



Interactions between Microorganisms and Oxic-Anoxic Transitions

M. Diao

Samenvatting

Zuurstofdepletie in wateren kan leiden tot hypoxie (zuurstofarm water) en anoxie (zuurstofloos water), wat massale sterfte van aërobe organismen tot gevolg kan hebben. Hoewel hypoxie en anoxie vaker voorkwamen in de geologische geschiedenis van de aarde, zijn de frequentie, intensiteit en duur van hypoxie en anoxie in meren, kustwateren en open oceanen de afgelopen decennia toegenomen, hoogstwaarschijnlijk als gevolg van eutrofiëring en het broeikas-effect. Zuurstofverbruik door micro-organismen speelt een belangrijke rol bij de ontwikkeling van hypoxie en anoxie en, vice versa, microbiële activiteit wordt ook sterk beïnvloed door veranderingen in zuurstofbeschikbaarheid. Veel van de biogeochemische transformaties waar micro-organismen bij betrokken zijn bestaan immers uit oxidatie-reductie reacties. Aangezien hypoxie en anoxie in toenemende mate een bedreiging vormen voor aquatische ecosystemen, is het noodzakelijk om de interacties tussen micro-organismen en de omslag van zuurstofrijk naar zuurstofloos water beter te begrijpen. Daarom onderzoekt dit proefschrift de diversiteit en dynamiek van microbiële gemeenschappen tijdens de seizoensveranderingen in zuurstofconcentraties in een gestratificeerd voedselrijk meer (het meertje Vechten) in Nederland. De volgende vragen zijn onderzocht:

- (1) Hoe beïnvloedt de omslag van zuurstofrijk naar zuurstofarm water de dynamiek van bacteriën in de gemeenschap?
- (2) Hoe zijn microbiologische en biogeochemische terugkoppelingen betrokken bij deze omslag van zuurstofrijk naar zuurstofarm water?
- (3) Hoe beïnvloeden de seizoensveranderingen in zuurstofconcentraties de microbiële zwavel- en stikstofkringloop?

De invloed van veranderingen in zuurstofbeschikbaarheid op de seizoensdynamiek van bacteriële gemeenschappen in het meertje Vechten werd onderzocht in Hoofdstuk 2. *Cyanobacteria* en *Planktomycetes* waren in de vroege lente overvloedig aanwezig in de waterkolom. Tijdens de zomerstratificatie waren heterotrofe *Alphaproteobacteria*, *Bacteroidetes* en *Actinobacteria* abundant in het zuurstofrijke epilimnion, *Gammaproteobacteria* (voornamelijk *Chromatiaceae*) domineerden in het metalimnion, *Chlorobi*, *Betaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria* en *Firmicutes* waren overvloedig aanwezig in het zuurstofloze en sulfidische hypolimnion. Na menging van de waterkolom in de herfst verspreidden *Polynucleobacter* (*Betaproteobacteria*) en *Methylobacter* (*Gammaproteobacteria*) zich van het eerdere meta- en hypolimnion naar de oppervlaktelaag en domineerden Epsilonproteobacteria in de onderste waterlaag. Toen het meer volledig gemengd en zuurstofrijk werd tijdens de winter en het vroege voorjaar, domineerden *Cyanobacteria* en *Planktomycetes* de bacteriële gemeenschap opnieuw. Over het algemeen liep de samenstelling van de bacteriële gemeenschap op verschillende dieptes in de waterkolom uiteen tijdens de zomerstratificatie en om vervolgens weer te convergeren toen het meer werd gemengd, wat wijst op grote spatio-temporele veranderingen tijdens de omslag tussen zuurstofrijk en zuurstofarm water.

De interacties tussen de samenstelling van de microbiële gemeenschap, biogeochemische oxidatie-reductie reacties en veranderingen in zuurstofconcentraties werden bestudeerd met behulp van een wiskundig model in hoofdstuk 3. Het model voorspelt dat geleidelijke veranderingen in de zuurstofaanvoer belangrijke *regime shifts* kunnen veroorzaken, waarbij het ecosysteem abrupt verschuift van een zuurstofrijke toestand gedomineerd door cyanobacteriën naar een zuurstofloze toestand met fototrofe zwavelbacteriën en sulfaat-

reducerende bacteriën (SRB). Waarnemingen van het meertje Vechten ondersteunden deze modelvoorspellingen en toonden aan dat er sprake is van hysteresis in de overgang tussen de zuurstofrijke en zuurstofloze toestand met veranderingen in de microbiële gemeenschap die goed overeenkomen met de modelvoorspellingen. Het optreden van hysteresis en kantelpunten die samenhangen met deze regime shifts is waarschijnlijk een wijdverbreid kenmerk van de omslag van zuurstofrijk naar zuurstofarm water in aquatische ecosystemen, waardoor een plotselinge afname van de zuurstofconcentratie niet gemakkelijk kan worden teruggedraaid. Deze resultaten benadrukken de belangrijke rol die micro-organismen spelen bij het optreden van verschuivingen tussen zuurstofrijk en zuurstofarm water.

