

University of Groningen

## Mild climate, harsh times for polar marine microbes

Piquet, Anouk Marie-The r se

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2010

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Piquet, A. M.-T. (2010). *Mild climate, harsh times for polar marine microbes*. s.n.

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

## *CHAPTER 7*

# **Nederlandse Samenvatting**

Anouk M.-T. Piquet

## MARIENE MICROBIËLE ORGANISMEN

### Wat zijn “marine microbes”?

Microbiële organismen zijn zeer klein en eencellig: de kleinste zijn in de orde grootte van duizenden van een millimeter ( $0.2 \mu\text{m}$ ) terwijl de grotere tot twee tiende van een millimeter ( $200 \mu\text{m}$ ) kunnen zijn. In het mariene milieu vindt men organismen van de drie levensrijken: *Eukaryota*, *Bacteria* en *Archaea*. De meest voorkomende organismen zijn het fytoplankton (*Eukaryota*) en het bacterioplankton (*Bacteria*). Fytoplankton heeft zeer uiteenlopende maten en daarom wordt het per grootte in pico- ( $0.2\text{-}2 \mu\text{m}$ ), nano- ( $2\text{-}20 \mu\text{m}$ ) en micro-plankton ( $20\text{-}200 \mu\text{m}$ ) opgedeeld. Bacteriën en ook de minder voorkomende *Archaea* zijn over het algemeen kleiner dan  $1 \mu\text{m}$ .

### Wat doen ze?

Ondanks hun microscopische grootte spelen deze organismen een centrale rol in de wereldwijde koolstofcyclus en staan ze aan de basis van de meeste voedselketens in de oceanen. Marien fytoplankton is verantwoordelijk voor de helft van de wereldwijde primaire productie met 45 gigaton organisch koolstof per jaar. Fytoplankton gebruikt energie uit zonlicht om fotosynthese uit te voeren. Bij dit proces wordt  $\text{CO}_2$ , die uit het atmosferen in het water is opgelost, opgenomen en omgezet in organisch koolstof. In het voorjaar, als de hoeveelheid licht toeneemt en het water rijk is aan essentiële nutriënten (zoals fosfaat, stikstof en silica), kan fytoplankton exponentieel groeien. Dit kan leiden tot een zogenaamde voorjaarsbloei. De microalgen biomassa is dan soms zo hoog dat ze door satellieten waargenomen kan worden (Fig. 1.1). Ook zijn restanten van algenbloeien soms zichtbaar op onze Nederlandse stranden in de vorm van schuimvorming. Dit fenomeen wordt door de microalg *Phaeocystis* sp. veroorzaakt.

### Wat gebeurt er met organisch koolstof?

De door fytoplankton geproduceerde organisch koolstof heeft drie mogelijke lotsbestemmingen:

- (1) Het fytoplankton wordt opgegeten door herbivore grazers, die op hun beurt door carnivore grazers (zooplankton, meercellige “kleine dieren”) gegeten worden. Dit leidt vervolgens hogerop in de voedselketen naar vissen, vogels, zeezoogdieren en uiteindelijk ook de mens. Hiermee wordt bijna alle leven in de oceanen door het fytoplankton gevoed,
- (2) Het fytoplankton sterft af en wordt afgebroken. Hierbij komen de bacteriën in actie: die gebruiken hun enzymen om het organisch materiaal weer af te breken tot inorganisch koolstof en de basis elementen (fosfaat, stikstof, silica, etc.). Bacteriën zijn dus verantwoordelijk voor de recycling van materiaal. Als essentiële elementen uitgeput zijn, dan zorgt de bacteriële activiteit dus weer voor het hervullen van de “voorraden”, waardoor nieuwe primaire productie van organisch koolstof kan plaatsvinden.
- (3) Fytoplankton kan ook uitzinken, waardoor organisch materiaal naar de diepzee wordt getransporteerd. Hierbij wordt dus  $\text{CO}_2$  dat uit de atmosfeer afkomstig was, voor zeer lange tijd vastgelegd. Dit gebeurt als fytoplankton cellen bij het uitsterven tot organische brokken

klonteren, of nadat ze door zooplankton zijn opgegeten en als fecale pakketjes worden uitgescheiden. In beide gevallen zijn deze pakketjes zwaarder en zinken ze gemakkelijker, waardoor organisch koolstof vastgelegd wordt op de zeebodem.

