



Sieralgen en hun rol in ecofysiologisch onderzoek

Elly Spijkerman

elly@gappie.nl

Desmids and their role in ecophysiological research

From 1991 till 2000 I worked with Peter Coesel on the ecophysiology of planktonic desmids. During my Ph.D. we described that 2 species, of approximately the same size, had different inorganic phosphate uptake kinetics that could explain their ecological distribution. *Staurastrum chaetoceras*, a species from eutrophic lakes, had a higher maximum (P)-uptake rate and higher maximum growth rate. *Cosmarium abbreviatum*, a species typical of oligo-mesotrophic lakes, had a higher affinity for P-uptake and a higher P-storage capacity. During my Post-Doc period we could show that desmids do not rely on diffusive CO₂ acquisition and that some species have high affinity HCO₃⁻ uptake kinetics. In general, species from weakly buffered waters cannot use HCO₃⁻, but the pH of the water is likely not the major factor underlying desmid ecological distribution.

Peter werkte bij de Vakgroep Fundamentele en Toegepaste Oecologie (sectie Aquatische Oecologie) van de Universiteit van Amsterdam (UvA) toen ik daar studeerde (1986-1991). Samen met Hanny Kooijman vormde hij sinds 1987 een klein onderzoeksgroepje bij die sectie onder leiding van Prof. Joop Ringelberg, waar de ecologie van de twee Maarsseveense Plassen werd bestudeerd. Peter droeg met zijn sieralgen een steentje bij. Sieralgen hebben een uitgesproken verspreiding: sommige soorten vind je alleen in oligotrofe wateren en sommige kunnen grote populaties vormen in eutrofe wateren (algen bloei). De eutrofe Kleine Maarsseveense Plas (Lake Maarseveen II) bevat een meer 'eutrafente' desmidiaceeën-gemeenschap dan de oligo-mesotrofe Grote Maarsseveense Plas (Lake Maarseveen I).

Ik deed tijdens mijn studie twee afstudeerprojecten: een aan de UvA bij de sectie van Prof. Wayland Swain en Dr. Kees Davids in de aquatische oecotoxicologie (aan watermijten) en een aan de VU bij de groep van Prof. Wilfried Ernst in de planten ecotoxicologie (aan gras en brandnetel uit de Biesbosch). Een promotie-onderzoek aan de ecofysiologie van sieralgen bij Peter bood zich aan en was een logische keus: ecofysiologie en ecotoxicologie bestuderen beide het effect van een stof op de fysiologie van een organisme.

Het onderzoeksplan behelsde het intensief onderzoeken van twee soorten planktonische

sieralgen op hun groei onder verschillende fosfaat (P) gelimiteerde condities. Eén soort, *Cosmarium abbreviatum*, is een typische soort van oligo-mesotrofe meren en één soort, *Staurastrum chaetoceras*, is karakteristiek voor meer eutrofe wateren. Verschillen in hun P-opname, fysiologie en groeisnelheid zou mogelijk ten grondslag liggen aan hun verschil in ecologische verspreiding (niche). De keuze was mede op deze twee soorten gevallen omdat ze beide ongeveer even groot zijn. Het onderzoek heeft me van 1991 tot 1998 bezig gehouden.

