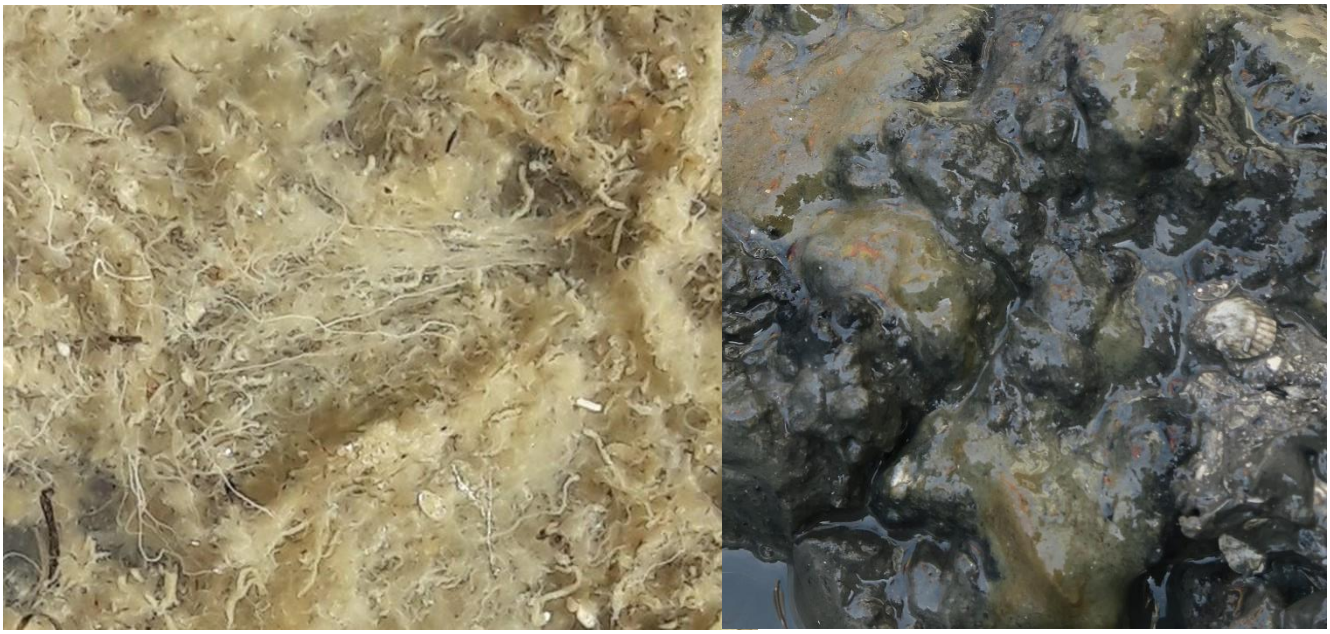
Microbiële levensgemeenschappen in de bodem van het Markermeer.



Mariëlle van Riel, Gerard Muijzer, Piet Verdonschot

Zoetwaterecosystemen, Wageningen Environmental Research

November 2021

WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

Auteurs
Mariëlle van Riel, Gerard Muijzer, Piet Verdonschot *(correspondentie: marielle.vanriel@wur.nl)*

Opdrachtgever
KIMA, Deltares

Projectgroep

Wijze van citeren
Van Riel, M.C., Muijzer, G. & Verdonschot P.F.M. (2021). Microbiële levensgemeenschappen in de bodem van het Markermeer. Notitie Zoetwaterecosystemen, Wageningen Environmental Research, Wageningen UR, Wageningen. 26 pp.

Trefwoorden
bodembacteriën, opbouw levensgemeenschap, Markermeer, ecologische functie, Cyanobacteriën, bacteriële omzettingen, successie

Beeldmateriaal

ISBN: 978-94-6447-035-2
DOI: https://doi.org/10.18174/557936

Dit project is uitgevoerd in opdracht van KIMA en Deltares

© 2021 Zoetwaterecosystemen, Wageningen Environmental Research

- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking van deze uitgave is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor commerciële doeleinden en/of geldelijk gewin.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor die gedeelten van deze uitgave waarvan duidelijk is dat de auteursrechten liggen bij derden en/of zijn voorbehouden.

Wageningen Environmental Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Inhoud

Inhoud 4

1 Inleiding 5

2 Materiaal en methoden 9
2.1 Bodembemonstering in het Markermeer 9
2.2 DNA extractie en sequentie analyse 10
2.3 Data analyse 10
2.4 DNA extractie 11

3 Resultaten en discussie 12
3.1 Bacteriële samenstelling van de benthische zone in het Markermeer 12
3.1.1 Algemeen 12
3.1.2 Thioploca en Beggiatoa in het Markermeer 15
3.2 Bodembacteriën en ecologie in het Markermeer 16
3.2.1 De 15 hoofdgroepen 16
3.2.2 Metabolische processen en ecologische functies 18
3.3.3 Bodembacteriën in relatie tot andere bodemorganismen in het Markermeer 20

4 Conclusies 22

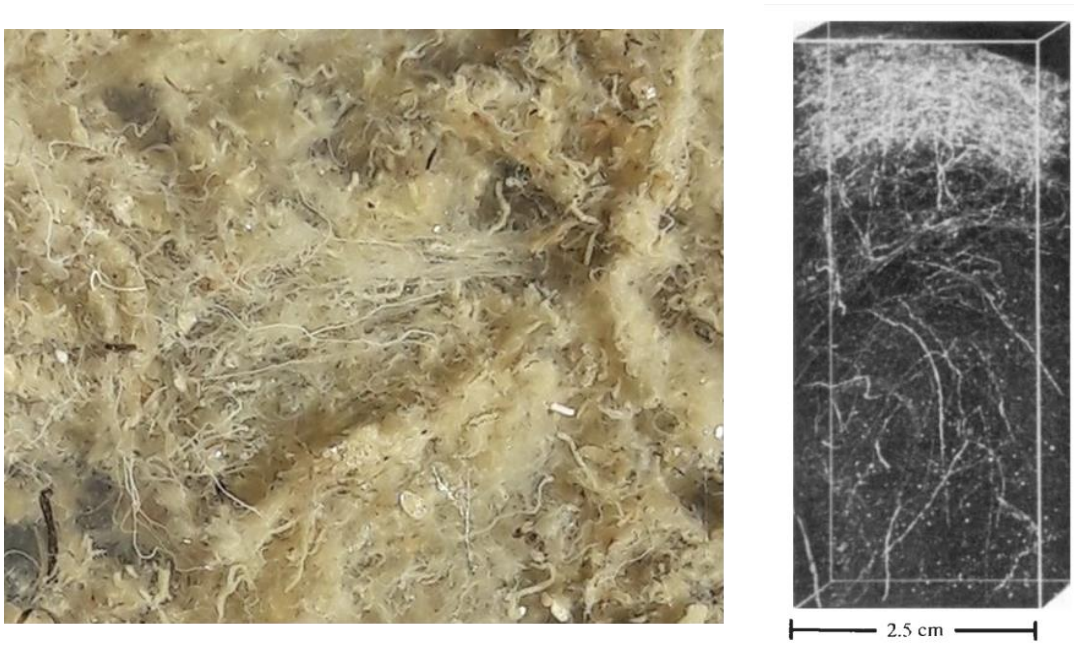
5 Aanbevelingen voor verder onderzoek 23

4. Referenties 24

1 Inleiding

Natura 2000 doelen voor het Markermeer hebben geleid tot vragen over het ecologisch functioneren van het Markermeer enmet name vanuit de voedselbeschikbaarheid voor vissen en vogels (Van Riel *et al*. 2017). De macrofauna in het Markermeer speelt hierbij een belangrijke rol en bestaat voornamelijk uit detritivoren en algen- en planteneters (van Riel *et al*. 2018, Verdonschot 2021). De soortenrijkdom en biomassa zijn laag in vergelijking met andere grote zoetwatermeren. In de ondiepere delen langs de westkust is het voedselweb wat meer ontwikkeld dan in het diepere centrale en oostelijke deel van het meer, waar licht de bodem niet bereikt en de benthische zone uit een zachte laag bestaat die voornamelijk door chironomiden en wormen bewoond wordt. De mariene oorsprong van het Markermeersediment heeft een sterk effect op het voedselweb en de processen in de benthische zone.

