



*Life at the edge: benthic invertebrates in high altitude Andean streams.*

Dhr. R.A. Loayza-Muro

## Samenvatting

Gebergtes bedekken ongeveer 27% van het aardoppervlak en bevatten gletsjers en zoetwatervoorraden die waardevolle ecosysteemdiensten verzorgen voor grote hoeveelheden mensen benedenstrooms. Gebergtes zijn uniek vanwege de heterogeniteit aan ecosystemen en de diverse klimatologische omstandigheden, veroorzaakt door de steile hoogtegradiënten. Richting de toppen worden de randvoorwaarden voor het leven uitzonderlijk zwaar, wat nog verergerd kan worden door menselijke verstoringen: leven op de rand.

Het doel van dit proefschrift was het identificeren van de factoren die de diversiteit van de slecht onderzochte levensgemeenschappen van benthische ongewervelden in hooggelegen Andes rivieren sturen en de mechanismen op te helderen die deze organismen in staat stellen om te gaan met 'leven op de rand'. Hiertoe zijn de volgende doelen gesteld:

- Het voor het eerst beschrijven van de levensgemeenschappen van benthische ongewervelden in hooggelegen Andes rivieren en hun soort samenstelling relateren aan de sterke abiotische gradiënten.
- Het ophelderen van de rol van melanine als verdedigingsstrategie tegen schadelijke UV-B straling en blootstelling aan metalen.
- Het onderzoeken van de genetische diversiteit van benthische ongewervelden die voorkomen onder deze extreme omstandigheden en die specifieke verdedigingsstrategieën vertonen.

Grote hoogte veroorzaakt unieke uitdagingen voor organismen die de diversiteit van benthische levensgemeenschappen beperken. Omdat milieuverontreiniging nog meer stress toevoegt aan het leven op grote hoogte heb ik in hoofdstuk 2 eerst het effect van metaalverontreiniging op de samenstelling van de levensgemeenschappen van benthische ongewervelden in Andes rivieren tussen de 3500 en 4500 m hoogte onderzocht gedurende het natte en droge seizoen. In verontreinigde rivieren, die een hoge geleidbaarheid en een lage pH vertoonden, varieerden de metaalconcentraties van 8 tot 3500 keer hoger dan die in de referentie rivieren. PCA analyse van de fysisch-chemische factoren toonden aan dat de referentie locaties vooral werden gegroepeerd op basis van doorzicht, waterafvoer en stroomsnelheid, terwijl de verontreinigde rivieren vooral bepaald werden door metalen en geleidbaarheid. CCA analyse wees op een sterke invloed van de sterk positief gecorreleerde metaalconcentraties op samenstelling van de levensgemeenschappen van benthische ongewervelden, die in verontreinigde rivieren werden gedomineerd door vliegen en muggen, waterkevers, springstaarten en watermijten. In de referentierivieren waren kreeftachtigen, haften, steenvliegen en kokerjuffers de meest voorkomende taxa. Geconcludeerd werd dat de ernstige metaalverontreiniging veranderingen veroorzaakte in de samenstelling van de levensgemeenschappen van benthische ongewervelden in

hooggelegen Andes rivieren, waarbij gevoelige taxa vervangen werden door meer tolerante taxa. Desalniettemin kwamen relatief soortenrijke levensgemeenschappen voor onder extreme omstandigheden.

In hoofdstuk 3 heb ik de uiteenlopende effecten van metaalverontreiniging en hoogte op de samenstelling van de levensgemeenschappen van benthische ongewervelden in Andes rivieren onderzocht. De verontreinigde rivieren werden gekenmerkt door hoge metaalconcentraties en een lage pH en de hoogstgelegen rivieren door hoge UV-B straling en lage concentraties opgelost organisch materiaal. CCA analyse toonde aan dat de patronen in fauna samenstelling het best werden verklaard door metaalverontreiniging gevolgd door hoogte, waarbij vooral vliegen, muggen en springstaarten voorkwamen onder de meest extreme omstandigheden, grote hoogte en metaalverontreiniging. Geconcludeerd werd dat in hooggelegen Andes rivieren metaaluitspoeling uit ertsrijk gesteente en hoogte belangrijke factoren zijn die levensgemeenschappen van benthische ongewervelden beïnvloeden, leidend tot verminderde aantallen en een verschuiving in soortensamenstelling in de richting van gespecialiseerde taxa.

