



UNIVERSITY OF AMSTERDAM

UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Shades of red and green : the colorful diversity and ecology of picocyanobacteria in the Baltic Sea

Haverkamp, T.H.A.

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Haverkamp, T. H. A. (2008). Shades of red and green : the colorful diversity and ecology of picocyanobacteria in the Baltic Sea. Yerseke: Netherlands Institute of Ecology (NIOO) - Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences.

General rights

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), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

UvA-DARE is a service provided by the library of the University of Amsterdam (<http://dare.uva.nl>)

Chapter 8

Samenvatting

Aquatische ecosystemen kenmerken zich door een gelijkmatig milieu, zonder veel ruimtelijke variatie of heterogeniteit. Desondanks is de soortenrijkdom van het fytoplankton verbazingwekkend groot. Omdat al deze soorten wedijveren om de spaarzaam aanwezige voedingsbronnen zou je verwachten dat er maar enkele soorten over zullen blijven. Dit blijkt echter niet het geval. Het onderzoek in dit proefschrift beschrijft hoe de diversiteit van fytoplanktonsoorten wordt beïnvloed door de kleur van het licht onder water. Dit onderzoek richtte zich met name op cyanobacteriën, een soortenrijke groep van oxygene fototrofe micro-organismen uit het fytoplankton van de Oostzee.

In hoofdstuk 2 wordt het onderzoek beschreven van de verdeling van rood en groen gekleurde picocyanobacteriën in relatie tot de lichtcondities in aquatische ecosystemen. Het was al bekend dat rode en groene picocyanobacteriën in wit licht kunnen co-existeren, doordat ze elk een ander deel van het lichtspectrum gebruiken. Verder is onder groen licht de rode soort in het voordeel, terwijl onder rood licht de groene soort in het voordeel is. Op basis van dit gegeven werd een wiskundig competitie-model ontwikkeld dat de co-existentie van rode en groene picocyanobacteriën verklaart als functie van het onderwater lichtspectrum in meren en zeeën. Om dit model te testen werden van 70 verschillende ecosystemen de samenstelling van groene en rode picocyanobacteriën gemeten. Deze ecosystemen varieerden van de open oceaan tot zeer troebele ondiepe meren. Zoals verwacht kwamen de rode picocyanobacteriën vooral in helder water voor terwijl de groene picocyanobacteriën het troebele water domineren. In aquatische systemen met een middelmatig doorzicht co-existeren de rode en groene picocyanobacteriën. Deze resultaten ondersteunen de hypothese dat niche differentiatie met betrekking tot het licht spectrum de diversiteit van het fytoplankton kan bevorderen. Dit is een nieuwe kleurrijke oplossing voor de planktonparadox van Hutchinson.

Hoofdstuk 3 beschrijft de verdeling en de diversiteit van de verschillende gepigmenteerde pico-cyanobacteriën in de Oostzee. In alle monsters van de Oostzee werd co-existentie van rode en groene picocyanobacteriën gevonden. De diversiteit en de fylogenetische relaties tussen de rode en groene picocyanobacteriën werden geanalyseerd aan de hand van drie verschillende genen: het 16S rRNA-ITS, het *cpeBA* operon (coderend voor het rode pigment phycoerythrine (PE)), en het *cpcBA* operon (coderend voor het blauwe pigment phycocyanine (PC)). De analyse van de sequenties van 209 klonen liet zien dat de picocyanobacteriën van de Oostzee een grote microdiversiteit vertoont. Sequenties van de *cpcBA* en *cpeBA* operons onthulden twee duidelijk verschillende fylogenetische taxa van picocyanobacteriën. Het ene taxon omvat voornamelijk sequenties afkomstig van PC-rijke (groene) picocyanobacteriën, terwijl het andere taxon voornamelijk sequenties omvat van PE-rijke (rode) pico-cyanobacteriën. Er werd nog een derde taxon gevonden van PE-rijke, phycourobiline (PUB) producerende picocyanobacteriën, maar in de kloombibliotheek van de Oostzee werden geen sequenties aangetroffen die tot dit derde taxon behoren. Deze resultaten verschillen met de voorheen gepubliceerde fylogenetische stambomen die gebaseerd zijn op het 16S rRNA gen. Dus de resultaten laten zien dat *Synechococcus* op basis van de pigmentsamenstelling onder te verdelen is in drie verschillende afstammingslijnen die ieder een verschillende ecologische niche in het onderwater licht spectrum innemen. Deze