Over de bacteriële samenstelling van de Markermeerbodem is weinig bekend, terwijl deze grote consequenties voor het ecologisch functioneren van het meer kan hebben (Dermott & Legner 2002, Paerl & Pinckney 1996, Prieto-Barajas *et al*. 2018). Observaties van bacteriële filamenten in en op de bodem (figuur 1) tijdens verschillende veldstudies, zoals de mosselkartering (Bij de Vaate & Jansen 2011), de macrofaunabemonstering in 2016 door WEnR (Van Riel *et al*. 2018, Verdonschot *et al.* 2021) en de bemonstering van zwavelbacteriën in 2019 (Noordhuis 2019), doen vermoeden dat zwaveloxiderende bacteriën op verschillende locaties in het Markermeer zouden voorkomen. Het verspreidingspatroon van de bacteriefilamenten in het Markermeer is door Noordhuis (2019) nader onderzocht (figuur 3) en lijkt te correleren met de pluim die in het Markermeer te zien is sinds de toename van bouwactiviteiten. Het vermoeden bestaat dat deze activiteiten zorgden voor sedimentopwervelingen en veranderingen in chemische parameters. Noordhuis (2019) concludeerde dat op de blauw gemarkeerde locaties in figuur 3 draden van *Thioploca spp.* voorkomen in de bovenste 3-5 cm van de bodem, met een gemiddelde biomassa (versgewicht) van 172 g/m^2, tot plaatselijk 700 g/m^2. De bacteriën kwamen samen voor met levende algen (kolonies blauwalgen, diatomeeën, *Pediastrum*, *Scenedesmus*, etc.) en bodemfauna (nematoden, ostracoden, ciliaten etc.). Er zijn op basis van zuurstofproductie en decompositie geen aanwijzingen voor negatieve effecten op de activiteit van de overige benthische flora en fauna waargenomen (Noordhuis 2019).



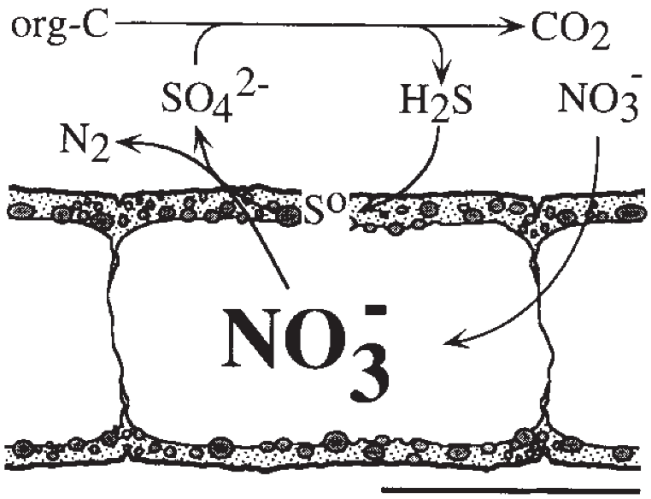
Figuur 1: *Afbeelding van filamentdraden in de Markermeerbodem (foto links, R. Noordhuis) en een voorbeeld van filamenteuze matten gevormd door Thioploca (foto rechts: Thioploca matten langs de Chileense kust, Fossing et al. 1995).*

Naast *Thioploca* behoren ook *Beggiatoa, Thiotrix* en *Thiovulum* soorten tot de groep van zwavelbacteriën. *Thioploca* komt vooral in mariene systemen voor maar is ook gevonden in grote zoetwatermeren, zoals the Great Lakes (USA). Veel van de grote meren waarin *Thioploca* soorten gevonden worden, zijn ecologisch aangetaste meren met artificiële, gereconstrueerde kustzones en zacht sediment. Dynamische

fysische processen, zoals windwerking en golfbeweging, hebben een grote invloed op de benthische zone in deze meren. In de diepere delen zijn zuurstofconcentraties vaak laag. In deze meren is het diverse, voornamelijk benthisch productieve, systeem veranderd in een systeem waarin pelagische primaire productie domineert. De oeverzone en ondiepe delen van deze meren zijn fysisch en chemisch dynamisch geworden, bijvoorbeeld door een grote invloed van driehoeksmosselen (Dermott *et al.* 2005). De soortenrijkdom en abundanties van macrofauna zijn er laag, vaak met een dominantie van slechts enkele soorten, waaronder vaak driehoeksmosselen (Dermott & Legner 2002, Johansson *et al.* 2007) en vooral oligochaeten en chironomiden die de hoofdgroepen in de modderige delen van deze meren vormen. Alle bovengenoemde kenmerken zijn ook in het Markermeer terug te vinden. Amphipoden (Amphipoda), kokerjuffers (Trichoptera) en slakken (Gastropoda) komen voor in zones met meer structuur en waterplanten. Filamenteuze zwavelbacteriën kunnen de benthische zone zowel chemisch als fysisch beïnvloeden. Als nitraatfixeerders hebben ze met hun specifieke metabolische processen invloed op de zwavel- en stikstofbeschikbaarheid in de bodem, terwijl hun filamenten kunnen uitgroeien tot matten (figuur 1, rechts) die de benthische zone kunnen overwoekeren (Dermott & Legner 2002).

Thioploca spp. leven in bundels van maximaal 100 filamenten, met een gezamenlijke diameter van 0.5-1 mm, en lengtes van 5-15 cm (Maier 1989, Huettel *et al*. 1996, Schulz *et al*. 1996), omgeven door een gezamenlijke draadvormige schede van polysachariden. Deze filamenten kunnen in diepere, zuurstofarme bodemzones uitgroeien tot dichte, witte matten op en in de bovenste bodemlaag. De filamenten kunnen, als chemotactische reactie op nitraat-, sulfide- en zuurstofconcentraties (Dermott & Legner 2002), in de schede bewegen tussen het oxisch en anoxisch gebied. Zo kunnen ze beide metabolische processen, reductie en oxidatie, ruimtelijk gescheiden laten plaatsvinden (Fukui *et al*. 1999), en koppelt *Thioploca* de stikstof-, zwavel- en koolstofcyclus (Jørgensen & Gallardo 1999). De buiten- en binnenzijde van de schede zijn habitat voor andere bacteriën, zo zijn fotosynthetiserende bacteriën van het fylum *Chloroflexi* in de omhulsels van *Thioploca* waargenomen (Nemoto *et al*. 2011).

De soorten van het geslacht *Beggiatoa* vormen bundels bestaande uit enkele filamentvormige bacteriën (tot max. 122 µm dikte per filament) zonder schede (Maier & Murray 1965) die samen draden vormen welke zich kunnen ontwikkelen tot 'matten' met een diameter tot 3-4 m (Jannasch *et al*. 1989). *Beggiatoa* vormt witte, gelige en roze webachtige filamenteuze 'matten' op het oppervlak van anoxische sedimenten en rond kokers van bijvoorbeeld kokerwormen (*Riftia* sp.; Jannasch *et al*. 1989, Nelson *et al*. 1989). Draadvormende zwaveloxiderende *Beggiatoa* bacteriën zijn beweeglijker dan *Thioploca* (2-6 µm/s [17-52 cm/dag]) en reageren op de zuurstofconcentratie. De filamenten bestaan voor 12.5-16.7% uit celwand en cytoplasma (waarin sulfide wordt opgeslagen) en voor 80% uit vacuole met nitraatopslag (Jannasch *et al*. 1989, Jørgensen & Gallardo 1999). Ook *Thioploca* spp. hebben zeer grote vacuoles, waarin ze nitraat opslaan. Het nitraat wordt via de filamenten 5-10 cm de bodem in getransporteerd, waar het door waterstofsulfide-oxidatie tot ammonium wordt gereduceerd. Op deze wijze zijn ze in staat om de stikstof- en zwavelcycli in bodems te koppelen (Fossing *et al*. 1995).