### **Hoe identificeert men microscopische organismen?**

Wanneer iets zeer klein is, wordt het over het algemeen moeilijk om het te herkennen. Dit is ook het geval voor mariene microbiële organismen. Voor de grotere soorten fytoplankton, die beschikken over duidelijk uiterlijke kenmerken zoals silica behuizingen, voldoet microscopisch identificatie, ook al moet men wel een zeer getraind taxonoom zijn om het te kunnen. Voor de kleinere soorten – het nano-, pico- en bacterioplankton-, die over weinig tot geen soortspecifieke uiterlijke kenmerken beschikken, is microscopie zo goed als uitgesloten. Daarom moeten er andere technieken toegepast worden. De klassieke aanpak hiervoor bestond onder andere uit kweken op specifieke voedingsbronnen, maar dit levert een zeer beperkt aantal soorten op. Bijvoorbeeld, voor mariene bacteriën kan slechts 1% succesvol gekweekt worden. Voor de fytoplanktonsoorten kunnen groepsspecifieke pigmenten bepaald worden. Ieder micro-alg groep beschikt over een eigen consortium aan pigmenten. Door een soort pigment vingerafdruk te maken kan de aanwezigheid en hoeveelheid van een specifieke microalgenklasse bepaald worden. Echter, bij deze techniek is het niet mogelijk een alg tot op de soort te determineren, omdat meerdere soorten hetzelfde pigmentprofiel kunnen hebben.

In de jaren 1990 werden nieuwe moleculaire technieken ontwikkeld die het mogelijk maakten om rechtstreek in het DNA te kijken. Dit werd vooral mogelijk door het ontwikkelen van de PCR (polymerase chain reaction). Dit is een reactie waarbij een specifiek stuk gen gekopieerd en exponentieel vermenigvuldigd wordt. Als men het gewenst stukje DNA heeft geamplificeerd kan deze op verschillende wijzen worden geanalyseerd. Voor het identificeren van Prokaryoten (bacteriën en Archaea) wordt het 16S rRNA gen gebruikt en voor Eukaryoten het 18S rRNA gen. Iedere soort heeft een eigen DNA code voor deze genen en dus kan er onderscheid op soortsniveau gemaakt worden door een stukje, of het gehele gen te sequencen. Omdat dit echter wel tijdrovend en kostbaar is, zijn er technieken ontwikkeld die het mogelijk maken om een “vingerafdruk” te maken van een hele microbiële gemeenschap. Dit heet “community fingerprinting”. Een tegenwoordig veelvuldig gebruikte vingerafdruk-techniek is denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). Alle organismen uit een watermonster worden eenvoudig vertaald naar een bandenpatroon. De eerste stap is het water filtreren tot de gewenste klasse grootte; daaruit wordt alle DNA van de aanwezige organismen geëxtraheerd. Als men een DNA extract heeft kan het gewenst stukje gen geamplificeerd worden met PCR. Hierdoor zijn er stukjes gen aanwezig van alle soorten die in het watermonster zaten. Daarna kan er met een vinderafdruk techniek de verschillen in DNA eigenschappen vertaald worden naar een bandenpatroon. Op deze manier kunnen verschuivingen in microbiële gemeenschappen tussen water monsters efficiënt worden waargenomen. Als laatste stap kunnen de banden gesequenced worden om de soort te identificeren die achter het desbetreffende bandje schuilt.

## POLAIRE MARIENE MICROBEN EN KLIMAAT VERANDERING

Microbiële organismen bewonen alle biotopen van de aarde. In het mariene milieu zijn ze zowel in de tropen als in de onherbergzame koude polaire zeeën aanwezig. Volgens de IPCC rapporten is nergens op aarde het klimaat zo snel aan het veranderen als in de poolgebieden.

Ook in polaire oceanen en kustwateren zijn fytoplankton en bacteriën essentieel voor zowel voedselketens als het vastleggen van CO<sub>2</sub>. Hier zijn planktonische microalgen samen met zeeijs-microalgen de belangrijkste producenten van organisch koolstof, die dan met name door herbivore kreeftachtigen worden begraasd, en vervolgens de hogere trofische niveaus voeden. Het is van essentieel belang om de consequenties van zowel directe als indirecte effecten van klimaatverandering op polaire mariene microbiële organismen te bepalen. Het is goed mogelijk dat de samenstelling van fytoplanktongemeenschappen verschuift naar minder voedzame soorten, of dat de “zwarte” microalgen (zoals kiezelalgen) die goed zinken na een bloei minder goed zullen groeien waardoor er minder CO<sub>2</sub> wordt vastgelegd. Daarom is het belangrijk om de huidige samenstelling van micro-eukaryoten (inclusief fytoplankton) en bacterioplankton gemeenschappen te beschrijven, waardoor er een referentie bestaat voor de voorspelde toekomstige warmere jaren.