De theorie bleek echter eenvoudiger dan de praktijk. Na twee jaar experimenten doen, zonder bruikbare resultaten, was ik bijna weer in de ecotoxicologie beland. Maar vastgebeten in het onderwerp, ging het langzaam beter met de proefjes. Helaas leidde, in maart 1994, de terugkeer van een kwaadaardige melanoom tot het overlijden van Hanny Kooijman – van Blokland. Vlak daarvoor had ze nog een baby gekregen en gingen we op kraamvisite bij haar en haar man Kees. Dat was een moeilijk bezoek en gesprek, waar Hanny al bezig was met het leven van Kees en de kinderen na haar overlijden. In de toespraak van Peter op de begrafenis loofde Peter onder andere Hanny's goed georganiseerde werk, goed humeur, gedegen kennis van soorten algen (vooral in diatomeeën was ze een landelijk specialist), en vooral Hanny's sociale begeleiding van doctoraalstudenten ("helaas niet één van mijn sterkste zijden", Papyrus 2 1994). Hanny was de rust en vriendelijkheid zelve, terwijl ik met Peter - de perfectionist- vaker botste. Vooral als het niet zo goed liep met het onderzoek. Ter ere van Hanny heeft Peter een *Staurastrum* naar haar vernoemd (*Staurastrum bloklandiae* COESEL & JOOSTEN 1996). Eén keer ben ik wezen eten bij Peter en Marga thuis. Met mijn man Gab Landman en de Erasmus student Núria Ivorra en haar man Michiel Kraak. Het (Thais) eten was excellent en tot in de kleinste details perfect. Ik herinner me nog dat Peter voor het paartje roodstaarten in de tuin een nestkast had opgehangen. Dat die door koolmezen werd bewoond was voor hem onverteerbaar.

Mijn experimenten gingen de resterende drie jaar beter, en na veel continu cultures en competitie experimenten hadden we een mooie dataset bij

elkaar. Peter deed de microscopische tellingen, en ik bracht veel tijd in het isotopen laboratorium door om de snelheid van de fosfaatopname te meten. Peter zijn hypothese bleek te kloppen en kon in zeven mooie publikaties worden opgeschreven. De 'eutrafente' *Staurastrum chaetoceras* kan bij hogere P-concentraties sneller P opnemen en sneller groeien, terwijl de 'oligotrafente' *Cosmarium abbreviatum* bij lagere P concentraties sneller P kan opnemen en groeien (fig. 1 uit Spijkerman & Coesel, 1996).

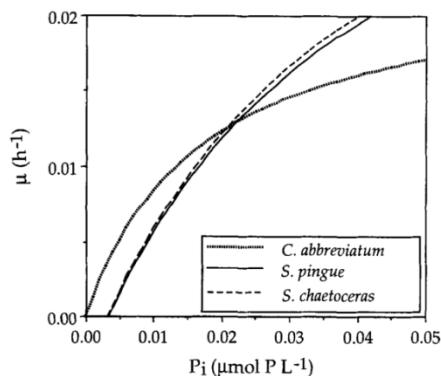


FIG. 3. Monod curves of the three diatom species as in Figure 2 to demonstrate the intersection at $P_i = 0.02 \mu\text{M P}$.

Figuur 1. Groeisnelheid (μ , in uur^{-1}) in relatie tot de P-concentratie in het water ($\mu\text{mol L}^{-1}$) van drie soorten sieralg. (uit Spijkerman & Coesel, 1996). *Staurastrum pingue* en *Staurastrum chaetoceras* hebben beide een minimale hoeveelheid P nodig om te kunnen gaan groeien en hun curves snijden de curve van *Cosmarium abbreviatum* die een lagere maximale groeisnelheid heeft.

Daarnaast kan *Cosmarium* ook meer P opslaan om later te groeien. Deze verschillen in P-opname fysiologie konden in competitie experimenten getest en bewezen worden (fig. 2 uit Spijkerman & Coesel, 1996). Onder lage concentraties P in het water wint *Cosmarium* de competitie (fig. 2A, 2B) en kan een grotere populatie opbouwen (zoals in oligo-mesotrofe meren), terwijl bij hogere concentraties P in het water, *Staurastrum* de competitie wint (fig. 2C) en een grotere populatie realiseert (zoals in eutrofe wateren). Daarbij speelt de slijm laag van *Cosmarium abbreviatum* wellicht een rol om na afbraak van organische P-ester verbindingen door fosfatasen, het vrijgekomen anorganische P niet direct aan het omringende water te verliezen. Dat kan echter in een goed gemengde algencultuur niet getest worden. Naast P concentraties in het water speelt de hoeveelheid licht in eutrofe wateren ook een grote rol. Daarom werd de combinatie van deze twee factoren ook onderzocht. Een samenvatting van de

omgang van de twee sieralgen met de essentiële groeifactoren licht en fosfaat is in figuur 3 afgebeeld.