verschillende taxa kunnen co-existeren als het onderwater licht spectrum de absorptie spectra van de verschillende pigmenten bestrijkt.

Het onderzoek in hoofdstuk 4 beschrijft de isolatie van 46 stammen van picocyanobacteriën uit de Oostzee. Deze stammen variëren aanzienlijk met betrekking tot hun pigmentatie. Verder vertonen ze verschillen met betrekking tot hun celvolume en hun voorkeur voor ammonium of nitraat als stikstofbron. Het grootste deel had een vrijwel identiek 16S rRNA-ITS dat overeenkomt met *Synechococcus* WH5701. Ondanks de vrijwel identieke 16S rRNA-ITS, konden deze stammen onderscheiden worden in verschillende clusters op basis van de sequenties van het phycocyanine (*cpcBA*) operon. Deze onderverdeling komt overeen met de pigmentatie van die clusters. Het merendeel van de PC-rijke stammen clusteren fylogenetisch met *Synechococcus* WH5701. Onverwacht was daarentegen, dat de PE-rijke stammen een niet eerder gevonden cluster vormen binnen de fylogenie van het *cpcBA* (phycocyanine) operon die niet nauw gerelateerd is aan andere PE-rijke clusters. Een gedetailleerde analyse van het *cpcBA* operon met een neighbour-net analyse liet zien dat deze PE-rijke stammen waarschijnlijk endemisch zijn voor de Oostzee. Vergelijking van de fylogenetische stambomen van het 16S rRNA-ITS, het *cpcBA* operon en de gecombineerde 16S rRNA-ITS en *cpcBA* operon sequenties suggereert dat er horizontale gentransfer heeft plaatsgevonden tussen de verschillende *Synechococcus* clusters. De resultaten laten zien dat microdiversiteit belangrijk is voor de *Synechococcus* populaties omdat de verschillende fenotypes mogelijk een verschillende ecologische rol hebben. Deze verschillende fenotypes kunnen dan ook als ecotypes worden aangemerkt.

Het onderwerp van hoofdstuk 5 is de isolatie en de diversiteit van verschillende *Pseudanabaena* stammen uit twee niet geografisch verbonden ecosystemen. *Pseudanabaena* is een weinig bestudeerde, draadvormige cyanobacterie die nauw verwant is met *Limnothrix*. Omdat de trichomen van *Pseudanabaena* erg dun zijn vallen deze cyanobacteriën meestal weinig op tijdens het bestuderen van de grotere soorten van een bloei, terwijl ze toch in grote aantallen kunnen voorkomen. Tijdens deze studie zijn 28 *Pseudanabaena* stammen geïsoleerd uit de Oostzee en uit de Albufera de Valencia (Spanje). De fylogenie, diversiteit, biogeografie en de evolutionaire diversificatie van de isolaten is onderzocht met behulp van fenotypische en genotypische methodes. Analyse van de *in vivo* absorptie spectra van de *Pseudanabaena* stammen liet zien dat er twee co-existerende pigment fenotypes zijn: (i) stammen die alleen PC bevatten, en (ii) stammen die zowel PC en PE bevatten. De stammen met het tweede fenotype waren allemaal in staat tot complementaire chromatische adaptatie (CCA). Door CCA kan een organisme zijn pigmentensamenstelling aanpassen aan de kleur van het licht waardoor optimaal gebruik kan maken van de beschikbare lichtenergie.

