

Απόκριση διαφορετικών πλαγκτονικών κοινοτήτων σε προσθήκη διαλελυμένου οργανικού άνθρακα

Γεωργία Κτιστάκη
Επιβλέπων: Παρασκευή Πήττα

Περίληψη

Η εισροή διαλελυμένου οργανικού άνθρακα (DOC) από τα χερσαία στα παράκτια οικοσυστήματα χρωματίζει το νερό κίτρινο-καφέ. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται «χρωματισμός των νερών» (brownification) και προκαλεί σκίαση, επηρεάζοντας την πρωτογενή παραγωγή. Επιπλέον, μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της παραγωγής και βιομάζας των ετερότροφων οργανισμών, με πιθανές συνέπειες στο τροφικό πλέγμα. Η παρούσα μελέτη εστίασε στην επίδραση του φαινομένου στις θαλάσσιες πλαγκτονικές ομάδες. Πραγματοποιήθηκε προσομοίωση του φαινομένου σε πείραμα μεσοκόσμων μέσω της προσθήκης του σκευάσματος HuminFeed στο νερό. Το πείραμα μεσοκόσμων έλαβε χώρα στις εγκαταστάσεις CretaCosmos του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε, είχε 2 πειραματικές συνθήκες: Control (C) και HuminFeed (HF) με 3 αντίγραφα σε κάθε συνθήκη. Στη συνθήκη C δεν έγινε κανένας χειρισμός ενώ στη συνθήκη HF έγινε προσθήκη HuminFeed (συγκέντρωση 2 mg L⁻¹). Το πείραμα διήρκησε 15 ημέρες στη διάρκεια των οποίων παρατηρήθηκε πως η προσθήκη HuminFeed προκάλεσε χρωματισμό του νερού προκαλώντας μείωση της αφθονίας των αυστηρά αυτότροφων οργανισμών (κυανοβακτήρια και διάτομα. Επιπλέον, το HuminFeed αποτέλεσε πηγή DOC για τη βακτηριακή κοινότητα. Αν και η αφθονία των βακτηρίων ήταν μεγαλύτερη κυρίως τις πρώτες μέρες του πειράματος, στο HF καταγράφηκε αυξημένη βακτηριακή παραγωγή. Στη συνθήκη HF, παρατηρήθηκε αυξημένη αφθονία δινομαστιγωτών, η οποία μπορεί να οφείλεται είτε σε επικράτηση μικτότροφων ειδών είτε στη μείωση της αφθονίας των κωπηπόδων. Ωστόσο, η μείωση της αφθονίας των βλεφαριδωτών που καταγράφηκε αμέσως μετά την προσθήκη HuminFeed στο νερό, πιθανόν δείχνει πως η προσθήκη του στο νερό ευθύνεται για τη μείωση των πληθυσμών και την αλλοιωμένη μορφή τους. Τέλος, το HuminFeed, φαίνεται να επηρέασε αρνητικά τα κωπήποδα.