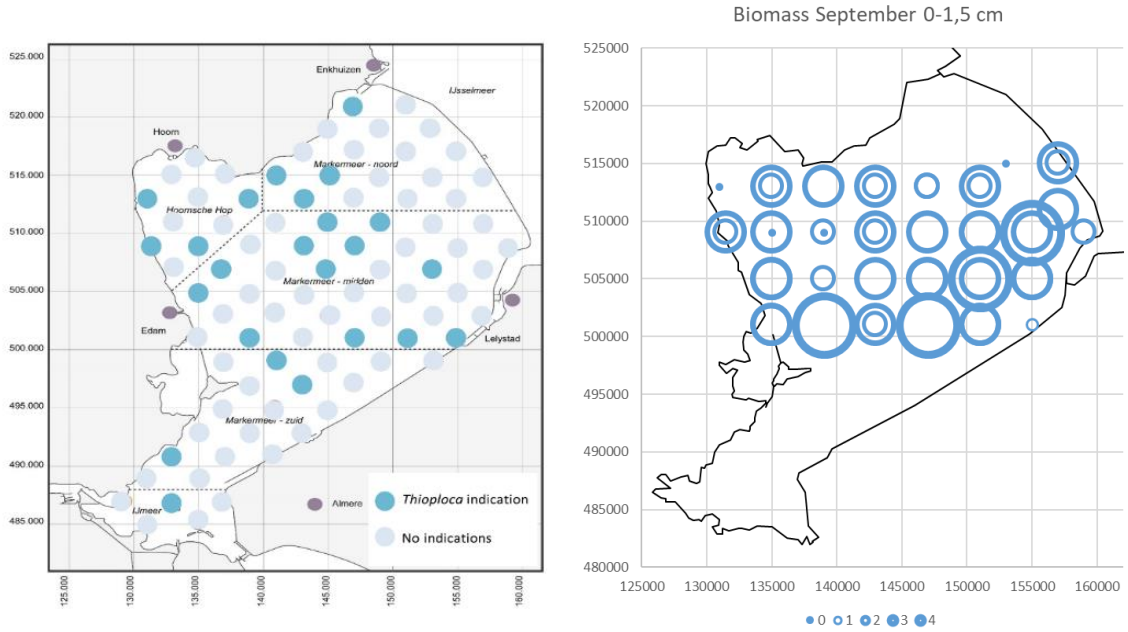


Figuur 2: *Schematisch overzicht van het metabolisme van Thioploca (Fossing et al. 1995).*

Hoewel de metabolische processen, waarbij nitraatreductie wordt gekoppeld aan koolstofoxidatie via de zwavelcyclus, voornamelijk zijn beschreven voor *Thioploca* soorten in een mariene omgeving, zullen deze

voor alle draadvormige zwavelbacteriën op hoofdlijnen vergelijkbaar zijn. Studies in andere zoetwatermeren met de bodembewonende draadvormende zwavelbacteriën hebben laten zien dat deze bacteriën netwerken van stugge draden vormen, vooral op het grensvlak tussen zuurstofloze en zuurstofrijkere bodemlagen, dat sommige taxa verticaal mee kunnen bewegen met een bewegende zuurstofgradiënt in de bodem en dat ze gevoelig zijn voor bodemverstoring door graven en opwoelen. Elke cel van deze bacterie bevat een grote vloeistofvacuole die wordt gebruikt als opslag voor nitraat en zwavel (figuur 2). Het nitraat wordt gebruikt als een elektronenacceptor voor sulfide-oxidatie waarbij energie beschikbaar komt om organisch materiaal om te zetten in groei.

Draadvormende zwavelbacteriën hebben vaak een oxisch-anoxische zwavelhoudende bodem nodig. Doordat ze ruimtelijk gescheiden elementen via hun metabolisme aan elkaar koppelen, worden zwavelbacteriën ook wel gradiëntorganismen genoemd, waarbij een horizontale oriëntatie in de reductiezone wordt verondersteld in combinatie met een verticale oriëntatie in de oxiderende zone van het sediment. Door deze combinatie van ruimtelijke gradiënten, kunnen de bacteriën gemakkelijker H_2S vanuit de bodem naar een hogere zone transporteren, waar zuurstof aanwezig is voor hun aerobe metabolisme (Larkin & Strohl 1983). Hoewel er geen directe correlatie is gevonden tussen de aanwezigheid van *Thioploca* en sedimentkarakteristieken (Nemoto *et al*. 2011) en het genus *Thioploca* geen specifieke eisen aan textuur lijkt te stellen, lijkt de aanwezigheid van nitraat en sulfide niet de enige bepalende factor voor de verspreiding te zijn. Op veel plekken waar nitraat en sulfide voldoende beschikbaar zijn, in tegenstelling tot wat Nemoto *et al.* (2011) verwachten, geen vertegenwoordigers van het genus *Thioploca* aangetroffen (Høgslund *et al.* 2010). Daarnaast lijkt *Thioploca* te profiteren van zeer fijne zachte sedimenten (Johannsson *et al.* 2007) en lijkt het genus gevoelig te zijn voor veranderingen in zuurstof- en zwavelconcentraties, en daardoor gevoelig voor milieuveranderingen.



Figuur 3*: Verspreiding van bacteriefilamenten in gridmonsters van de bodemfaunakartering 2016 (links) en de abundantie van draadvormende zwavelbacteriën in de toplaag van het sediment op een selectie locaties van hetzelfde grid in het najaar van 2019 (rechts).*

Een recente literatuurstudie over de onderlinge interacties van draadvormende zwavelbacteriën, wormen en vissen in het benthische deel van zoetwatermeren (Verdonschot *et al.* 2021) geeft inzicht over wat de rol kan zijn van zwavelbacteriën in zoetwatermeren als het Markermeer. Verdonschot *et al.* (2021) concluderen dat een verminderde toevoer van organisch materiaal vanuit de waterkolom naar de bodem de voedselkwaliteit voor het benthisch systeem heeft verarmd, waardoor er minder bodemactiviteit door benthos in de bovenste (zuurstofhoudende) bodemlaag plaatsvindt. De afname in benthos heeft ook geleid tot een vermindering van het bodemvisbestand door verminderde voedselbeschikbaarheid. Deze verlaagde activiteit van benthos en bodemvis heeft geleid tot een geringere zuurstofindringing in de bodem waardoor de draadvormende zwavelbacteriën naar boven zijn opgeschoven of in deze bovenste laag zijn gaan domineren. Deze uitbreiding c.q. situatie maakt van de draadvormende zwavelbacteriën een steeds

belangrijkere 'sink' van nutriënten en koolstof waardoor de energiestromen vanuit het benthisch systeem naar het pelagische zijn verminderd en de benthisch-pelagische koppeling is verzwakt. De draadvormende zwavelbacteriën leggen ook de bovenste bodem/sliblaag beter vast en verminderen de resuspensie. Hierdoor komen er nog minder nutriënten terug in de waterkolom, wordt de productie verder verlaagd en wordt de benthisch-pelagische koppeling verder verzwakt. Indien de aanwezige fauna weinig van de bacteriematten consumeert wordt de benthisch-pelagisch koppeling nog verder verzwakt. Als draadvormende zwavelbacteriën niet kunnen worden geconsumeerd door macroinvertebraten en vissen, zou dat de 'sink' werking door de draadvormende zwavelbacteriën extra versterken.