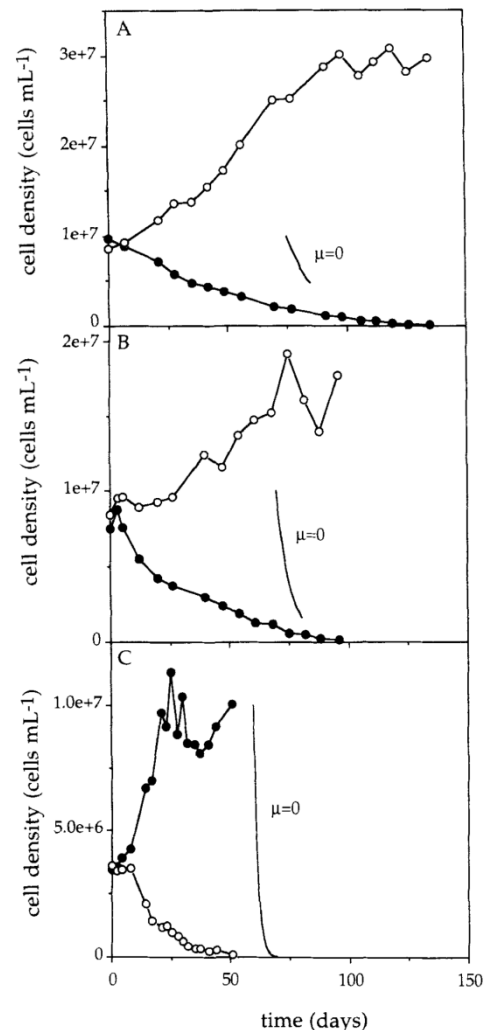


FIG. 4. Cell concentrations in mixed continuous flow cultures of *Cosmarium abbreviatum* (○) and *Staurastrum pingue* (●) in relation to time at different dilution rates (D). A) $D = 0.003 \text{ h}^{-1}$, B) $D = 0.007 \text{ h}^{-1}$, and C) $D = 0.020 \text{ h}^{-1}$. Slopes ($\mu = 0$) indicate expected decrease rates over a period of 10 days for nongrowing organisms.

Figuur 2. Populatiegrootte (in cellen per 100 mL) in relatie tot de tijd in een gezamenlijke cultuur (dagen) van *Cosmarium abbreviatum* (open symbolen) en *Staurastrum pingue* (dichte symbolen). (uit Spijkerman & Coesel, 1996). In figuur 2A en 2B is de snelheid waarmee de cultuur wordt doorstroomd laag (0,003 en 0,007 per uur) wat resulteert in een lage concentratie van P in het water. Daardoor wint *Cosmarium* de concurrentie voor P. In figuur 2C is de snelheid hoger (0,02 uur^{-1}) en is de concentratie P in het water hoger. Hierdoor wint *Staurastrum* de concurrentie voor P.

Vanaf 2001 was ik aan de Universiteit van Potsdam (Duitsland) op mijn eigen –gefinancierd door de EU of de Duitse NWO: DFG- projecten werkzaam (tot eind 2017). Daar werd ik in maart 2006 benaderd