Hoge metaalconcentraties en UV-B straling in hooggelegen Andes rivieren creëren strenge randvoorwaarden voor het leven, waardoor hier slechts een beperkt aantal taxa kan voortbestaan, waaronder dansmuggen. Daarom was het doel van hoofdstuk 4 om de mechanismen te bepalen die het deze dansmuggen mogelijk maken om voort te bestaan onder deze stressvolle condities. De hypothese was dat melanine zowel de negatieve effecten van UV-B straling als van metalen te niet zou kunnen doen. Melaninegehalten werden bepaald in dansmuggen uit schone en metaalverontreinigde rivieren op 3000 en 4000 meter hoogte. Deze waren op 4000 meter twee maal hoger dan op 3000m en in verontreinigde rivieren twee maal hoger dan in referentie rivieren, op beide hoogtes. Deze veldwaarnemingen werden experimenteel bevestigd door het vaststellen van de gecombineerde effecten van koper en UV-B straling op overleving en melanine concentratie in larven van de model dansmugsoort *Chironomus riparius*. In de laboratoriumexperimenten werden de hoogste melanineconcentraties aangetroffen in larven die toxische koperconcentraties overleefden, maar niet in larven die werden blootgesteld aan UV-B straling. Voorbehandeling met UV-B straling verminderde de gevoeligheid van de larven voor UV-B straling en voor de behandeling koper plus UV-B straling. Geconcludeerd werd dat in het veld melanine dansmuggen gedeeltelijk beschermd tegen zowel verhoogde metaalconcentraties als UV-B straling, wat hen de mogelijkheid biedt om voort te bestaan onder de meest extreme condities in rivieren op grote hoogte.

Beschermende pigmenten in benthische ongewervelden zouden de schade door de sterke UV-B straling in Andes rivieren op grote hoogte boven 3500 m kunnen verminderen. Daarom was het doel van hoofdstuk 5 om vast te stellen of melanisering van benthische ongewervelden in Andes rivieren op grote hoogte een adaptieve respons is op hoge Uv-B

straling. Om te onderzoeken of hoogte gerelateerde verschillen in melanine concentraties tussen taxa werden veroorzaakt door veranderingen in soortsaamenstelling of door populatiedifferentiatie zijn een aantal haftensoorten genetisch geïdentificeerd. UV-B straling werd gemeten van 650 tot 4000 m hoogte en de melanineconcentraties in diverse ordes van bentische ongewervelden verzameld op deze hoogtes werd vergeleken. Vijf genera van de haftenfamilie Baetidae werden genetisch geïdentificeerd tot op soortniveau. DNA sequencing werd uitgevoerd op individuele larvale poten om genetisch identieke individuen samen te kunnen nemen ten behoeve van de melanine analyse in de bijbehorende lichamen. De UV-B straling op 4000 m hoogte was twee maal hoger dan op 3200 meter, vier maal hoger dan op 1900 m en vijf maal hoger dan op 650 m. De melanine concentratie in families behorende tot de haften, kokerjuffers, vliegen en muggen en platwormen was twee maal hoger op 4000 m dan op 3200 m, maar verschilde niet tussen taxa en tussen seizoenen. Vijf genera van de haftenfamilie Baetidae werden geïdentificeerd: *Americabaetis*, *Dactylobaetis*, *Tupiara*, *Baetodes* en *Thraulodes*. Er bleken genetische verschillen te zijn tussen de *Americabaetis* soorten van 4000 m in de Cordillera Blanca en van 3200 m uit de Rímac vallei en tussen *Tupiara* taxa van 650 en 1900 m uit de Rímac vallei. In *Americabaetis* was de melanineconcentratie vijf maal hoger op 4000 m dan op 1900 m en in *Dactylobaetis* en *Tupiara* het twee maal hoger op 1900 m dan op 650 m. In *Baetodes* was de melanineconcentratie op 4000 m twee maal hoger dan op 650 en 1900 m en in *Thraulodes* was het bijna drie maal hoger op 4000 m dan op 3200 m. Wat betreft het geslacht *Tupiara* waren de verschillen in melanineconcentraties gerelateerd aan soorten met een verschillende verticale distributie, terwijl voor het geslacht *Dactylbaetis* deze verschillen werden geïnterpreteerd als fenotypische plasticiteit. Deze bevindingen toonden dus aan dat haftensoorten binnen één familie zowel constitutieve als aanpasbare melanineconcentraties kunnen bevatten, wat hen de mogelijkheid biedt om te gaan met de sterk selectieve UV-B straling. Aanpasbare melanineconcentraties zijn algemeen waargenomen onder gematigde UV-B straling regimes, maar de constitutieve hoge melaninconcentraties zijn waarschijnlijk een eigenschap van ongewervelden in de hoge tropische Andes.