Naast directe gevolgen bestaat er een hele reeks van indirecte gevolgen van de stijgende temperaturen. Ijskappen, gletsjers en zeeijs smelten sneller dan voorheen, waardoor de hoeveelheid smeltwater toeneemt en het zeeijs afneemt. Vanwege het relatief lage zoutgehalte van zeeijs en van gletsjers afkomstig smeltwater is de verwachting dat het zoutgehalte in polaire kustwateren gaat afnemen. Aangezien zoet water lichter is dan zout water kan er een zogenaamde gestratificeerde (gelaagde) waterkolom ontstaan. Organismen die dan in de bovenste waterlagen gevangen zitten moeten over voldoende flexibiliteit beschikken om in een waterlaag te leven met verlaagd zoutgehalte. Voor zo'n organisme betekent dit tergelijktijd blootgesteld worden aan meer licht; teveel licht kan het fotosynthese-apparaat van fytoplankton beschadigen waardoor ze minder hard groeien, CO<sub>2</sub> vastleggen en organisch koolstof maken.

Naast veranderingen in de blootstelling aan zichtbaar licht is er nog het jaarlijkse terugkerende ozongat, dat aan het eind van de winter, begin van het voorjaar het grootst is. Vooral in het zuidpoolgebied wordt de beschermende ozonlaag heel dun, waardoor er meer schadelijke UV-straling het aardoppervlak bereikt en dus ook in de waterkolom penetreert. Hier geldt dus ook dat organismen die in de bovenste lagen vastzitten aan meer UV straling zullen worden blootgesteld. Bovendien, door opwarming kan het zeeijs, dat normaal gesproken een fysisch beschermende deken vormt voor de algen in het voorjaar, eerder smelten. Hogere temperaturen leiden potentieel tot het vroeger optreden van algenbloeien. Hierdoor is de kans op blootstelling aan schadelijk UV-straling tijdens het ozongat verhoogd. Microalgen en bacteriën kunnen, net als wij, “zonnebrand” oplopen, maar sommigen hebben net iets meer of minder van een ingebouwde “UV-factor”. Dit zijn onder andere pigmenten die het UVR kunnen absorberen om de schade te beperken. Er geldt een vuistregel dat hoe kleiner je bent hoe minder beschermende pigmenten je zult hebben. Hierdoor zou je kunnen verwachten dat het kleinere bacterioplankton gevoeliger zal zijn voor UV-straling dan bijvoorbeeld grote microalgen, waardoor er verschuivingen in soortensamenstelling kunnen gaan plaatsvinden ten gevolge UVR.

**Dit Proefschrift:****POLAIRE MARIENE MICROBEN IN TIJDEN VAN KLIMAAT-VERANDERING**

Tijdens dit onderzoek heb ik gepoogd om zowel de natuurlijk samenstelling van mariene microbiële gemeenschappen uit verschillende polaire locaties te beschrijven, maar ook om de waargenomen patronen aan omgevingsfactoren te koppelen. Dit heb ik met name gedaan met behulp van moleculaire technieken. Voor het bacterioplankton heb ik het 16S rRNA gen bestudeerd en voor de micro-eukaryoten/fytoplankton het 18S rRNA gen. Door DGGE te gebruiken heb ik verschillen in microbiële gemeenschappen kunnen aantonen in relatie tot relevante omgevingsfactoren. Vervolgens heb ik de soortensamenstelling van deze polaire mariene microben onderzocht middels sequenzen.

Alle onderzocht polaire locaties waren wat betreft moleculaire beschrijving nog ongerept. Het betrof een locatie aan de Antarctisch oostkust: Prydz Bay (Davis Station, AAD) **Chapter 2 en 3**; een locatie aan het westelijk Antarctisch Schiereiland, Ryder Bay (Rothera Station, BAS) **Chapter 4**; en een Arctische locatie aan de westkust van Spitsbergen: Kongsfjorden en Krossfjorden (Koldeway Station, AWI) **Chapter 5**. De specifieke locaties zijn in figuur 1.5 door sterren aangeduid.

