche-gebaseerde modellen is dat verschillen tussen soorten in hun concurrentiestrijd om nutriënten en licht leiden tot veranderingen in de soortensamenstelling, terwijl de neutrale theorie berust op de aanname dat alle soorten gelijkwaardige concurrenten zijn wat resulteert in random verschuivingen in de

soortensamenstelling. Om vast te stellen welke van deze twee fundamenteel verschillende uitgangspunten het beste van toepassing is, hebben we een nieuwe reeks van chemostaat experimenten uitgevoerd met natuurlijk fytoplankton uit de Noordzee. P limitatie leidde tot de coëxistentie van twee soorten, de picocyanobacterie *Cyanobium* en de nano-eukaryoot *Nannochloropsis*. Beide soorten werden geïsoleerd en opgekweekt in monocultuur om hun groei-eigenschappen te meten. Hieruit bleek dat de twee soorten een vergelijkbare concurrentiekracht hebben voor fosfaat, wat een indicatie is dat competitie tussen deze soorten zou kunnen leiden tot neutrale coëxistentie. Echter, in plaats van random fluctuaties te vertonen, convergeerden de beide soorten in competitie experimenten tot dezelfde stabiele evenwichts-verhoudingen ongeacht met welke initiële hoeveelheden de beide soorten het experiment begonnen. Opnieuw lijken verschillen in pigmentsamenstelling van de soorten een rol te hebben gespeeld. Dat wil zeggen, subtiele niche differentiatie in het licht spectrum heeft waarschijnlijk geleid tot stabilisering van de anderszins neutrale concurrentiestrijd, resulterend in stabiele coëxistentie van de twee soorten.

Samenvattend zijn de veranderingen in de stikstof- en fosfaatbelasting van grote invloed geweest op het fytoplankton van de Noordzee. De sterke afname van de fosfaatbelasting heeft geleid tot P limitatie van het kustwater, en een gradiënt van P limitatie bij de kust tot N limitatie in de centrale Noordzee die tot uitdrukking komt in zowel de C:N:P verhoudingen als de groei response van het fytoplankton (Hoofdstuk 2). Voorts blijkt uit laboratorium experimenten dat veranderingen in zowel N:P ratio's als totale nutriëntenbelasting leiden tot verschuivingen in de biochemische samenstelling en soortensamenstelling van het fytoplankton, waarbij verschuivingen in de soortensamenstelling het meest adequaat worden beschreven door niche-gebaseerde modellen zoals de nutriëntenbelasting hypothese (Hoofdstukken 3-5). Verder onderzoek is noodzakelijk om beter te begrijpen hoe de hogere trofische niveau's in het mariene voedselweb worden beïnvloed door de lage voedselwaarde van P-gelimiteerd fytoplankton. Dit werk onderstreept het belang van een betere monitoring van (de veranderingen in) de Noordzee. Bovendien laat dit onderzoek zien dat verdere inspanningen tot de-eutrofiëring van aquatisch ecosystemen zouden moeten berusten op gebalanceerde reducties van N en P als leidend principe.