Zoals hierboven beschreven behoren de dansmuggen tot de weinige dominante taxa die aanwezig zijn onder de meest extreme condities in metaalverontreinigde hooggelegen rivieren in de Andes. De vraag bleef echter of de dominantie van de dansmuggen veroorzaakt werd door adaptatie binnen enkele soorten (populatiedifferentiatie) of door diverse soorten met verschillende capaciteiten om om te gaan met extreme milieuomstandigheden. Om deze vraag te beantwoorden is in hoofdstuk 6 de genetische saamenstelling van dansmuggenlevensgemeenschappen van referentie en metaal verontreinigde rivieren op 3000 en 4000 m onderzocht met behulp van mitochondriale cytochroom oxidase I (COI) gen sequentie en het construeren van een fylogenetische boom. Op 3000 m werd de referentie rivier bewoond door zes fylogenetische soorten die volledig

verschilden van de drie soorten aanwezig op 4000 m, wat duidde op een sterke verdeling van soorten over hoogte. In de metaalverontreinigde rivieren werd slechts één fylogenetische soort aangetroffen. Deze metaaltolerante soort was zowel aanwezig op 3000 en 4000 m en was uniek voor de verontreinigde rivieren, wat aantoonde dat extreme selectiedruk door metaalverontreiniging de selectiedruk door hoogte overheerste. Geconcludeerd werd dat hoogte sterke beperkingen oplegt aan de verspreiding van dansmuggensoorten, leidend tot een sterke verticale verdeling van soorten over de hoogtes in de Andes, maar dat selectie in zure metaalverontreinigde rivieren zo sterk is dat deze de selectie door hoogte overheerst, leidend tot het voorkomen van een uniek metaal tolerant taxon.

Concluderend werd dat rivieren op grote hoogte in de Andes een behoorlijk diverse levensgemeenschap van benthische ongewervelden herbergen, vertegenwoordigd door de belangrijkste groepen ongewervelden. Tevens is het bewijs geleverd dat algemeen voorkomende insectensoorten taxonomisch nog niet beschreven waren en dat unieke fylogenetische soorten voorkomen, hoogstwaarschijnlijk ten gevolge van de geologische geschiedenis van de Andes en de sterke selectie voor tolerantie tegen hoogte. Er werd aangetoond dat larvale pigmentatie een induceerbaar 'zonnenscherm' vormt wat bescherming biedt tegen de sterke UV-B straling, maar het pigment melanine bleek ook effectief metaal stress tegen te gaan. Een enkele eigenschap van de fauna stelden soorten dus in staat om te gaan met de gecombineerde stress van UV-B straling en blootstelling aan metalen die uitspoelen uit metaalrijke erts. De enige soort van de stress tolerante dansmuggen die voorkwam onder de meest extreme omstandigheden, de hoogste UV-B rijke metaalverontreinigde rivier, was een ongeïdentificeerde dansmug, gekenmerkt als een nieuwe fylogenetische soort. De verticale verdeling van de insectenfauna over de hoogtes van de Andes is sterk en ik indetificeerde meerdere stress factoren, zoals de montane zuurstofhuishouding, sterke UV-B straling en uitspoeling van hoge metaalconcentraties als factoren die de samenstelling van de levensgemeenschappen van benthische ongewervelden sturen. Geconcludeerd werd dat er een sterke selectie optreedt op alle hoogtes in de Andes, maar dat deze het meest uitgesproken is onder blootstelling aan grote hoogte en hoge metaalconcentraties: het leven op de rand.