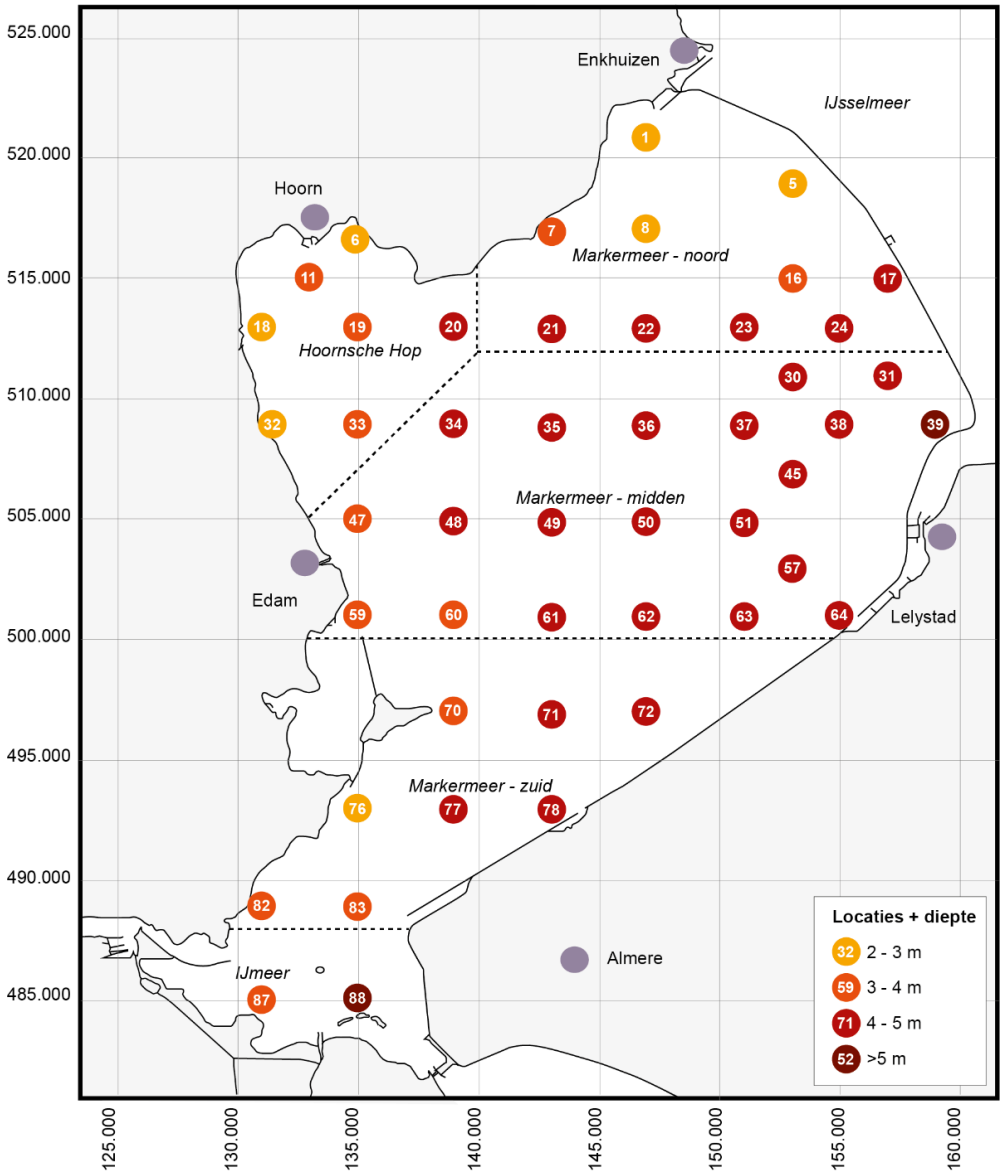
De in het Markermeer aangetroffen filamenten doen vermoeden dat *Thioploca* in het meer voorkomt. Het is echter niet met zekerheid aangetoond dat de filamenten daadwerkelijk tot het genus *Thioploca* behoren. Tijdens de macrofaunabemonstering in 2016 zijn bodemmonsters genomen en bewaard bij -80°C. Analyse van bacterieel DNA uit deze samples geeft inzicht in verschillende belangrijke vraagstukken omtrent de bacteriënpopulaties in het Markermeer:

1) Inzicht in het daadwerkelijk voorkomen van *Thioploca.*
2) Inzicht in de bacteriële samenstelling van de benthische zone in het Markermeer zoals deze was bij de aanvang van de aanleg van de Marker Wadden.
3) In combinatie met de studie van Noordhuis uit 2019 kan onderzocht worden of er sprake is van een toename van deze zwavelbacteriën ten opzichte van 2016 en of hun voorkomen samenhangt met verandering in dynamiek als gevolg van sterke wind of bouwwerkzaamheden in het meer.
4) Doordat de bacteriesamples tegelijkertijd met de bodemmacrofauna samples zijn verzameld, kunnen bacteriepopulaties en macrofaunasamenstellingen aan elkaar gerelateerd worden en ontstaat een completer beeld van het ecologisch functioneren van de benthische zone en het voedselweb in het Markermeer.
5) Uitbreiding van de nulmeting met gegevens over bacteriepopulaties dient als basis voor het begrijpen van ecologische ontwikkelingen in het Markermeer en het detecteren van mogelijke effecten van het aanleggen van de Marker Wadden.

2 Materiaal en methoden

2.1 Bodembemonstering in het Markermeer

In oktober 2016 is een nulmeting uitgevoerd van macrofauna in het Markermeer (Van Riel *et al.*, 2018). Tijdens deze nulmeting zijn ook bodemmonsters genomen van de88 locaties van het Markermeer meetnet. De bodemmonsters zijn opgeslagen bij -20°C, om de conditie maximaal op peil te houden voor toekomstige analyses indien deze gewenst zouden zijn. Tijdens het uitzoeken van de macrofaunamonsters viel op dat er filamenten in de monsters aanwezig waren welke zouden kunnen duiden op het voorkomen van *Thioploca* bacteriën in de Markermeerbodem. De locaties met filamenten zijn op een kaart aangegeven (figuur 3). Om aan te sluiten bij het onderzoek naar *Thioploca* van Noordhuis in 2019 en tevens inzicht in de bacteriënverdeling in verschillende delen van het Markermeer te krijgen, zijn 47 locaties uit het macrofauna bemonsteringsgrid geselecteerd voor analyse (figuur 4). Van deze locaties is door middel van sequentie analyse van PCR-geamplificeerde 16S rRNA genen ('16S Amplicon sequencing') de microbiële samenstelling onderzocht.



Figuur 4: *Ruimtelijk overzicht van de geselecteerde locaties voor bodembacterieanalyse.*

2.2 DNA extractie en sequentie analyse

DNA extractie
Doel van het project was om de microbiële levensgemeenschappen in sedimentmonsters van verschillende plekken in het Markermeer te bepalen. Hiervoor is DNA geëxtraheerd dat gebruikt is voor 16S Amplicon sequencing op een Illumina MiSeq platform.
Uit de geselecteerde Markermeer bodemmonsters is ca. 1 ml van de bovenste bodemlaag geëxtraheerd om DNA te bepalen met behulp van de DNeasy PowerSoil Pro Kit (volgens de instructies van Qiagen, Germany). De concentraties van het geëxtraheerde DNA zijn bepaald met een Qubit dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen, United Sates). De kwaliteit van het DNA is gecontroleerd met behulp van elektroforese in 1% agarose gels (figuur 5). Een PCR is uitgevoerd om potentiële problemen met de PCR-amplificatie te voorkomen (figuur 6). Vervolgens is 400 ng genomisch DNA in de Verenigde Staten geanalyseerd met behulp van 16S Amplicon sequencing.

16S Amplicon sequentie analyse
Sequencing is uitgevoerd door het commerciële bedrijf MR DNA (www.mrdnalab.com, Shallowater, TX, USA). 16S rRNA gen fragmenten werden vermeerderd met behulp van primer paar 515F-926R (Parada *et al*., 2016) dat zich richt op de V3-V4 gedeelte. Een 30-cycli PCR is uitgevoerd met een HotStarTaq Plus Master Mix Kit (Qiagen, USA) en de volgende PCR-reactie instellingen: een initiële denaturatie stap bij 95°C gedurende 3 minuten, gevolgd door 30 cycli van 30 seconden bij 95°C, 40 seconden bij 53°C, en 1 minuut bij 72°C. Hierna is als laatste een verlengende stap uitgevoerd bij 72°C gedurende 10 minuten. Na amplificatie zijn de PCR-producten gecontroleerd op een 2% agarose gel om het amplificatie succes en de relatieve intensiteit van de DNA-banden te bepalen. De PCR-producten zijn samengevoegd in vergelijkbare hoeveelheden. De gecombineerde monsters zijn opgeschoond met behulp van gekalibreerde Ampure XP beads. Vervolgens zijn de gecodeerde PCR producten gesequenced met een Illumina MiSeq systeem.

