

SSD

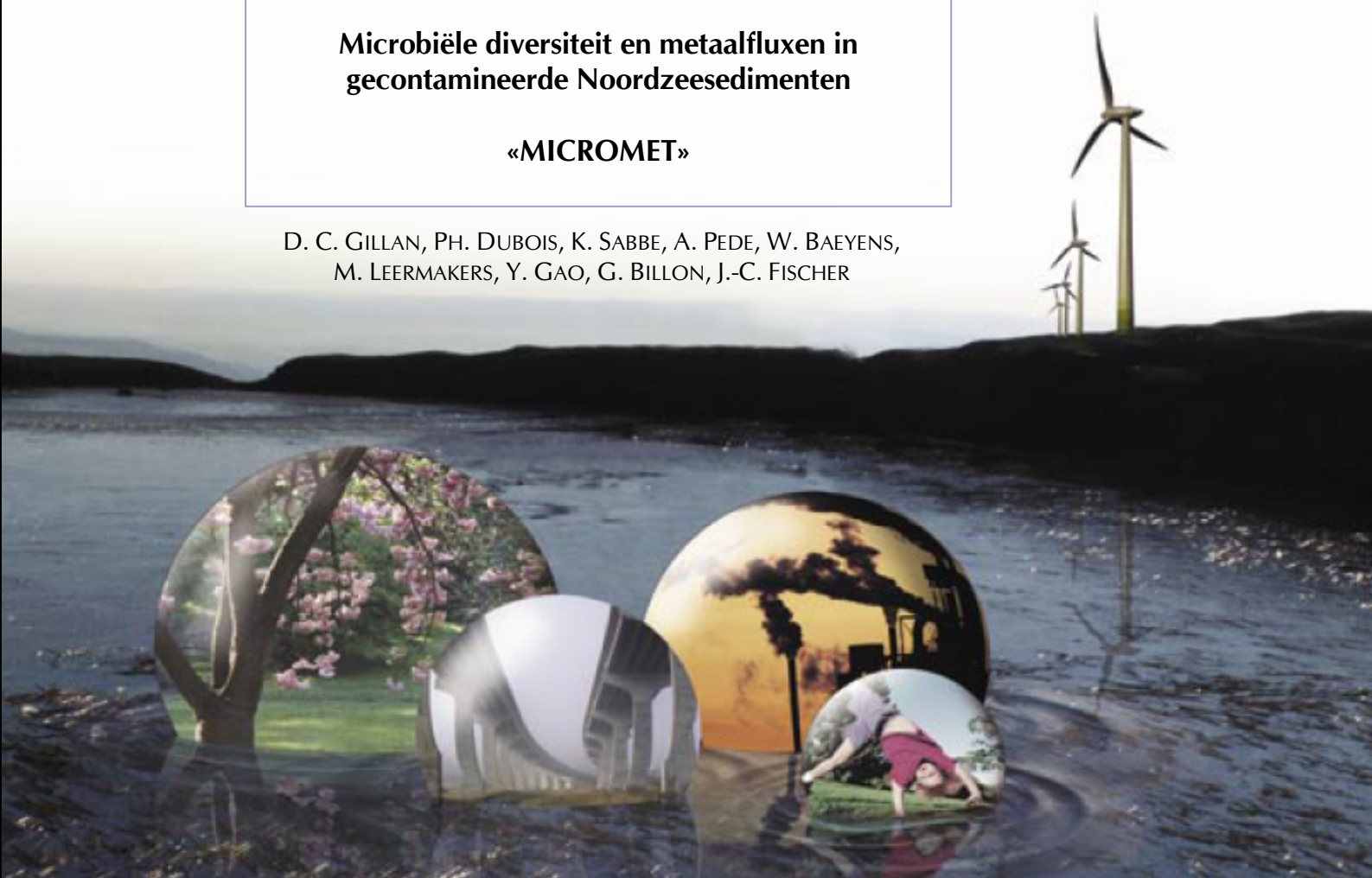
SCIENCE FOR A SUSTAINABLE DEVELOPMENT



Microbiële diversiteit en metaalfluxen in gecontamineerde Noordzeesedimenten

«MICROMET»

D. C. GILLAN, PH. DUBOIS, K. SABBE, A. PEDE, W. BAEYENS,
M. LEERMAKERS, Y. GAO, G. BILLON, J.-C. FISCHER



ENERGY 

TRANSPORT AND MOBILITY 

AGRO-FOOD 

HEALTH AND ENVIRONMENT 

CLIMATE 

BIODIVERSITY 

ATMOSPHERE AND TERRESTRIAL AND MARINE ECOSYSTEMS 

TRANSVERSAL ACTIONS 



Noordzee



EINDVERSLAG FASE I
SAMENVATTING

**Microbiële diversiteit en metaalfluxen in gecontamineerde
Noordzeesedimenten**

“MICROMET”