Εισαγωγή

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, αυξημένες συγκεντρώσεις διαλελυμένου οργανικού άνθρακα (DOC) έχουν παρατηρηθεί σε επιφανειακά νερά σε μεγάλα τμήματα του βόρειου Ημισφαιρίου (1). Η επιφανειακή απορροή, που γίνεται εντονότερη λόγω των αυξημένων βροχοπτώσεων που συνδέονται με την κλιματική αλλαγή, μπορεί να είναι η βασική αιτία εισροής DOC, από τη χέρσο και τα ποτάμια στα παράκτια νερά (2). Το DOC, μαζί με τις χουμικές οργανικές ενώσεις που εμπεριέχει, χρωματίζει το νερό κίτρινο-καφέ. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται «χρωματισμός των νερών» (brownification). Το φαινόμενο του χρωματισμού των νερών μπορεί να έχει άμεσες και έμμεσες συνέπειες στην πλαγκτονική κοινότητα. Άμεσα, ο χρωματισμός των νερών προκαλεί σκίαση, δηλαδή, μείωση του φωτός που εισχωρεί στη στήλη του νερού. Έτσι, το φαινόμενο επηρεάζει την πρωτογενή παραγωγή που είναι φωτοεξαρτώμενη (3). Η μείωση του διαθέσιμου φωτός αναμένεται να ευνοήσει τους μικτότροφους οργανισμούς καθώς μπορούν να στραφούν στην ετεροτροφία (2). Επιπλέον, η αύξηση της συγκέντρωσης του άνθρακα στο σύστημα μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της δευτερογενούς παραγωγής και βιομάζας. Κάτω από συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης DOC, τα ετερότροφα βακτήρια μπορεί είναι πιο αποτελεσματικά στην πρόσληψη θρεπτικών συγκριτικά με το φυτοπλαγκτόν (1). Ακόμα, η εισροή DOC, που αποτελείται εν μέρει από οργανικά οξέα, μπορεί να οδηγήσει και σε μείωση του pH. Αυτή η μείωση έμμεσα οδηγεί σε αύξηση του ελεύθερου διοξειδίου του άνθρακα (CO₂), καθώς η ισορροπία του ανθρακικού συστήματος μετατοπίζεται (1). Το ελεύθερο CO₂ είναι η προτιμώμενη πηγή πρόσληψης άνθρακα για τους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς, συνεπώς η αύξησή του στο νερό μπορεί να ευνοήσει τη φωτοσύνθεση.



Εικόνα 1: Η εγκατάσταση CretaCosmos.



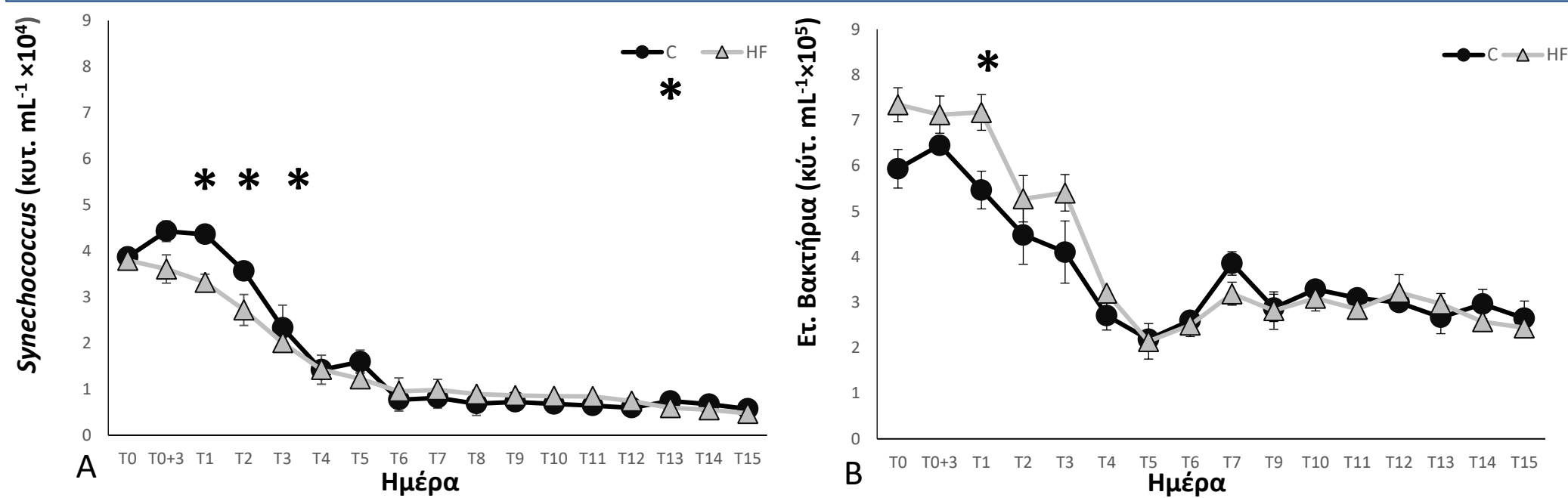
Εικόνα 2: Δειγματοληψία νερού.