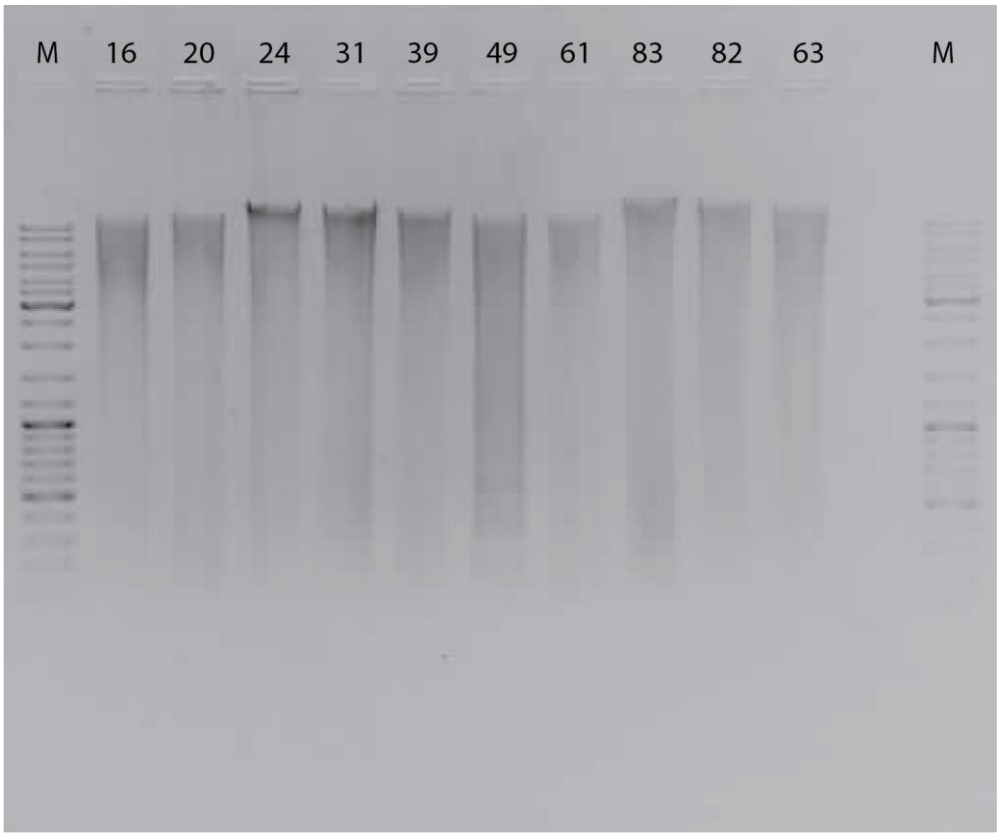
De 2 x 300 basenparen (bp) sequentie resultaten zijn eerst geanalyseerd in QIIME 2 (https://qiime2.org/, Bolyen *et al*., 2019). Taxonomische classificatie is uitgevoerd met dada2 op basis van de SILVA-database versie 138 (https://www.arb-silva.de/, Quast *et al*., 2012). Vervolgens zijn de resultaten verder geanalyseerd met behulp van het online-programma MicrobiomeAnalyst (https://www.microbiomeanalyst.ca/, Chong *et al*., 2020).

2.3 Data analyse

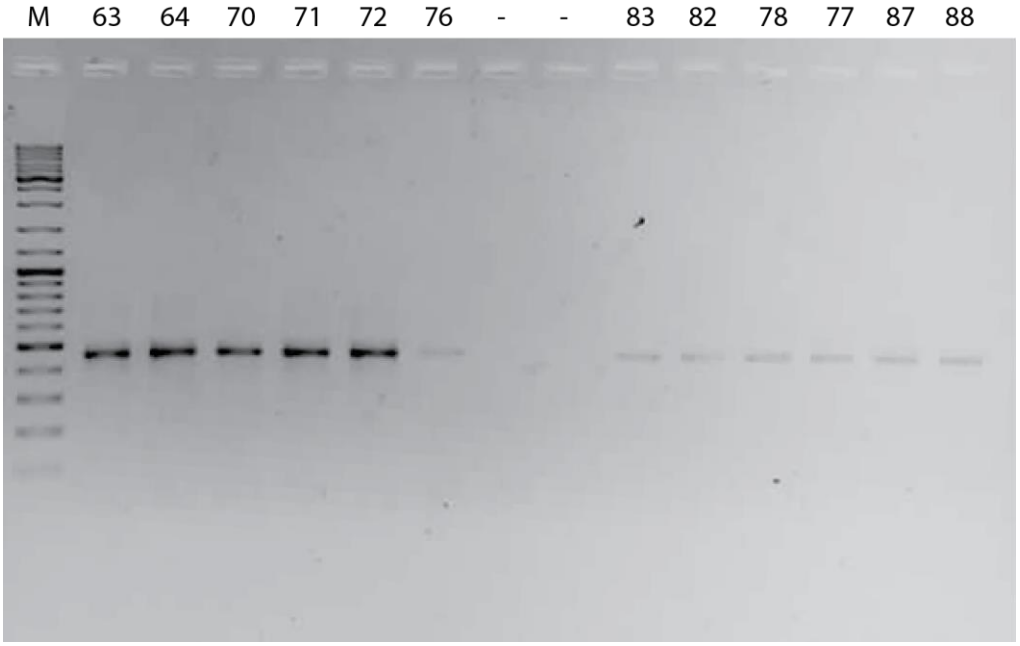
Een clusteranalyse van de betrokken locaties op basis van de microbiële samenstelling is uitgevoerd op het taxonomische niveau van fylum. De sequenties van de microbiële fyla zijn $\log_2$ getransformeerd om de invloed van dominantie in de clustering te beperken. Ward clustering is toegepast (Orange, 61,1% height ratio). Op basis van de 15 meest voorkomende microbiële fyla in de analyse van het Markermeer, is een analyse uitgevoerd naar de koppeling tussen de bodembacteriesamenstelling en de ecologie van het Markermeer. Hierbij is gebruik gemaakt van de verspreiding van de bacteriefyla, hun rol in bodemprocessen en de combinatie met andere bodemorganismen.

2.4 DNA extractie

De kwaliteit van het geëxtraheerde DNA was voor alle bodemmonsters goed (figuur 5) en PCR-producten konden voor alle locaties verkregen worden (figuur 6).



Figuur 5: *Voorbeeld van een agarose gel elektroforese van genomisch DNA, geëxtraheerd uit sediment samples. M is een DNA-marker.*