SD/NS/04A

Promotoren

David C. Gillan & Philippe Dubois

Université Libre de Bruxelles (ULB)
Laboratoire de Biologie marine, CP160/15
50 av Roosevelt
1050 Bruxelles

Koen Sabbe

Universiteit Gent
Protistology & Aquatic Ecology
Dept. Biology, Krijgslaan 281, S8
9000 Ghent

Willy Baeyens & Martine Leermakers

Vrije Universiteit van Brussel (VUB)
Department of Analytical and Environmental Chemistry (ANCH), ,
Pleinlaan 2
1050 Bruxelles

Jean-Claude Fischer

Université des Sciences et Technologies de Lille, USTL,
Géosystèmes, UMR 8157,
Bâtiment C8, 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex
France.

Auteurs

David C. Gillan (ULB)

Koen Sabbe & Annelies Pedé (UGent)

Willy Baeyens & Yue Gao (VUB)

Gabriel Billon & Ludovic Lesven (USTL)



BELGIAN SCIENCE POLICY



Rue de la Science 8
Wetenschapsstraat 8
B-1000 Brussels
Belgium
Tel: + 32 (0)2 238 34 11 – Fax: + 32 (0)2 230 59 12
<http://www.belspo.be>

Contact person: David Cox
+ 32 (0)2 238 34 03

Neither the Belgian Science Policy nor any person acting on behalf of the Belgian Science Policy is responsible for the use which might be made of the following information. The authors are responsible for the content.

No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without indicating the reference :

David C. Gillan, Philippe Dubois, Koen Sabbe, Annelies Pede, Willy Baeyens, Martine Leermakers, Yue Gao, Gabriel Billon, Jean-Claude Fischer. ***Microbiële diversiteit en metaalfluxen in gecontamineerde Noordzeesedimenten "MICROMET"***. Eindverslag Fase I Samenvatting. Brussel : Federaal Wetenschapsbeleid 2009 – 5 p. (Onderzoeksprogramma "Wetenschap voor een Duurzame Ontwikkeling")

Omdat organisch materiaal in vervuilde mariene sedimenten met heel wat giftige metalen complexeert, kunnen er bij de afbraak van dat organisch materiaal door micro-organismen zware metalen in de waterkolom vrijkomen. Dit fenomeen kan de microbiële biodiversiteit beïnvloeden en kan leiden tot accumulatie van metalen in hogere trofische niveaus. Tot nog toe is er heel weinig geweten over micro-organismen in mariene sedimenten van het Belgische Continentale Plat (BCP), vooral in zones die door zware metalen zijn vervuild. Het MICROMET-project sluit aan op twee prioritaire onderzoeks domeinen van het programma Wetenschap voor een Duurzame Ontwikkeling (Biodiversiteit en Mariene Ecosystemen) en heeft rechtstreeks te maken met de prioriteiten van de Kaderrichtlijn Water (2000/60/EG).

Met het MICROMET-project willen onderzoekers een betere kijk krijgen op het verband tussen de activiteiten van micro-organismen en de fluxen van zware metalen in mariene sedimenten. Hiervoor bestuderen ze volledige microbiële gemeenschappen in de BCP-zone via een interdisciplinaire aanpak waarbij ze zowel microbiologische als geochemische methodes toepassen. Het onderzoek omvat drie grote delen (WP 1-3). In het eerste deel (WP 1) bepalen onderzoekers de metaalcontaminanten en de microbiële diversiteit in de sedimenten. In het tweede deel (WP 2) gaan ze na welke rol de micro-organismen spelen bij het vrijzetten van metaalcontaminanten in de waterkolom. In het derde deel (WP 3) ontwikkelen de vorsers numerische modellen met de gegevens die ze tijdens het project hebben verzameld. Zo kunnen ze voorspellingen doen en krijgen ze een betere kijk op de benthische ecosystemen.