Υλικά και Μέθοδοι

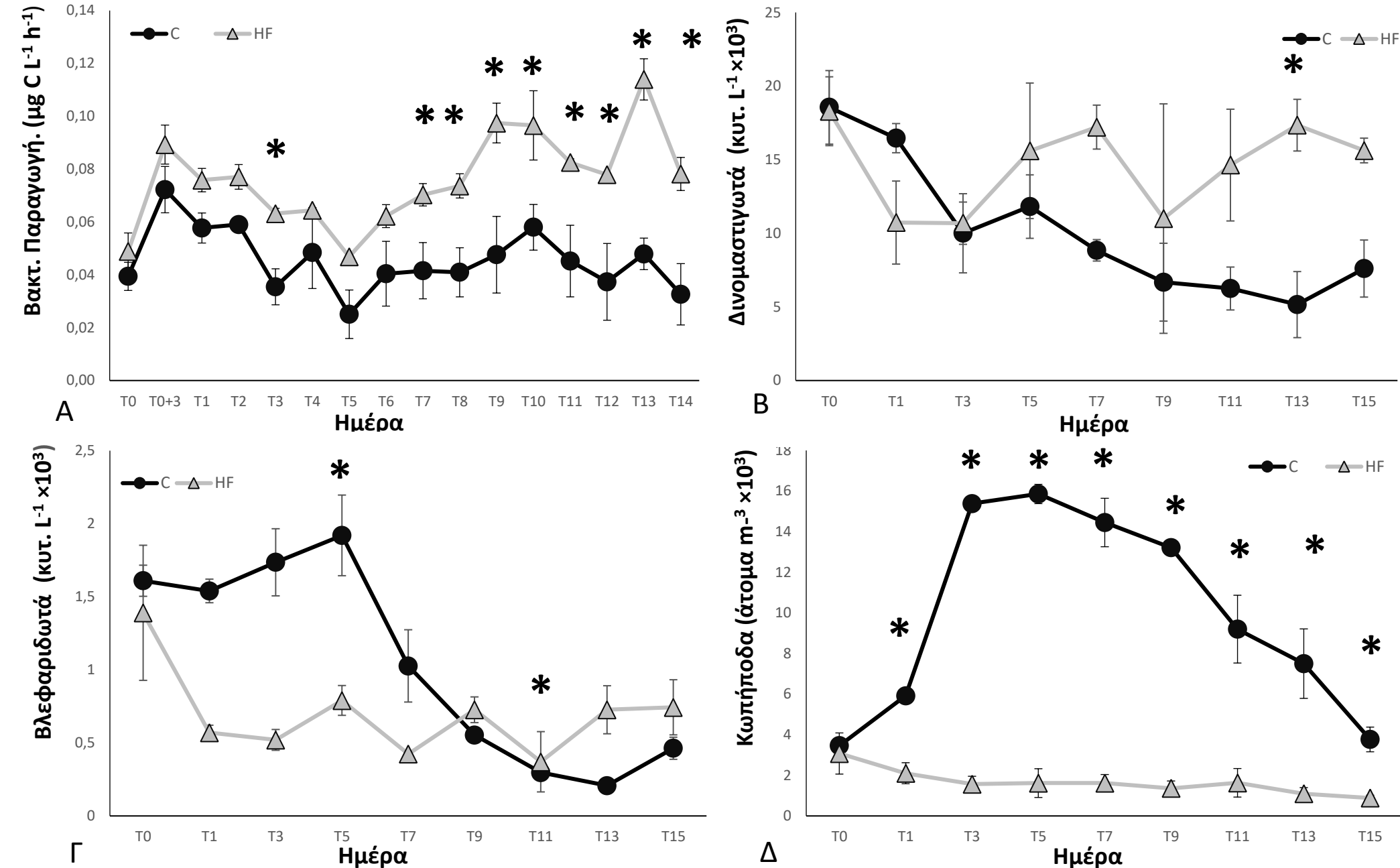
Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις CretaCosmos (Εικόνα 1) του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. στο Ηράκλειο Κρήτης, τον Ιούνιο 2021. Το πείραμα περιλάμβανε 2 πειραματικές συνθήκες: Control (C) και HuminFeed (HF). Κάθε συνθήκη είχε τρία αντίγραφα. Στο C δεν έγινε κανένας χειρισμός και στο HF έγινε προσθήκη του σκευάσματος HuminFeed σε συγκέντρωση 2 mg L⁻¹. Το πείραμα διήρκησε 15 ημέρες. Το HuminFeed είναι ένα αλκαλικό εκχύλισμα λεοναρδίτη (ορυκτό) που χρησιμοποιείται συνήθως ως ζωοτροφή. Η πλήρης χημική σύσταση του HuminFeed περιγράφεται από τους Meinelt et al. (2007) και Scharnweber et al. (2021). Οι δειγματοληψίες έγιναν από τις 14 Ιουνίου (Ημέρα 0) μέχρι τις 29 Ιουνίου (Ημέρα 15) 2021, καθημερινά το πρωί (Εικόνα 2). Πριν από κάθε δειγματοληψία χρησιμοποιούνταν ένας αναδευτήρας ώστε να ομοιογενοποιηθεί το νερό μέσα στους μεσοκόσμους. Τα δείγματα του πικοπλαγκτού, συλλέγονταν και η καταμέτρηση των κυανοβακτηρίων και των ετερότροφων βακτηρίων έγινε σε κυτταρομετρητή ροής FACSCalibur TM, σύμφωνα με τη μέθοδο των Marie et al. (2000). Τα δείγματα για την καταμέτρηση των αυτότροφων (Pigmented NanoFlagellates: PNF) και ετερότροφων μαστιγωτών (Heterotrophic NanoFlagellates: HNF) συλλέγονταν μέρα παρά μέρα και προετοιμάστηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο των Porter & Feig (1980). Τα δείγματα του μικροπλαγκτού (διάτομα, δινομαστιγωτά και βλεφαριδωτά) συλλέγονταν μέρα παρά μέρα και μονιμοποιήθηκαν με Lugol. Η καταμέτρηση των οργανισμών έγινε με τη μέθοδο που περιγράφηκε από τον Utermöhl (1958). Οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν με χρήση της γλώσσας R, εφαρμόστηκε Two-way Repeated Measures ANOVA (Two Way RM-ANOVA) και έλεγχος πολλαπλών συγκρίσεων (Tukey's Test).