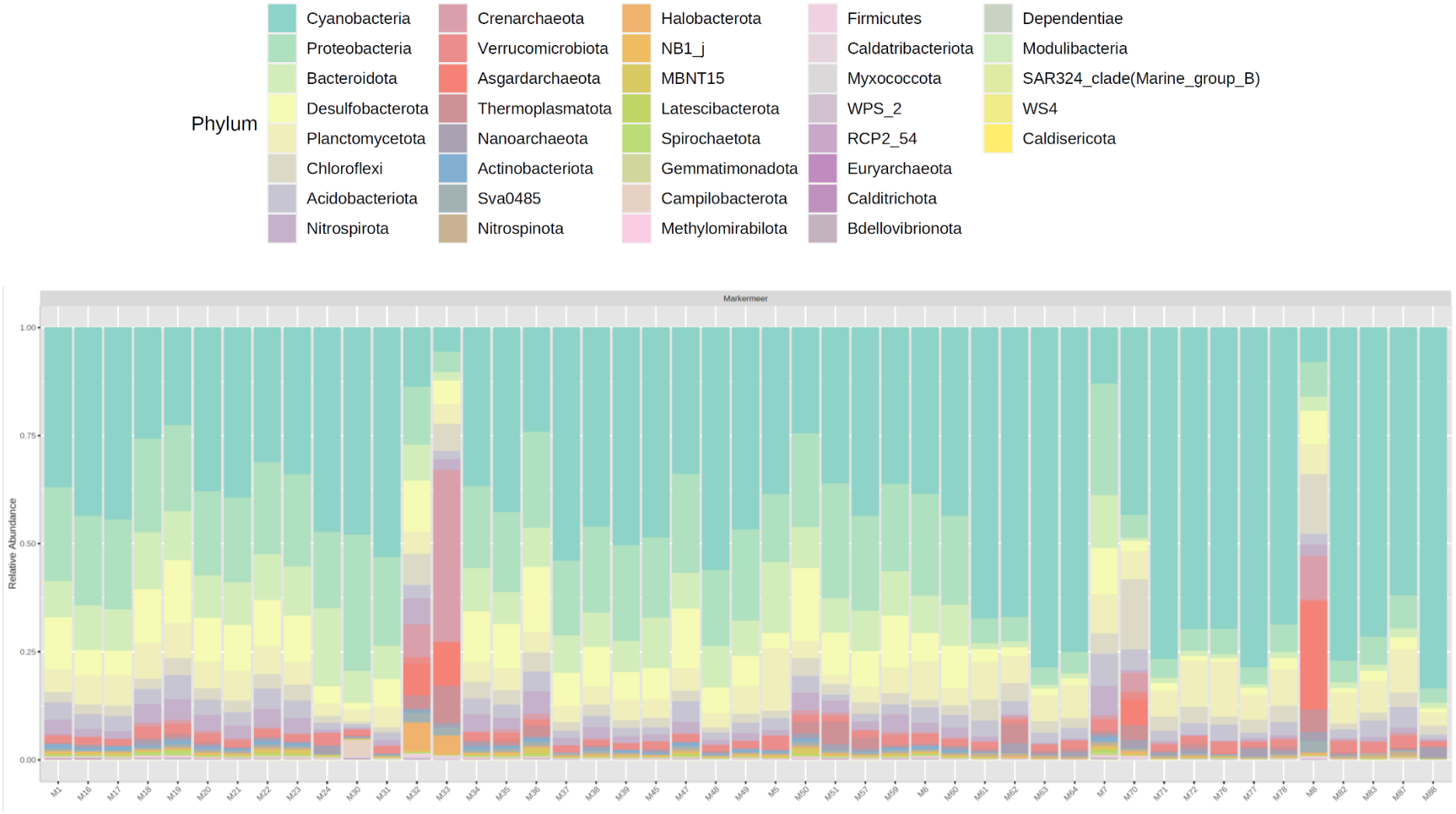
Figuur 6: *Voorbeeld van een agarose gel elektroforese van PCR-producten, verkregen uit het geëxtraheerde DNA. M is een DNA-marker.*

3 Resultaten en discussie

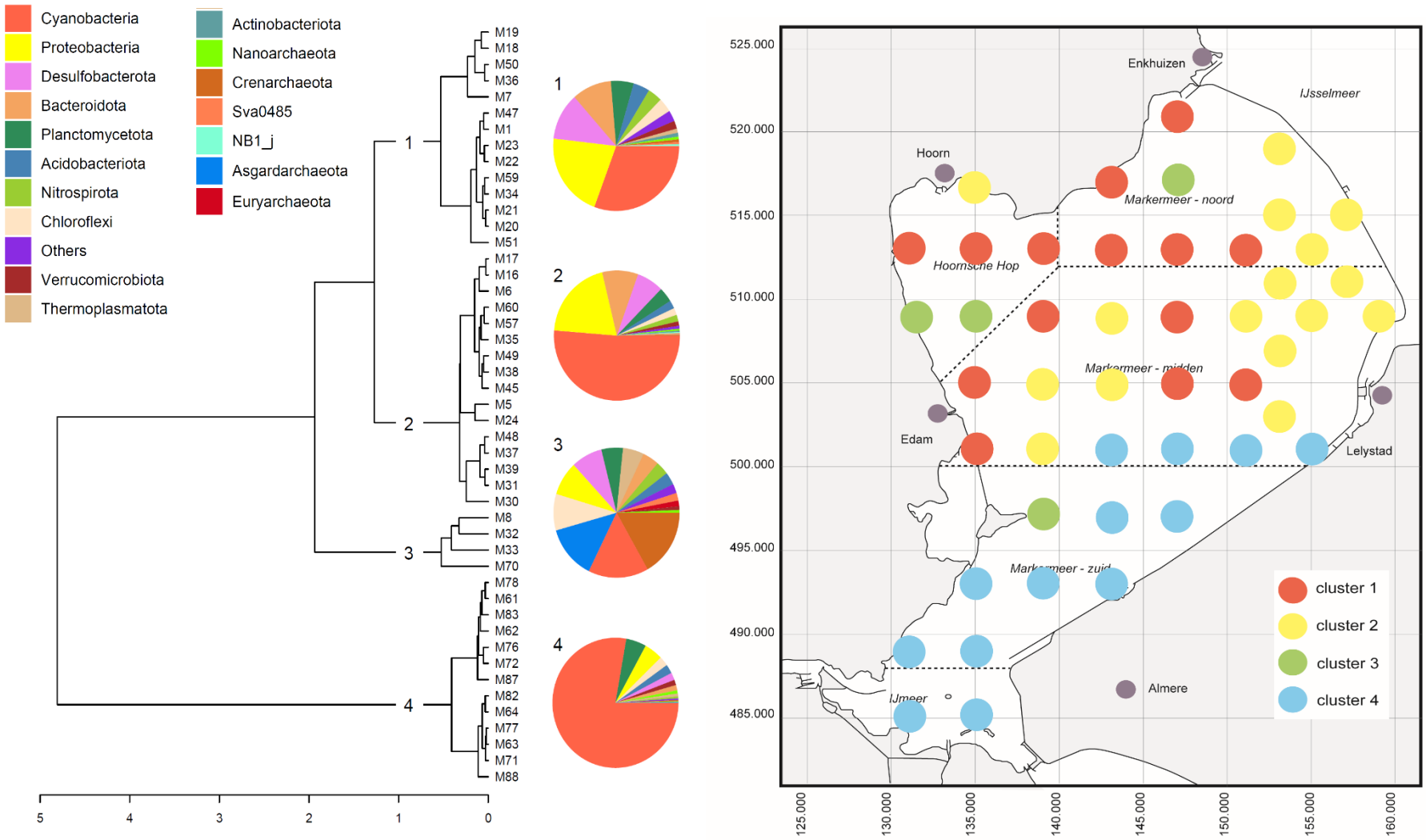
3.1 Bacteriële samenstelling van de benthische zone in het Markermeer

3.1.1 Algemeen

Figuur 7 geeft de samenstelling van de microbiële levensgemeenschappen voor de verschillende bodemmonsters. De meeste sequenties zijn gerelateerd aan het fylum Cyanobacteria, of meer specifiek, 16S rRNA sequenties van Cyanobacteria en van chloroplasten uit algen en waterplanten. Vijf samples (M7, M8, M32, M33, and M70) hebben een afwijkende microbiële samenstelling.
De clusteranalyse op basis van de microbiële samenstelling van de monsters onderscheidt vier verschillende clusters (figuur 8). Clusters 1 en 2 corresponderen met het noordelijke deel van het Markermeer, het gebied boven de denkbeeldige lijn van Edam naar Lelystad, terwijl de samples in cluster 4 in het zuidelijke deel, onder deze denkbeeldige lijn te vinden zijn (figuur 8). De monsters in cluster 3 hadden geen specifieke ruimtelijke ligging; deze monsters (M8, M32, M33, en M70) komen verspreid over het meer voor. De microbiële samenstellingen van de verschillende clusters zijn als taartgrafieken weergegeven (figuur 8). Sequenties die duiden op de aanwezigheid van Cyanobacteria zijn dominant aanwezig in cluster 1, 2, en 4. Naast Cyanobacteriën komen Proteobacteria veelvuldig voor in cluster 1 en 2, en in mindere mate in de clusters 3 en 4. Cluster 3 bevatte een grotere verscheidenheid aan sequenties gelieerd aan verschillende fyla binnen het domein Archaea, i.e., Themoplasmata, Nanoarchaeota, Crenarchaeota, Asgardarchaeota en Euryarchaeota.