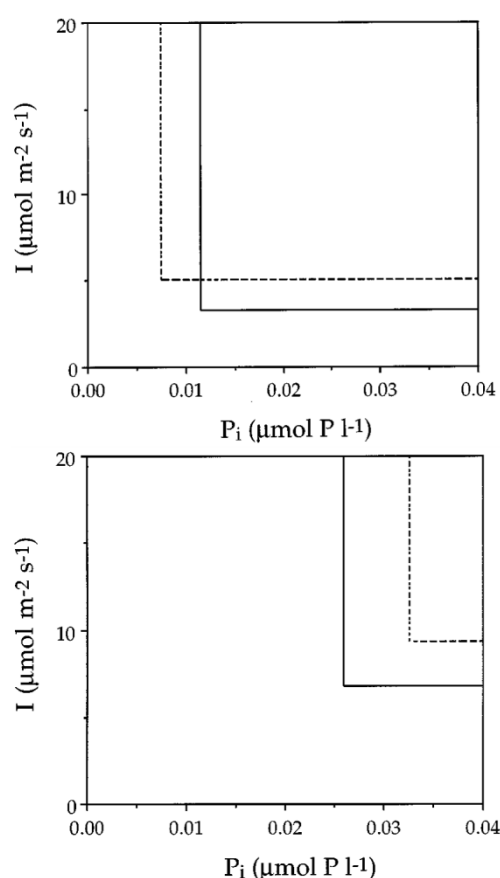


Figure 4. Growth isoclines of *Cosmarium abbreviatum* (---) and *Staurastrum chaetoceras* (—) at a loss rate of (a) $D = 0.007 \text{ h}^{-1}$ and (b) $D = 0.015 \text{ h}^{-1}$ indicating their competitive ability for light (I) and phosphorus (P_i) limiting conditions.

Figuur 3. Samenvatting van mijn onderzoek bij Peter en de resultaten van zijn eerdere experimenten met Klaas Jan Wardenaar (1994). Afgebeeld zijn de groei-isoclines (groei = sterfte) van *Cosmarium abbreviatum* (---) en *Staurastrum chaetoceras* (—) voor licht (I, in $\mu\text{mol fotonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) en fosfaat (P_i , in $\mu\text{mol P l}^{-1}$).

Het bovenste plaatje laat zien dat *Cosmarium* bij een groeisnelheid van $0,007 \text{ uur}^{-1}$ en onder oligotrofe P concentraties van 7 tot maximaal 11 nmol P l^{-1} ($\approx 0,3 \mu\text{g P l}^{-1}$) de competitie van *Staurastrum* wint. Dit is onafhankelijk van de lichtintensiteit zodra die hoger is als $5 \mu\text{mol fotonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Bij lagere lichtintensiteiten kan *Cosmarium* niet groeien). De kruisende lijnen impliceren dat onder competitie voor licht en/of een P concentratie in het water $> 11 \text{ nmol P l}^{-1}$, *Staurastrum* wint van *Cosmarium*.

Het onderste plaatje laat zien dat bij een snellere groei van $0,015 \text{ uur}^{-1}$, *Staurastrum* onder alle omstandigheden de strijd om P en licht wint van *Cosmarium*.

(figuur afkomstig uit Spijkerman & Coesel, 1998)

door Prof. J. Bastow Wilson uit Nieuw-Zeeland met de vraag of de resultaten in Spijkerman & Coesel (1996) fout werden geïnterpreteerd in een review

van Miller et al. (2005). Prof. Jef Huisman werd ook benaderd door Bastow, en na 8 dagen e-mail communicatie besloten we in 10 dagen een commentaar te schrijven, dat in *The American Naturalist* werd gepubliceerd (Wilson et al., 2006). Ik heb na de publicatie Peter geschreven en daarop schreef hij terug: "Het doet me veel genoegen je naam als auteur temidden van zo'n prominent gezelschap terug te vinden." In 1996 "was ik al van mening dat ons artikel een dringend gewenste ondersteuning vormde van de geldende competitietheorie. Het is goed om dat bij deze bevestigd te zien."