De dynamica van SRB en zwaveloxiderende bacteriën (SOB) tijdens de omslag van zuurstofrijk naar zuurstofarm water werd in hoofdstuk 4 in detail bestudeerd. SRB, groene zwavelbacteriën (GSB), paarse zwavelbacteriën (PSB) en kleurloze zwavelbacteriën (CSB) waren wijdverbreid in het sediment tijdens de winter en vroege voorjaar toen de waterkolom gemengd was. Na stratificatie van de waterkolom in de late lente en zomer verspreiden verschillende SRB-soorten zich uit over het zuurstofloze hypolimnion, terwijl PSB en GSB bloeiden in het metalimnion en hypolimnion tijdens de zomer. Toen zuurstofarm water zich tijdens de menging van deze waterlagen in de herfst door de gehele waterkolom verspreidde, verdwenen SRB en GSB uit de waterkolom, terwijl CSB (voornamelijk *Arcobacter*) en PSB (*Lamprocystis*) dominant werden. Deze bacteriën oxideerden het sulfide dat zich tijdens de zomerstratificatie in het hypolimnion had opgehoopt. Deze resultaten ondersteunen de voorspelling van het eerdere model dat, zodra ecosystemen zuurstofloos en sulfidisch zijn geworden, er een grote zuurstofaanvoer nodig is om deze zuurstofloze toestand te overwinnen en het ecosysteem weer terug te brengen in een zuurstofrijke toestand.

In hoofdstuk 5 werd de seizoensgebonden successie van micro-organismen die betrokken zijn bij de stikstofkringloop onderzocht tijdens de verschuivingen van zuurstofrijk naar zuurstofarm water. Ammonia-oxiderende archaea (AOA), ammonia-oxiderende bacteriën (AOB) en anaërobe ammonium-oxiderende (anammox) bacteriën waren in de winterperiode overvloedig aanwezig in het sediment. Stikstof-fixerende bacteriën en denitrificerende bacteriën namen in het voorjaar in de waterkolom toe, toen nitraat geleidelijk uitgeput raakte en het hypolimnion zuurstofloos werd. Denitrificerende bacteriën die nirS-genen bevatten, waren uitsluitend aanwezig in het zuurstofloze hypolimnion. Tijdens de stratificatie in de zomer daalden de abundanties van AOA-, AOB- en anammox-bacteriën in het sediment. Nadat het meer tijdens de herfst was gemengd, namen de AOA-, AOB- en anammox-bacteriën opnieuw toe tot hoge abundanties. De micro-organismen betrokken bij de stikstofcyclus in de waterkolom en sediment vertoonden dus een uitgesproken successie, die nauw verbonden was met de overgangen tussen zuurstofrijke en zuurstofloze condities.

Resterende vragen over de diversiteit en het functioneren van microbiële gemeenschappen die interessant zouden kunnen zijn voor toekomstig onderzoek werden besproken in hoofdstuk 6. Er zou nader onderzoek gedaan kunnen worden naar de samenhang tussen de microbiële zwavel- en stikstofcyclus. Verder is meer onderzoek wenselijk naar met name de activiteit en diversiteit van micro-organismen die betrokken zijn bij de zwavel- en stikstofkringloop en andere belangrijke biogeochemische cycli (bijvoorbeeld de koolstofcyclus). De voorspelbaarheid van de kantelpunten tussen zuurstofrijk en zuurstofarm water in meren en kustwateren zal bovendien profiteren van een betere kwantificering van de door micro-organismen veroorzaakte oxidatie-reductie reacties in biogeochemische cycli. Voorlopige resultaten van metagenomics en metatranscriptomics-analyse van monsters

verzameld uit verschillende waterlagen en het sediment van het meertje Vechten geven aan dat deze benaderingen ons begrip van microbiële diversiteit en activiteit kunnen vergroten. Het metatranscriptoom onthulde bijvoorbeeld hoge activiteiten van *Euryarchaeota* en *Chloroflexi* in het zuurstofloze hypolimnion, terwijl onze eerdere analyse op basis van 16S rRNA sequenties de *Euryarchaeota* niet had ontdekt en slechts een zeer lage relatieve hoeveelheid *Chloroflexi* aangaf.

Samenvattend bevordert dit proefschrift onze kennis van dynamische veranderingen in de samenstelling van microbiële gemeenschappen in gestratificeerde meren. Onze resultaten laten met name zien dat microbiële gemeenschappen niet alleen seizoensveranderingen in hun omgeving volgen, maar ook actief de omgeving beïnvloeden en veranderen door de belangrijke rol van micro-organismen in biogeochemische oxidatie-reductie processen. Dit samenspel tussen biogeochemische processen en de microbiële samenstelling veroorzaakt drastische omslagen tussen zuurstofrijk en zuurstofarm water, die gepaard gaan met grote veranderingen in de structuur en het functioneren van microbiële gemeenschappen. Hiermee kan de informatie in dit proefschrift bijdragen aan een beter begrip en voorspelling van de grote impact van micro-organismen op de zwavel- en stikstofcyclus en de ontwikkeling van zuurstofloosheid in aquatische ecosystemen.