**UV STRALING EN VERSCHUIVINGEN IN POLAIRE MARIENE MICROBIËLE GEMEENSCHAPPEN (Prydz Bay, Antarctica)**

Data voor de micro-eukaryote gemeenschappen zijn in **Chapter 2** gepresenteerd en data voor de bacterioplankton gemeenschap in **Chapter 3**.

Beide studies zijn met dezelfde watermonsters uitgevoerd, die we van oktober 2002 tot januari 2003 uit Prydz Bay hebben gepompt. In totaal zijn vier monsters gebruikt om het verloop van micro-eukaryote en bacteriële gemeenschappen in het veld te bestuderen. Dezelfde monsters zijn gebruikt om een UV incubatie-experiment uit te voeren. Natuurlijke microbiële Prydz Bay gemeenschappen (kleiner dan 200 µm) zijn in zes 650L mesocosm vaten gepompt en vervolgens blootgesteld aan zes verschillende UV-omstandigheden. Door middel van filters is het natuurlijk zonlicht differentieel uitgedoofd van een lichtregime zonder UV-straling (alleen zichtbaar licht) tot veel UV-straling (UVR +ZL). De twee weken durende experimenten zijn vier keer herhaald. We hebben voor ieder experiment monsters op de eerste, zevende en laatste dag van het experiment geanalyseerd.

Uit onze analyses gepresenteerd in **Chapter 2** bleken de DGGE patronen van de veldmonsters, die voor de micro-eukaryote gemeenschap waren gegenereerd significant te veranderen. Verder bleek de factor UV-straling geen structurerend effect te hebben op de gemeenschap, in tegenstelling tot de incubatietijd die wel significant invloed had. Daarom suggereren onze experimenten dat natuurlijke UV-straling geen significant structurerend vermogen heeft op deze Antarctische micro-eukaryoten (dus hoofdzakelijk het fytoplankton).

Zoals beschreven in **Chapter 3** bleek het bacteriële gedeelte van de Prydz Bay mariene microbiële gemeenschap wel gevoelig te zijn voor UV straling. DGGE patronen die voor het bacterioplankton waren gegenereerd bleken significant gestructureerd te zijn door de factor incubatietijd, en in de helft van de experimenten gaf UV-straling ook significante verschillen.

Opvallend was een verlies aan diversiteit voor gemeenschappen na twee weken onder hoge UV straling. Onze experimenten laten zien dat UV-straling de potentie heeft om Antarctisch bacteriële gemeenschap subtiel te structureren.

### **PRYDZ BAY: SAMENSTELLING MICROBIËLE GEMEENSCHAPPEN**

DGGE patronen van de “ent”gemeenschappen van de incubatieexperimenten lieten een duidelijk tijdgebonden verloop zien in eukaryoten-samenstelling, die bevestigd werden door de sequentieresultaten (**Chapter 2**). In oktober was de gemeenschap zeer divers met kiezelalgen, dinoflagellaten, *Phaeocystis* sp. en diverse grazers. De twee volgende monsters uit november en december bleken te zijn verschoven naar een dinoflagellaten gedomineerde gemeenschap. Dit suggereert dat buiten de bloeiperioden dinoflagellaten een belangrijk rol kunnen vervullen in Antarctische kustwateren. Het laatste monster uit januari 2003 was kiezelalg (diatomeeën) gedomineerd en viel samen met het begin van de van de Antarctische voorjaarsbloeï.

Sequenties van de natuurlijke Prydz Bay bacterioplankton monsters onthulde een typisch mariene polaire gemeenschap (**Chapter 3**). In oktober en november was de gemeenschap gedomineerd door sequenties verwant aan de *Alpha*-, *Gamma-Proteobacteria* en *Cytophaga-Flavobacteria-Bacteroidetes* (CFBs) groepen. Daarna, in december en januari, vond een verschuiving plaats en werd de gemeenschap met name gedomineerd door sequenties verwant aan de CFBs. Het is wel bekend dat deze groep heel snel kan reageren op de toename van organisch koolstof, zoals die optreedt bij het ontstaan van een fytoplankton-bloeï. Dit laatste komt weer overeen met de geobserveerde verschuiving naar een diatomeeën gedomineerde gemeenschap in januari, op basis van de 18SrDNA data (**Chapter 2**). Tenslotte lieten microscooptellingen een biomassa toename zien in dezelfde december-januari monsters. Naast de al vaker beschreven kenmerkende groepen bleek Prydz Bay ook meerdere “zeldzame” bacteriële groepen te herbergen (*Delta-Proteobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia* en een “unclassified bacterium”).