Fase I van het MICROMET-project betreft uitsluitend deel WP 1. Gedurende het eerste jaar (2007) heeft men negen stations van het BCP onderzocht: 120, 130, 140, 230, 330, 435, 700, DCG en ZG03 (de gegevens vindt u terug op de MICROMET-website <http://ulb.ac.be/sciences/micromet>). Voor (in februari) en na (in juli) de grote fytoplanktonbloei heeft men stalen van de sedimenten genomen. Met de DGGE-techniek werd de microbiële diversiteit vastgesteld. De biomassa werd met DAPI-tellingen berekend. Er werden reïnculturen van micro-organismen gekweekt en de geochemische eigenschappen van het sediment werden bepaald (Eh, pH, DGT-sulfiden, AVS & CRS, granulometrie, SEM - simultaneously extracted metals). De concentraties zware metalen in het poriewater werden *in situ* bepaald met de DET- (Diffusive Equilibrium in Thin films) en DGT-techniek (Diffusive Gradients in Thin films). Tijdens het tweede jaar (2008) werden elke maand 2 stations (130 en 700) gevolgd om rekening te kunnen houden met de verschillende sedimentgehalten in organisch materiaal. Naast DGGE werden ook ribosoom-RNA-fragmenten (SSU) gesequeneerd om een betere kijk te krijgen op de diversiteit en de fysiologie van de aanwezige micro-organismen.

Uit de eerste resultaten blijkt dat de onderzochte stations op het BCP in drie groepen kunnen worden ingedeeld: zandige stations met een gemiddelde korrelgrootte van 400 micron (groep I: DCG, 330 en 435), zandige stations met een gemiddelde korrelgrootte van 200 micron (groep II: 120, 230 [behalve 0-1 cm] en ZG03) en modderige stations met een gemiddelde korrelgrootte van 12,5 micron (groep III: 130, 140 en 700).

Bij de sedimenten van groep I valt de hoge zuurstofpenetratie op. Dit is waarschijnlijk te wijten aan de kleine hoeveelheid organisch materiaal en de geringe biologische beschikbaarheid ervan op het grensvlak tussen water en sedimenten. Zuurstof en sulfaten zijn nauwelijks gereduceerd en slechts kleine hoeveelheden CRS werden gedetecteerd. De SEM-waarden liggen heel laag.

Bij de sedimenten van groep III wordt alle zuurstof volledig verbruikt in de eerste millimeters en dalen de Eh-waarden tot -200 mV in de eerste centimeters. De aanwezigheid van opgeloste en vaste sulfiden wijst op activiteit van sulfidenreducerende bacteriën, vooral in de eerste centimeters van de sedimentlaag.

De concentraties Pb, Cu en Zn van de SEM zijn doorgaans meer dan 10 keer lager dan de AVS, wat erop wijst dat sulfaten de aanwezige metalen binden. De DET- en DGT-analyses wijzen echter op de aanwezigheid van metaalcontaminanten in het poriewater van deze stations die in de waterkolom kunnen vrijkomen. Bij de sedimenten van groep II wordt de zuurstof in de eerste centimeters verbruikt; de Eh-waarden nemen trager af dan bij de modderige stations.

Uit de gegevens van februari 2007 blijkt dat de soortenrijkdom aan eubacteriën toeneemt vanaf de kust (sedimenten groep III) naar de open zee (sedimenten groep I), zeker wanneer de DGGE-resultaten per eenheid biomassa worden gestandaardiseerd. Zelfs zonder deze standaardisatie valt op dat de brutodiversiteitswaarden nooit laag uitvallen voor de stations in de open zee, zoals DCG en 435 (altijd meer dan 16 DGGE-banden), en dat de laagste waarden (6 DGGE-banden) altijd in kuststations worden genoteerd. Met de PCR-methode werden in de kuststations ook geen 16S rRNA-archebacteriën gesequeneerd, terwijl in stations die ver uit de kust liggen, zoals DCG en 435, heel wat archebacteriën werden gesequeneerd. Deze afname van de biodiversiteit in sedimenten van kustgebieden van het BCP werd ook vastgesteld in andere studies over andere groepen, zoals nematoden en copepoda harpacticoida (zie Vincx 1990). Soms liggen de waarden voor bacteriologische biodiversiteit in kuststations hoog (zoals in februari 2007 in station 120 en in juli 2007 in het gecontamineerde station 130). Dit toont aan dat de toestand heel wat complexer is dan gedacht en dat de vastgestelde trend niet geldt voor alle soorten sedimenten en/of voor elke periode van het jaar.