Na mijn PhD ging Peter terug naar de botanie omdat de sectie Aquatische Oecologie opgeheven was samen met het met emeritaat gaan van Prof. Joop Ringelberg, en kon ik Peter als Post-Doc daarbij vergezellen (1998-2000). Die twee jaar in de botanie waren een interessante tijd. Ik was voornamelijk bezig in het planten fysiologisch lab van Prof. Herman van den Ende en bij de ecologische microbiologie van Prof. Luuc Mur (Roeterseiland complex) en had weinig met het plantenonderzoek te maken. In de twee jaar Post-Doc onderzoek lukte het me wel om genoeg proefjes te doen, maar het schrijven en publiceren van de artikelen duurde nog tot 2004 en 2005. De meeste experimenten deed ik op Roeterseiland (fotosynthese) en bij Prof. Stephen Maberly (Centre for Ecology & Hydrology, UK). Bij Stephen kon ik de preferentie van anorganische koolstof opname bij sialgalen meten (Spijkerman et al., 2005). Dit verloopt via het gecontroleerd meten van de pH stijging in het water door fotosynthese (pH drift). Tot een pH van ongeveer 8.5 is er nog genoeg CO_2 beschikbaar voor passieve opname, terwijl soorten die de pH hoger kunnen laten stijgen, actief CO_2 en/of bicarbonaat (HCO_3^-) kunnen opnemen. De pH-stijging stopt als er geen anorganisch koolstof meer beschikbaar is (concentratie = C_T), en dat punt is een in verhouding tot de alkaliniteit van het water een specifieke ecofysiologische eigenschap (C_T/Alk). De gegevens van deze experimenten laten de berekening toe van de compensatie concentraties. Deze concentraties zijn de minimale rest concentraties van anorganisch koolstof in het water die niet meer door de algen gebruikt kunnen worden.

In dit project waren zeven soorten sialgalen geselecteerd, en van *Staurastrum planctonicum* werden zes verschillende isolaten getest (tabel I). De hypothese was dat de koolstofopname van de soort of zelfs van het isolaat aan de hardheid van



het water van origine was aangepast. De soorten/isolaten uit het zachte water (lage pH) zouden alleen CO_2 via diffusie kunnen opnemen en alleen de soorten/isolaten uit hard water (hoge/neutrale pH) zouden ook bicarbonaat kunnen opnemen. In tabel 2 zijn de resultaten samengevat (uit Spijkerman et al., 2005). Uit de experimenten kwam naar voren dat bij alle sialgen een actieve opname van

	C_T/Alk	Max pH	Compensatie concentratie	
			CO_2 (μM)	HCO_3^- (μM)
<i>S. planctonicum</i> , clone 183	0,01	11,09	1,7	7
<i>S. planctonicum</i> , clone 118	0,02	11,09	d.f.	8
<i>S. chaetoceras</i>	0,04	11,06	0,3	4
<i>S. planctonicum</i> , clone 31	0,04	11,08	1,9	4
<i>Std. dejectus</i>	0,19	10,94	1,3	12
<i>S. planctonicum</i> , clone 134	0,25	10,85	1,5	14
<i>S. planctonicum</i> , clone 48	0,25	10,83	0,5	44
<i>Std. cuspidatus</i>	0,27	10,85	1,5	25
<i>C. abbreviatum</i>	0,33	10,75	0,5	100
<i>S. planctonicum</i> , clone 186	0,34	10,70	1,4	49
<i>Cl. acutum</i>	0,64	10,13	0,2	344
<i>S. brachiatum</i>	0,76	9,82	0,4	575

Tabel 2. Data afkomstig van pH drift experimenten met zes soorten sialgen en zes verschillende isolaten van *S. planctonicum*. De $\text{C}_T/\text{Alkaliniteit}$, maximum bereikte pH, and CO_2 and HCO_3^- compensatie concentratie ($\mu\text{mol L}^{-1}$) zijn afkomstig uit experimenten met 1 mEq L^{-1} alkaliniteit. d.f.= detectie niet mogelijk. De data zijn gemiddeldes van 3 herhalingen, Standaarddeviatie is meestal $< 5 \%$ van gemiddelde.