### **WATER KOLOM STRATIFICATIE EN WINDDOORMENING, CONSEQUENTIES VOOR ANTARCTISCHE MARIENE MICROBEN (Ryder Bay, West Antarctisch Schiereiland)**

Moleculaire analyse van watermonsters die van januari tot maart 1998 in Ryder Bay, Antarctica, waren verzameld lieten een duidelijk successie in de micro-algen en bacteriële gemeenschap zien (**Chapter 4**). De 16S en 18S rDNA DGGEs onthulden beiden twee type patronen over de tijd, die overeenkomen met een periode van stratificatie gevolgd door een periode met meer wind waarbij meer menging van de waterkolom plaatsvond.

De stratificatieperiode werd gekenmerkt door weinig wind en een lage oppervlakte saliniteit: gemiddeld 31.2 psu. De tweede periode werd ingeleid door een dag met veel wind die direct een saliniteittoename veroorzaakte aan het oppervlak. In de dagen daarop hield de wind aan en bleef de saliniteit hoger met gemiddeld 32.4 psu, waardoor de waterkolom wind-gemengd bleef.

In de eerste periode bleken DGGE patronen van de oppervlakte en van 10 m diepte te verschillen voor wat betreft de micro-eukaryoten. Daarna verschoof het 18S rDNA DGGE

patroon direct ten gevolge van de verticaal menging, terwijl de bacteriën een tragere respons hadden. Dit suggereert dat bacteriën een secundaire respons vertoonden, nl. een respons op de verschuiving in de fytoplanktonsamenvatting. In de tweede periode waren de bandenpatronen op 0 en 10 m identiek ten gevolge van aanhoudend wind gedreven menging van de water kolom.

Clone library sequenzen van 16S en 18S rDNA fragmenten gaven ondersteuning voor het optreden van twee afgebakende periodes. Opmerkelijk was een verschuiving binnen de diatomeeën van een *Actinocyclus* sp. naar een *Thalassiosira* sp. gedomineerde gemeenschap. Deze verschuiving was tot dan toe onopgemerkt gebleven, omdat de eerder gebruikte specifieke pigmentanalyse, geen onderscheid kan maken tussen soorten binnen dezelfde algenklasse. Hiermee werd aldus nogmaals het waardevolle oplossend vermogen van moleculaire methoden aangetoond. Verder bleek de samenstelling van de bacterioplanktongemeenschap ook de twee periodes te weerspiegelen, met een initiële dominantie van *Alpha-en Gamma-Proteobacteria* gevolgd door *CFBs*.

Uit de resultaten van **Chapter 4** blijkt al met al dat de status van de waterkolom, in ons geval gestratificeerd versus doormengd, direct een effect heeft op de micro-eukaryote gemeenschap terwijl bacteriën een secundaire respons vertonen. Klimaatmodellen voorspellen hogere temperaturen en een toename in het smelten van gletsjers en zeeijs waardoor stratificatie vaker zal optreden rond het West Antarctisch Scheiland. Dit heeft dus de potentie om ingrijpende verschuivingen in de microbiële gemeenschappen te veroorzaken.

## **ARCTISCHE FJORDEN, SMELTENDE GLETSJERS EN MICROBIËLE GEMEENSCHAPPEN (Kongsfjorden-Krossfjorden, Spitsbergen)**

Kongsfjorden en Krossfjorden zijn twee semi-open fjorden gesitueerd aan de westkust van Spitsbergen (figuren 1.5a en 5.1). Aan de oceaanzijde worden ze door de relatief warme, getransformeerde Atlantische stroom beïnvloed, terwijl ze aan de binnenkant van de fjord vooral door gletsjer-smeltwater beïnvloed worden.