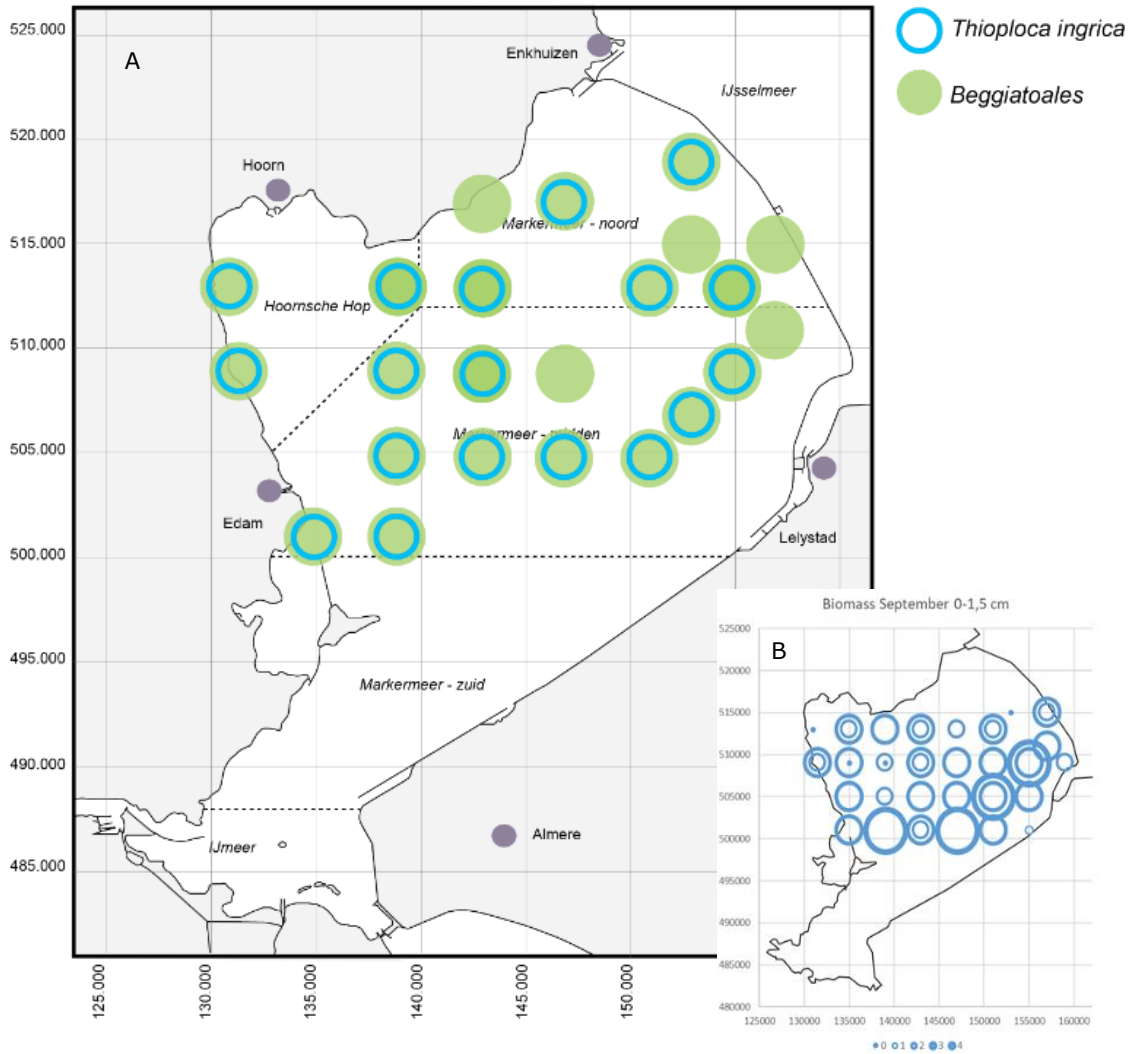
Figuur 7: *De samenstelling van bacteriefyla in de Markermeerbodemmonsters.*



Figuur 8: *Clusteranalyse van de samenstelling van bacteriefyla in de Markermeerbodem (links) en de ruimtelijke verspreiding van de clusters in het meer (rechts).*

3.1.2 *Thioploca* en *Beggiatoa* in het Markermeer

Om filamenteuze bacteriën te kunnen onderscheiden in de sequentie resultaten, is een lijst gemaakt op het taxonomisch niveau van genus. Het aantal gevonden sequenties voor de genera *Beggiatoa* en *Thioploca*, de typen filamenteuze zwavelbacteriën die bij de opzet van dit project verwacht werden, was erg laag. Op de locaties waar genetisch materiaal van deze bacteriegroep is aangetroffen, was het aandeel van deze groep slechts 0-0.1% (max 113 readings) van het totaal. Voor de enige *Thioploca* soort in de monsters, *Thioploca ingrica*, was dit slechts 0.027% (max 34 readings) van het totaal. De analyse geeft daarmee aan dat *Thioploca* en *Beggiatoa* in 2016 op basis van de hier gehanteerde methodiek nauwelijks voorkwamen in het Markermeer en een slechts zeer bescheiden onderdeel van de benthische bacteriepopulatie vormden. De twee andere belangrijke genera van draadvormende zwavelbacteriën, *Thiothrix* en *Thiovulum*, werden evenmin aangetroffen. De ruimtelijke verspreiding van de monsters waarin 16S sequenties van *Thioploca* en *Beggiatoa* zijn aangetroffen (figuur 9), komt overeen met het ruimtelijk patroon van in het Markermeer gevonden filamenten (figuur 3).

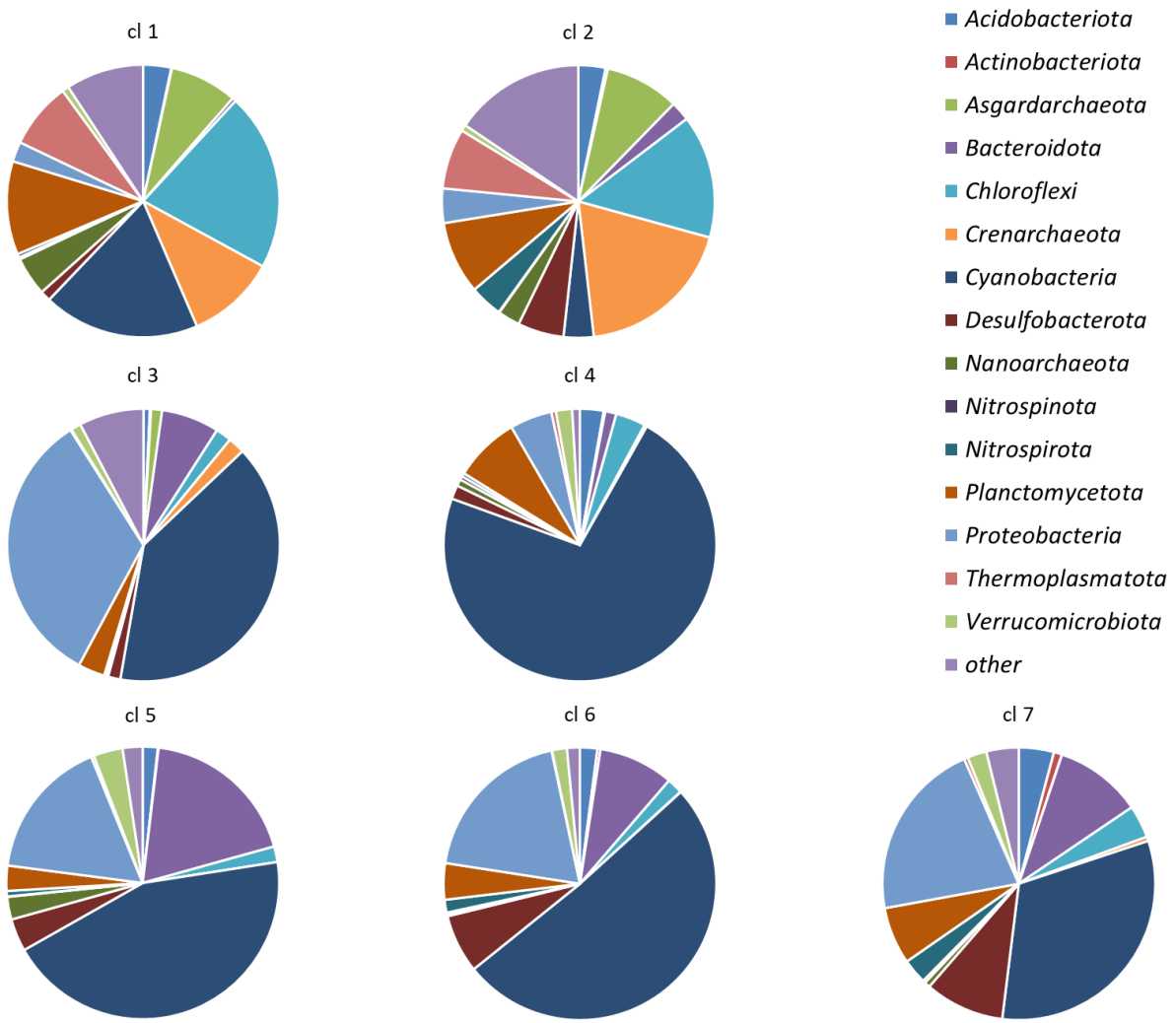


Figuur 9: *Ruimtelijk overzicht van locaties waarvan de sequentie analyse aangeeft dat Thioploca ingrica en/of Beggiatoa aangetroffen is (A). De blauwe cirkels op de inzetfiguur (B) geven de observaties van filamenten door Noordhuis (2019) weer.*