De verschillende *Pseudanabaena* stammen werden op meerdere loci genetisch vergeleken. De loci die werden geanalyseerd waren de 16 en 23S rRNA genen, de ribosomale transcribed spacer ITS-1, de *cpcBA* operon en de intergenic spacer (IGS) die tussen de *cpcA* en *cpcB* ligt. Verder werd op de aanwezigheid van het *nifH* gen gecontroleerd. *NifH* codeert voor nitrogenase reductase, één van de enzymen die het N₂-fixerende enzymcomplex nitrogenase vormt. Analyse van de ITS en de *cpcBA*-IGS sequenties liet een grote microdiversiteit van de *Pseudanabaena* isolaten zien. Deze multi-locus analyse onthulde specifieke clusters voor de Oostzee en voor de

Albufera de Valencia, terwijl er ook een cluster is met stammen uit beide ecosystemen. Deze laatste groep bestond alleen uit CCA fenotypes. De fylogenetische stambomen van de 16S en de 23S rRNA genen zijn consistent, maar de analyse van de andere loci liet zien dat er een verlies van de substructuur van de fylogenie optreedt, hetgeen een aanwijzing is voor recombinatie van de verschillende loci. De populatie genetische analyses van de *cpcBA* genen bij *Pseudanabaena* geven aan dat de diversificatie plaats heeft gevonden via 'zuiverende selectie'.

De resultaten in dit proefschrift leiden tot de conclusie dat er onder de picocyanobacteriën van de Oostzee een grote genetische diversiteit aanwezig is die de basis vormt voor een indrukwekkende variatie in fysiologische en morfologische kenmerken. Deze diversiteit stelt cyanobacteriën in staat om de zeer verschillende ecologische niches succesvol te bezetten. In dit proefschrift is gekeken naar de kleur van het licht als een factor die niches in pelagische ecosystemen definieert. De verschillende fotosynthese pigmenten en de adaptatie ten aanzien van de kleur van het licht stellen cyanobacteriën in staat deze niches te bezetten. Als gevolg daarvan hebben picocyanobacteriën met de pigmenten PC en PE verschillende verdelingen in ecosystemen, gerelateerd aan de kleur van het licht.

De fylogenie van het 16S rRNA gen brengt deze verschillend gekleurde picocyanobacteriën samen in één groep of cluster. Dit doet echter geen recht aan hun verschillende functie in het ecosysteem. De fylogenie van de functionele genen voor de PE en PC eiwitten scheiden de cyanobacteriën wel in verschillende functionele clusters. De niet-coderende sequenties van *Pseudanabaena* konden gebruikt worden voor het onderscheid tussen endemische en kosmopolitische clusters. Tot nu toe is de hoeveelheid ecologisch relevante data te beperkt om de ecologische rol en de dispersie capaciteiten van de verschillende *Pseudanabaena* geotypes volledig te begrijpen, en we weten nog niet precies wat de basis is van hun succes in het bijzonder in zoetwater ecosystemen.

Samenvattend laten de resultaten van dit proefschrift zien dat snel evoluerende genen in staat zijn om verschillende ecotypes te vormen die gekoppeld zijn aan een niche differentiërende factor, zoals de kleur van licht. Een cruciale stap in dit onderzoek was dat de DNA sequenties van functionele genen werden onderzocht (dus niet alleen het 16S rRNA), en dat deze sequenties gerelateerd konden worden aan de relevante fenotypische eigenschappen van opgekweekte stammen. Het analyseren van DNA dat rechtstreeks uit het milieu is geëxtraheerd, kan alleen vragen beantwoorden over de ecologie en de diversiteit van micro-organismen, wanneer deze DNA sequenties gekoppeld kunnen worden aan organismen waarvan de genetische, fysiologische en morfologische eigenschappen bekend zijn. In het algemeen betekent dit dat micro-organismen geïsoleerd moeten worden en in het laboratorium gekweekt en onderzocht op hun eigenschappen.