anorganisch koolstof mogelijk is, en dat sommige soorten zich in hun opname van HCO_3^- kunnen meten met cyanobacterien uit het eutrofe water. Sialgen die kenmerkend zijn voor zwak gebufferd water kunnen meestal geen HCO_3^- opnemen, maar een duidelijke trend tussen de pH van het water waaruit de soort was geïsoleerd, en de preferentie voor koolstofopname, was niet aanwezig. De pH van het water en de soort-specifieke voorkeur voor anorganische koolstof opname is dus geen duidelijk selectie criterium wat de verspreiding van deze sialgen in het water bepaald. Het feit dat ik met Peter heb samengewerkt doet veel mensen denken dat ik net zoveel weet over de taxonomie van sialgen als Peter. Gelukkig heb ik wel het mooie boek van Peter om de sialgen op

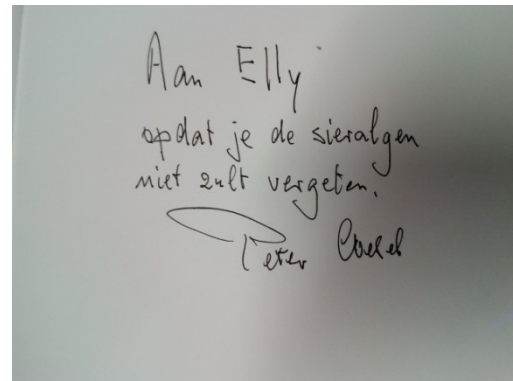


Foto 1. Persoonlijke notitie in mijn “Desmids of the Lowlands” exemplaar. Foto © Elly Spijkerman

naam te brengen, en zal ik ze dus niet vergeten (Foto 1). Tot voor kort hield de taxonomie mij helemaal niet bezig, en nog steeds vind ik ecologie /limnologie veel spannender. De motivatie voor taxonomie kon Peter mij niet bijbrengen. Toen ik na twee jaar proefjes doen in het lab van Peter te horen kreeg: “Dat is *Staurostrum pingue*, niet *Staurostrum chaetoceras*! Dat is toch duidelijk te zien!” dacht ik alleen maar: wat een pech. Ik moest alle proefjes nog eens herhalen met *Staurostrum chaetoceras* die ik al met *Staurostrum pingue* gedaan had. Maar, zonder gekheid, de kennis die Peter heeft is natuurlijk fenomenaal. Daarom zou je denken dat Peter vereerd is door zijn vernoeming in *Euastrum coeselii* KOUWETS. Helaas is dat “een onooglijk klein algje” (Papyrus 5 1992). Het zou terecht zijn als een mooie grote sialg naar Peter vernoemd zou worden.

In mijn huidige baan tel ik het fytoplankton van verschillende stuwweren in Saksen, Duitsland en heb ik niet meer direkt met de ecofysiologie van (sier)algen te maken. Wel krijg ik regelmatig mooie sialgen in beeld onder mijn microscoop. Een aantal stuwweren krijgen hun water uit hoogveen of andere zwak zuur gekarakteriseerde regenwater habitats. Daardoor komt er soms een fytoplankton bloei van *Cosmarium* of *Closterium* langs en vaak een paar mooie cellen van grote sialgen. Veel tijd om verder te zoeken of ze netjes op naam te brengen is er helaas niet. Maar af en toe neem ik de tijd, en vind een mooie *Closterium baillyanum* variëteit *alpinum* in de Talsperre Werda (Foto 2: met dank aan Frans Kouwets voor de determinatie).

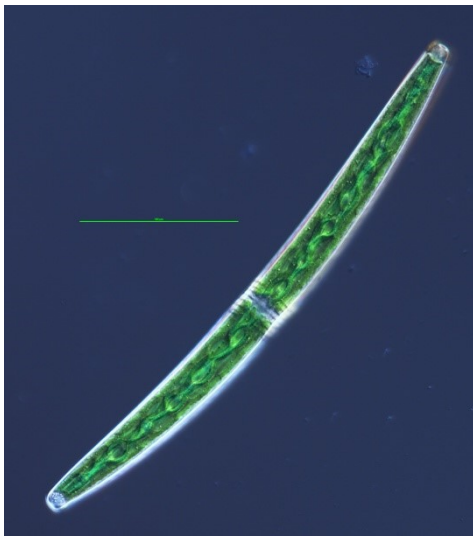


Foto 2. *Closterium baillyanum* variëteit *alpinum* gevonden in het water van het drinkwater stuwmeer Werda (bijna 600m boven NAP).