Αποτελέσματα

Η μέση ένταση φωτός ήταν σημαντικά μικρότερη στη συνθήκη HF, όλες τις μέρες του πειράματος. Μετά την προσθήκη του HuminFeed στο νερό παρατηρήθηκε αύξηση στη συγκέντρωση των φωσφορικών ιόντων (PO₄⁻³) και του διαλελυμένου ανόργανου αζώτου (DIN) και στη συνέχεια παρατηρήθηκε μείωση τους μέχρι το τέλος του πειράματος. Ο διαλελυμένος οργανικός άνθρακας (DOC) παρουσίασε αυξομειώσεις και στις δυο συνθήκες καθόλη τη διάρκεια του πειράματος και μόνο τις ημέρες 5, 11 και 15 είχε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο HF. Τα *Synechococcus* είχαν μικρότερη αφθονία στο HF μόνο τις πρώτες μέρες του πειράματος (Εικόνα 3-A). Η αφθονία των ετερότροφων βακτηρίων ήταν μεγαλύτερη μέχρι την ημέρα 5 στη συνθήκη HF ενώ στη συνέχεια παρουσίασε παρόμοιες αφθονίες στις δύο συνθήκες (Εικόνα 3-B). Το ποσοστό των HNA (High Nucleic Acid) ετερότροφων βακτηρίων ήταν μεγαλύτερο στη συνθήκη HF. Η βακτηριακή παραγωγή παρουσίασε αυξομειώσεις και στις δυο συνθήκες κατά τη διάρκεια του πειράματος μεσοκόσμων (Εικόνα 4-A). Τα HNF δεν παρουσίασαν διαφορές στις δύο συνθήκες. Τα PNF με μέγεθος <1 μm είχαν υψηλότερη αφθονία στον μάρτυρα μέχρι την ημέρα 7, ωστόσο στη συνέχεια παρατηρήθηκε υψηλότερη αφθονία στη συνθήκη HF. Τα PNF με μέγεθος >1 μm, τις περισσότερες μέρες είχαν σημαντικά μεγαλύτερη αφθονία στη συνθήκη HF. Η αφθονία των διατόμων παρουσίασε παρόμοια μεταβολή στις δύο συνθήκες κατά τη διάρκεια του πειράματος, Τα διάτομα στον μάρτυρα C είχαν μεγαλύτερη αφθονία όλες τις μέρες του πειράματος, Τα δινομαστιγωτά μειώθηκαν και στις δύο συνθήκες μέχρι την ημέρα 3, έπειτα, στον μάρτυρα C συνεχίστηκε η μείωσή τους ενώ στο HF παρατηρήθηκε αύξηση (Εικόνα 4-B). Η αφθονία των βλεφαριδωτών στη συνθήκη HF μειώθηκε απότομα την ημέρα 1 και παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα μέχρι το τέλος του πειράματος (Εικόνα 4-Γ). Τα κωπήποδα παρουσίασαν μείωση στο HF (Εικόνα 4-Δ).



Εικόνα 3: Αφθονία *Synechococcus* (Α) και Ετερ. Βακτηρίων (Β). *Στατιστική διαφορά



Εικόνα 4: Βακτηριακή παραγωγή (Α), αφθονία δινομαστιγωτών (Β), βλεφαριδωτών (Γ) και κωπηπόδων (Δ).

*Στατιστική διαφορά

Συζήτηση

Αύξηση του DOC καταγράφηκε από την ημέρα 3 και έπειτα συνεπώς δεν ήταν άμεσα διαθέσιμος για τα ετερότροφα βακτήρια. Η υπόθεση πως η προσθήκη HuminFeed θα μειώσει τη μέση ένταση φωτός στους μεσοκόσμους επιβεβαιώθηκε. Όσον αφορά τους αυστηρά αυτότροφους οργανισμούς, η αφθονία τους ήταν λίγο μικρότερη στη συνθήκη HF. Η μείωση των αυτότροφων πιθανά δεν οφείλεται στη μείωση συγκέντρωσης των θρεπτικών αλλά σε θήρευση. Η επίδραση της μείωσης του φωτός δεν ήταν τόσο ξεκάθαρη στα νανομαστιγωτά πιθανά λόγω της μικτοτροφίας που είναι συχνή στην ομάδα (Livanou et al. 2019). Η υπόθεση πως η προσθήκη HuminFeed θα αυξήσει την αφθονία και παραγωγή των ετερότροφων οργανισμών και ειδικά των ετερότροφων βακτηρίων επιβεβαιώθηκε. Η μεγαλύτερη αφθονία των δινομαστιγωτών στο HF μπορεί να οφείλεται στην επικράτηση μικτότροφων ειδών που και στην πολύ χαμηλή αφθονία του ζωπλαγκτού. Απότομη μείωση της αφθονίας των βλεφαριδωτών καταγράφηκε αμέσως μετά την προσθήκη HuminFeed, συνεπώς είναι πιθανόν η προσθήκη του να ευθύνεται για τη μείωση τους. Τα βλεφαριδωτά στη συνθήκη HF, εκτός από πολύ μικρή αφθονία, παρουσίασαν, στην πλειονότητα τους, αλλοιωμένη μορφή. Τα κωπήποδα επηρεάστηκαν αρνητικά από την προσθήκη του HuminFeed στο νερό.