Getransformeerd Atlantisch water stroomt noordwaarts langs het westen van Spitsbergen (West Spitsbergen Current) en transporteert warm en zout water naar de fjorden toe. Dit zorgt voor een relatief mild klimaat op 79°N breedtegraad met gemiddeld hogere temperaturen die vervolgens het gletsjer smelten versterken. Versterkt afsmelten van gletsjers wordt door klimaatmodellen ook voor andere polaire locaties voorspeld. Mede daarom worden deze fjorden gezien als natuurlijk modellen voor het bestuderen van de effecten van klimaatverandering.

Beide fjorden worden gevoed door meerdere gletsjers. Vooral in de zomermaanden vindt er een sterke toename in de instroom van smeltwater plaats. Dit voedt de fjorden met zoet water verrijkt in sedimenten. Hierdoor ontstaat er een gestratificeerde waterkolom, met aan het oppervlak een troebele zoete laag. Deze veranderde fysische factoren hebben direct gevolgen voor microbiële organismen boven in de waterkolom, maar ook voor microorganismen in diepere waterlagen. Hier dringt namelijk veel minder licht door als gevolg van de licht-uitdoving door de sedimentdeeltjes in het oppervlak.

In **Chapter 5** hebben we met behulp van moleculaire technieken (DGGE, clonen en sequenzen) de samenstelling van de mariene microbiële gemeenschappen aan de oppervlakte bestudeerd tijdens de periode waarin smeltwater in de fjorden toenam, dus begin van de zomer.



We hebben over de periode van een maand een locatie in Kongsfjorden (TS, Figuur 5.1.) bestudeerd om de variatie over de tijd te determineren. Daarnaast hebben we de gemeenschappen van beiden fjorden met elkaar vergeleken. Uiteindelijk hebben we bepaald welke omgevingsfactoren correleerden met de waargenomen verschuivingen.

Uit de temporele studie bleek de micro-eukaryoten gemeenschap weinig te veranderen over de tijd, terwijl het bacterioplankton wel verschuivingen vertoonde. Deze verschuivingen vonden plaats in een periode van verlaagde saliniteit en verhoogde sedimenthoeveelheid, gerelateerd aan de toename van smeltwater.

Voor de geografische studie werden verschillende locaties in de fjorden en twee zoetwater locaties (smeltwater rivieren) gemonsterd. DGGE bandenpatronen onthulden duidelijk verschillen tussen de Kongsfjorden en Krossfjorden, voor zowel de micro-eukaryoten als de bacteriën. Verder bleken de zoetwatermonsters duidelijk een aparte gemeenschap te herbergen.

Door middel van sequenzen werd de eerste moleculaire beschrijving van de Kongs-Krossfjorden microbiële gemeenschap gegenereerd. De micro-eukaryote gemeenschap was voornamelijk door dinoflagellaten gedomineerd. Opmerkelijk was het ontbreken van voor dit gebied typisch mariene fytoplanktonsoorten zoals diatomeeën en *Phaeocystis* sp. De afwezigheid deze soorten kon veroorzaakt zijn doordat essentiële nutriënten al uitgeput waren door de afgelopen voorjaarsbloei, of doordat deze typische mariene soorten de zoetere oppervlaktelaag vermijden en zich dieper in de waterkolom moesten handhaven.

Voor de bacteriën bleken de typisch mariene polaire groepen aanwezig te zijn in de zoutwatermonsters, zoals *Alpha-*, *Gamma-Proteobacteria* en CFBs. Daarnaast zijn er sequenties gevonden van “a-typische” soorten, zoals *Beta-Proteobacteria*, die normaliter typische zoetwatersoorten omvatten. In dit geval waren onze sequenties het meest verwant aan sequenties die eerder waren beschreven in monsters die uit sub-glaciaire stromen waren genomen. Onze bevindingen gaven aldus aan dat smeltwater van de omringende gletsjers de bron kan zijn voor niet-mariene soorten.

Analyse van de omgevingsfactoren bevestigde ook de rol van smeltwater: de factor saliniteit was significant verantwoordelijk voor een deel van de geobserveerde verschuivingen in DGGE patronen. Bovendien correleerde de factor sediment index met het verschijnen of verdwijnen van DGGE banden uit de temporele monsters.