https://de.wikipedia.org/wiki/Talsperre_Werda

Literatuur

- Coesel, P. F. M. & KJ. Wardenaar, 1994.** Light-limited growth and photosynthetic characteristics of two planktonic desmid species. *Freshwater Biology* 31: 221-226.
- Miller, T. E., J. H. Burns, P. Munguia, E.L. Walters, J.M. Kneitel, P. M. Richards, N. Mouquet & H. L. Buckley. 2005.** A critical review of twenty years' use of the resource-ratio theory. *The American Naturalist* 165: 439-448.
- Spijkerman, E. & P. F. M. Coesel. 1996.** Competition for phosphorus among planktonic desmid species in continuous-flow culture. *Journal of Phycology* 32: 939-948.
- Spijkerman, E. & P. F. M. Coesel. 1998.** Ecophysiological characteristics of two planktonic desmid species originating from trophically different lakes. *Hydrobiologia* 370: 109-116.
- Spijkerman, E., Maberly, S. C. & P. F. M. Coesel. 2005.** Carbon acquisition mechanisms by planktonic desmids and their link to ecological distribution. *Canadian Journal of Botany* 83:850-858.
- Wilson, J. B., E. Spijkerman, & J. Huisman. 2007.** Is there really insufficient support for Tilman's R Concept? A comment on Miller et al. *The American Naturalist* 169: 700-706.
- Papyrus was het faculteitsblad van de biologie van de Universiteit van Amsterdam (1987-1997).

Soort	Kloonnr	Meer van origine	pH	Trofie
<i>Staurastrum planctonicum</i> var. <i>ornatum</i>	183 ¹⁾	Lake Maarsseveen II, The Netherlands	~8	eu
<i>Staurastrum planctonicum</i>	118 ¹⁾	Lake Maarsseveen I, The Netherlands	7-8	meso
<i>Staurastrum chaetoceras</i>	233 ¹⁾	Lake IJmeer, The Netherlands	8-9	eu
<i>Staurastrum planctonicum</i>	31 ¹⁾	Lac Pavin, France	6-7	meso
<i>Staurodesmus dejectus</i>	CCAP 681/1 ²⁾	Flass Tarn, Cumbria (UK)	7-8	meso
<i>Staurastrum planctonicum</i>	134 ¹⁾	Glenicmurrin Lough, Ireland	6-7	meso
<i>Staurastrum planctonicum</i>	48 ¹⁾	Lake IJmeer, The Netherlands	8-9	eu
<i>Staurodesmus cuspidatus</i> var. <i>curvatus</i>	137 ¹⁾	Lough Bofin, Ireland	6-7	oligo
<i>Cosmarium abbreviatum</i> var. <i>planctonicum</i>	229 ¹⁾	Lake Maarsseveen I	7-8	meso
<i>Staurastrum planctonicum</i>	186 ¹⁾	Lake Biwa, Japan	7-8	eu
<i>Closterium acutum</i> var. <i>variabile</i>	218 ¹⁾	Lake Maarsseveen II, The Netherlands	~8	meso
<i>Staurastrum brachiatum</i>	232 ¹⁾	Glennicmurrin Lough, Ireland	6-7	oligo

Tabel I. Sieralgen isolaten met hun kloonnummer, de locaties waar ze zijn geïsoleerd, pH in het water (gemeten waardes) en de trofiestatus van het water (Eu-, meso- en oligotroof zijn onderscheiden door de maximum chlorofyl *a* concentraties in de zomer: >15; 7-15 and <7 µg·L⁻¹, respectievelijk). De volgorde van de soorten is hetzelfde als in Tabel 2. 1) van de sieralgen verzameling van de Department of Evolutionary Botany, University of Amsterdam, The Netherlands. 2) van de Culture Collection of Algae & Protozoa UK.