Συμπεράσματα

Σε γενικές γραμμές, η προσθήκη HuminFeed προκάλεσε χρωματισμό του νερού και μείωση του φωτός προκαλώντας μείωση της αφθονίας των αυστηρά αυτότροφων οργανισμών (κυανοβακτήρια *Synechococcus* και διάτομα). Ωστόσο, δεν καταγράφηκε ξεκάθαρη επίδραση στα νανομαστιγωτά πιθανόν λόγω της μικτοτροφίας που παρατηρείται συχνά στη συγκεκριμένη ομάδα. Επιπλέον το HuminFeed αποτέλεσε πηγή DOC για τη βακτηριακή κοινότητα. Αν και η αφθονία των βακτηρίων ήταν μεγαλύτερη κυρίως τις πρώτες μέρες του πειράματος, τα HNA βακτήρια ήταν περισσότερα στη συνθήκη HF όλες τις μέρες του πειράματος, γεγονός που αντικατοπτρίζεται στην αυξημένη βακτηριακή παραγωγή. Στη συνθήκη HF, παρατηρήθηκε αυξημένη αφθονία δινομαστιγωτών, η οποία μπορεί να οφείλεται είτε σε επικράτηση μικτότροφων ειδών είτε στη μείωση της αφθονίας των θηρευτών τους, δηλαδή των κωπηπόδων. Ωστόσο, η μείωση της αφθονίας των βλεφαριδωτών που καταγράφηκε αμέσως μετά την προσθήκη HuminFeed στο νερό, πιθανόν δείχνει πως η προσθήκη του στο νερό ευθύνεται για τη μείωση των πληθυσμών και την αλλοιωμένη μορφή τους. Τέλος, το HuminFeed, φαίνεται να επηρέασε αρνητικά τα κωπήποδα.

Αναφορές

- Nydhil, A. C., Wallin, M. B., Tranvik, L. J., Hiller, C., Attermeyer, K., Garrison, J. A., ... & Weyhenmeyer, G. A. (2019). Colored organic matter increases CO₂ in meso-eutrophic lake water through altered light climate and acidity. *Limnology and Oceanography*, 64(2), 744-756.
- Fonseca, B. M., Levi, E. E., Jensen, L. W., Graeber, D., Søndergaard, M., Lauridsen, T. L., ... & Davidson, T. A. (2022). Effects of DOC addition from different sources on phytoplankton community in a temperate eutrophic lake: An experimental study exploring lake compartments. *Science of The Total Environment*, 803, 150049.
- Leibrot, K., Langenheder, S., Colinas, N., Östman, O., & Lindström, E. S. (2018). Increased water colour affects freshwater plankton communities in a mesocosm study. *Aquatic microbial ecology*, 81(1), 1-17.
- Meinelt, T., Paul, A., Phan, T. M., Zwirrmann, E., Krüger, A., Wienke, A., & Steinberg, C. E. (2007). Reduction in vegetative growth of the water mold *Saprolegnia parasitica* (Coker) by humic substance of different qualities. *Aquatic Toxicology*, 83(2), 93-103.
- Scharnweber, K., Peura, S., Attermeyer, K., Bertilsson, S., Bolender, L., Buck, M., ... & Székely, A. J. (2021). Comprehensive analysis of chemical and biological problems associated with browning agents used in aquatic studies. *Limnology and Oceanography: Methods*, 19(12), 818-835.
- Marie, D., Simon, N., Guillou, L., Partensky, F., & Vaulot, D. (2000). Flow cytometry analysis of marine picoplankton. In *Living Color*, 421-454.
- Porter, K. G., & Feig, Y. S. (1980). The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology and oceanography*, 25(5), 943-948.
- Utermöhl, H. (1958). Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methode: Mit 1 Tabelle und 15 abbildungen im Text und auf 1 Tafel. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Mitteilungen*, 9(1), 1-38.