Hoewel fase II van het project hierover pas echt uitsluitsel kan bieden, zou de afname van de biodiversiteit die in februari 2007 werd vastgesteld, het gevolg kunnen zijn van hoge concentraties metaalcontaminanten en metalloïden - vooral arsenicum - in het poriewater. Dit blijkt uit de DET- en DGT-analyses. Uit multivariate analyses van de DGGE-gegevens van de eukaryote micro-organismen in 2007 blijken duidelijke wijzigingen in de samenstelling van de gemeenschap naargelang het soort sediment (groepen I-III). Hoewel de DGGE-gegevens van de eukaryote micro-organismen niet werden gestandaardiseerd in verhouding tot de biomassa, lijken er geen grote verschillen te bestaan tussen de sedimenten uit de groepen I en III.

Met de gegevens uit 2007 en 2008 kunnen we besluiten dat de microbiële biodiversiteit die via de DGGE-aanpak is gemeten, geen variabele is die gemakkelijk in correlatie kan worden gebracht met de milieuvariabelen die deze studie onderzoekt. Dit kan te wijten zijn aan de heel lange blootstelling van de gemeenschappen aan metalen in de kustzones. De huidige gemeenschappen hebben zich waarschijnlijk aangepast aan een omgeving met heel hoge metaalconcentraties. Dit kan de grote biodiversiteitswaarden verklaren die in juli 2007 in de vervuilde sedimenten van station 130 werden genoteerd. Een gelijkaardige vaststelling is eerder gebeurd bij de microbiële gemeenschappen die in de mariene sedimenten van de Noorse Sør fjord leven. Deze sedimenten zijn meer dan 80 jaar blootgesteld aan hoge concentraties Cd en Zn (Gillan et al. 2005).

De bacteriële biomassa is dan weer wel een variabele die wijst op hoge en relevante correlaties met bepaalde milieuvariabelen en vooral met opgelost Mn, Fe en As. Dit is niet verwonderlijk, want deze metalen kunnen naargelang hun oxidatiegraad als elektronendonor of -acceptor fungeren. De bacteriële biomassa wijst ook op een duidelijke correlatie met de chlorofyl-a-concentratie in de sedimenten. Dit kan worden verklaard door de snelle verspreiding van bacteriën op de fototrope eukaryote micro-organismen in ontbinding (diatomeeën en *Phaeocystis*).

De sequenering van de 16S rRNA-fragmenten (stalen van februari 2007) wijst op de aanwezigheid van 5 tot 10 grote groepen eubacteriën in de onderzochte BCP-sedimenten (DCG, 435, 130 en 700). In de 4 onderzochte stations zijn drie grote groepen aanwezig (γ -proteobacteriën, δ -proteobacteriën en CFB-bacteriën). De acidobacteriën zijn in de meeste stations goed voor 2,6 tot 14,6% van de klonen. Wat de eukaryote micro-organismen betreft, heeft de DGGE op basis van de 18S rRNA-fragmenten en de klonenbibliotheek van februari 2007 een verrassende diversiteit aan microbiële eukaryoten aan het licht gebracht. Het ging vooral om diatomeeën (stramenopila), niet-geïdentificeerde eukaryote micro-organismen, fungi, maar ook om protozoën en microalgen uit andere groepen. De DGGE-procedure omvatte ook heel wat sequenties metazoën. Door het gebruik van sequentiespecifieke PCR-primers voor protozoën (cercozoa en kinetoplastiden) konden de aanwezige eencelligengemeenschappen veel gedetailleerder worden geïdentificeerd.

De DET-/DGT-aanpak leverde hoge resolutieprofielen op van spoormetalen in de sedimenten. De spoormetalen vertoonden een variabel geochemisch gedrag in de sedimenten, wat bevestigt dat de hermobilisatie op verschillende diepten plaatsvindt. In de loop van 2007 en 2008 werden seizoensgebonden variaties in de spoorelementen (Mn, Fe, As) vastgesteld. Hoewel de variaties in de concentratie zuurstof en redoxpotentieel de meeste processen kunnen verklaren, moet het aandeel van de micro-organismen in dit seizoensgebonden fenomeen nog worden bepaald (fase II). In het poriewater van stations 130 en 700 vindt blijkbaar geen afname van spoorelementen plaats. De fluxberekeningen op basis van de DGT-profielen tonen aan dat elementen zoals Mn, Fe, Co, As en Ni zich buiten de sedimenten in de waterkolom kunnen verspreiden. Dit is op zijn minst het geval in station 130. De fluxberekeningen op basis van de 'DGT-sonde'-methode bevestigen dat metaalcontaminanten het grensvlak tussen water en sedimenten kunnen bereiken en opnieuw in het zeewater kunnen worden vrijgezet. Dit kan het volledige benthische ecosysteem beïnvloeden. Andere metaalcontaminanten, zoals Cu, Zn en Cd, verspreiden zich in station 130 veeleer in de sedimenten.