Zowel de toename in zoetwaterinstroom als het toename in sedimentdeeltjes worden reeds gemeten ten gevolge van verhoogde temperaturen in sommige polaire gebieden. Uit onze data blijken beide factoren belangrijk te zijn in het structureren van mariene microbiële gemeenschap. Het waarnemen van “niet-mariene” bacteriële soorten in onze zoutwater locaties in de fjorden suggereert dat gletsjerwater de potentie heeft om een bron te zijn van nieuwe soorten.

## CONCLUSIES

De moleculaire beschrijving van alle onderzochte polaire locaties liet de aanwezigheid van typisch mariene bacteriële groepen zien. Soms werden deze groepen aangevuld met atypische of zeldzame soorten, al of niet ten gevolge van specifieke abiotische factoren. Wat betreft de micro-eukaryoten waren in de meeste gevallen diatomeeën zeldzaam in onze monsters,

waarschijnlijk omdat onze monsters niet tijdens de voorjaarsbloei waren genomen. In die monsters bleken dinoflagellaten vaak dominant te zijn, wat suggereert dat deze groep een belangrijke rol vervult in de microbiële voedselketen buiten de periode van grote primaire productie. De groep van de dinoflagellaten bevat, naast fotosynthetiserende vertegenwoordigers, soorten die op bacteriën of andere micro-eukaryoten kunnen grazen. Hiermee vervullen zij een mineraliserende rol. Sommigen zijn ook in staat om tussen fototrofie en heterotrofie (grazen) te wisselen (mixotrofie). Het lijkt dat deze flexibiliteit en groot voordeel oplevert in polaire wateren, zoals ook elders aangetoond.

Een belangrijk gevolg van klimaatverandering en temperatuurstijging is het versneld smelten van gletsjers en zeeijs. Tijdens de toename van smeltwater in het mariene milieu kunnen twee situaties ontstaan.

(1) Het eerste scenario betreft het smelten van zeeijs (Arctisch ijskap) en niet gegronde gletsjers (inclusief ijsbergen) die dus een waterkolomstratificatie veroorzaken, waarbij het oppervlak waterlaag helder blijft. Hierbij ontstaat een situatie van verhoogd zichtbaar licht en UV straling voor microbiële organismen die gevangen worden in de bovenste waterlaag. In **Chapter 4** bleken eukaryoten en bacteriën in de bovenste meters te kunnen verschillen van de gemeenschap een paar meters dieper, waarbij de eukaryoten gemeenschap direct veranderde ten gevolge van stratificatie versus menging, terwijl de bacteriën op de micro-eukaryoten verschuiving leken te reageren. Uit het eerder werk gepresenteerd in **Chapter 3** bleek verhoogd UV-straling wel degelijk een vormgevend effect te kunnen hebben op de bacteriële fractie van de gemeenschap.

Hieruit kunnen we dus concluderen dat in een gestratificeerd systeem zonder verhoogde lichtuitdoving de micro-eukaryoten direct zullen reageren op de stratificatie, terwijl de bacteriën een secundaire respons zullen hebben en vervolgens ook te lijden zullen hebben van de verhoogd UV-straling.

(2) In een tweede stratificatie scenario is er toename van smeltwater verrijkt in sediment, waardoor er een troebele oppervlakte stratificatie ontstaat. Stratificatie heeft hier vermoedelijk ook een direct effect op de micro-eukaryote gemeenschap en een secundaire effect op de bacteriën (**Chapter 4**). Daarnaast blijken bacteriën te veranderen ten gevolge van sedimentverrijking, mogelijk door het instromen van nutriënten afhankelijk van de geochemische eigenschappen van het sedimenten, of door een verrijking aan soorten die aan de sedimentdeeltjes vastzitten (**Chapter 5**). Sediment deeltjes en het smeltwater zullen daarbij vermoedelijk een bron worden van niet-inheemse bacteriële soorten en mogelijk micro-eukaryoten soorten.

In conclusie kan er gesteld worden dat een toename in smeltwater een significante sturing zal geven op polaire microbiële gemeenschappen. Toekomstig onderzoek zou zich echter tevens moeten richten op productiemetingen, om de bepalen of de efficiëntie van fytoplankton productie en bacteriële productie hierdoor nadelig wordt beïnvloed. Gezien de essentiële rol van deze microscopische organismen is het verder uitbouwen van dit onderzoek van groot belang om goede voorspellingen te kunnen maken van de gevolgen van klimaatverandering voor CO<sub>2</sub> opname, de koolstofcyclus en voedselketens in polaire kustgebieden.