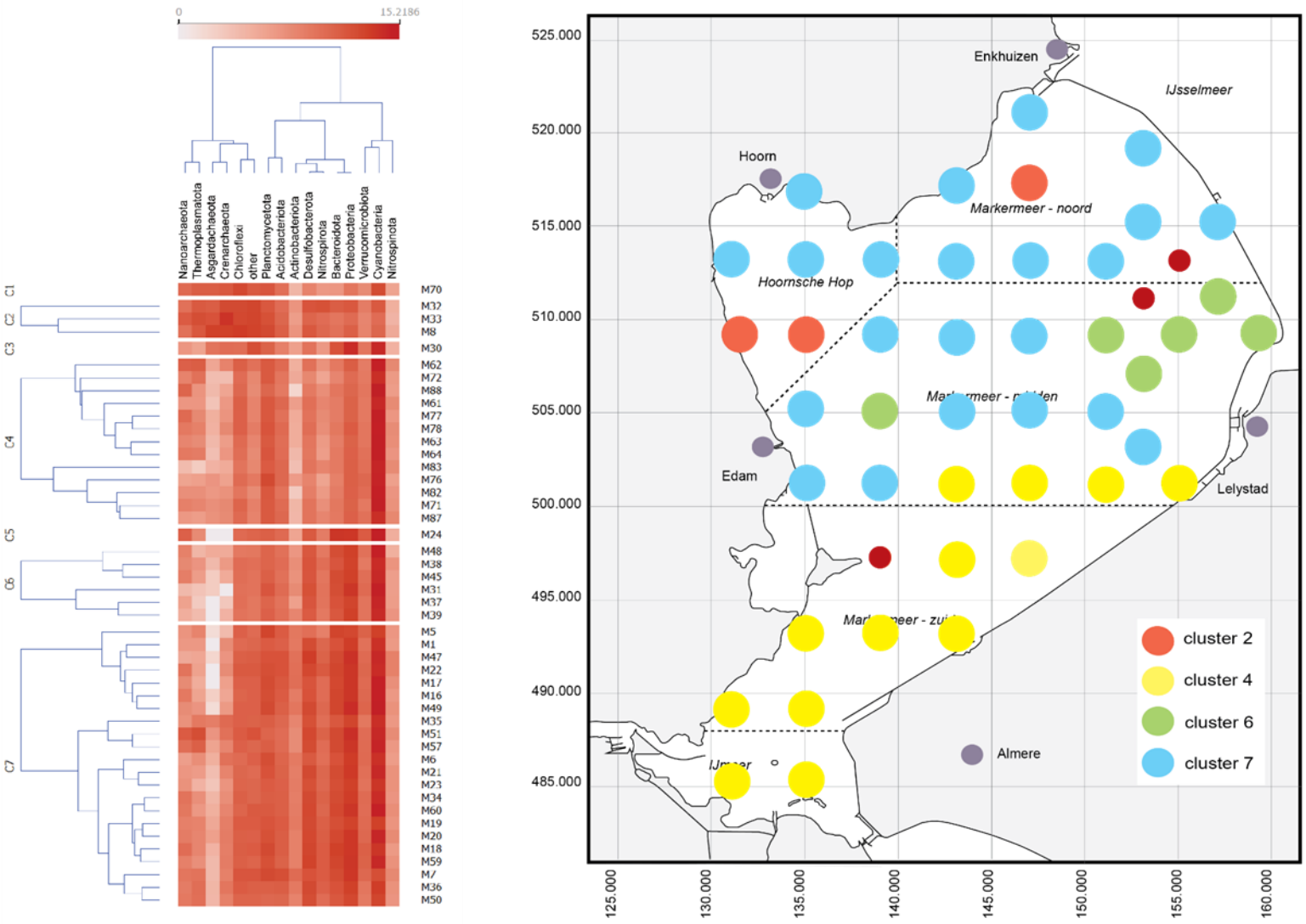
3.2 Bodembacteriën en ecologie in het Markermeer

3.2.1 De 15 hoofdgroepen

Van de in totaal 74 gedetecteerde bacteriefyla, vormen 15 fyla samen de meerderheid van de bodembacteriën in het Markermeer. Zij maken 84-99% uit van de totale bacteriepopulatie en worden daarom als hoofdgroepen beschouwd. Uit de clusteranalyse (Ward, 61.1% height ratio) van deze 15 meest abundante fyla (figuur 11), bleken de bacteriesamenstellingen van de bodemmonsters zich in 7 clusters te onderscheiden. Drie locaties buiten de clusters betreffen de plek waar de eilanden van de Marker Wadden aangelegd worden en voor het (schier)eiland Marken. In de meeste clusters (3 t/m 7) zijn sequenties van Cyanobacteria en chloroplasten uit algen en waterplanten dominant (figuren 10 en 11). Onderscheid tussen de clusters in deze cyanobacteriën/cloroplast rijke groep berust voornamelijk op verschillen in de aanwezigheid van genera behorende tot de fyla Proteobacteria, Bacteroida en Desulfobacterota. In de clusters 6 en 7 komen genera behorende tot de fyla Proteobacteria en Bacteroidota meer voor. In cluster 6, de locaties in het gebied waar Marker Wadden aangelegd wordt, zijn relatief weinig sequenties gevonden die duiden op het voorkomen van genera behorende tot de fyla Crenarchaeota, Thermoplasmatota, en Asgardarchaeota. Genera behorende tot het fylum Nitrospirota zijn relatief veel aanwezig in cluster 7 en 2. De kleine clusters 1 en 2 wijken sterk af in soortensamenstelling. Cyanobacteriën/chloroplasten materiaal is minder dominant en de clusters zijn soortenrijker. Ook zijn er meer sequenties voor genera behorende tot de fyla Chloroflexi, Crenarchaeota, Plantomycetota en Thermoplasmatota gevonden.



Figuur 10: *Relatieve dichtheid sequenties in de clusters van de 15 meest voorkomende fyla in de Markermeerbodem.*



Figuur 11: *Clusteranalyse (links) en ruimtelijke verspreiding van de clusters (rechts) op basis van de 15 fyla bodembacteriën in de Markermeerbodem.*

3.2.2 Metabolische processen en ecologische functies

Micro-organismen spelen een essentiële rol in bodemgeochemische processen van aquatische systemen. Microbiologische strategieën voor het ontlenen en gebruiken van energie bepalen de trofische en biogeochemische status van ecosystemen (Paerl & Pinckney 1996). De samenstelling van de microbiële bodemgemeenschap en bijbehorende procesfuncties, geeft daardoor informatie over de ecologie van het Markermeer. De in de Markermeerbodem gevonden microbiële fyla zijn betrokken bij de metabolische omzettingsprocessen uit de koolstof-, stikstof- en zwavelcycli (tabel 1). Het merendeel betreft fotosynthetiserende bacteriën (Cyanobacteria*;* 47%) en sulfide- of ammoniumoxiderende groepen (Proteobacteria, Chloroflexi en Crenarchaeota; samen 21%). De dominante aanwezigheid van cyanobacteriën duidt erop dat fotosynthese de belangrijkste energie- en voedselbron voor de microbiële gemeenschap in het Markermeer is, zoals voor vele microbiologische gemeenschappen het geval is (Prieto-Barajas *et al*. 2018).

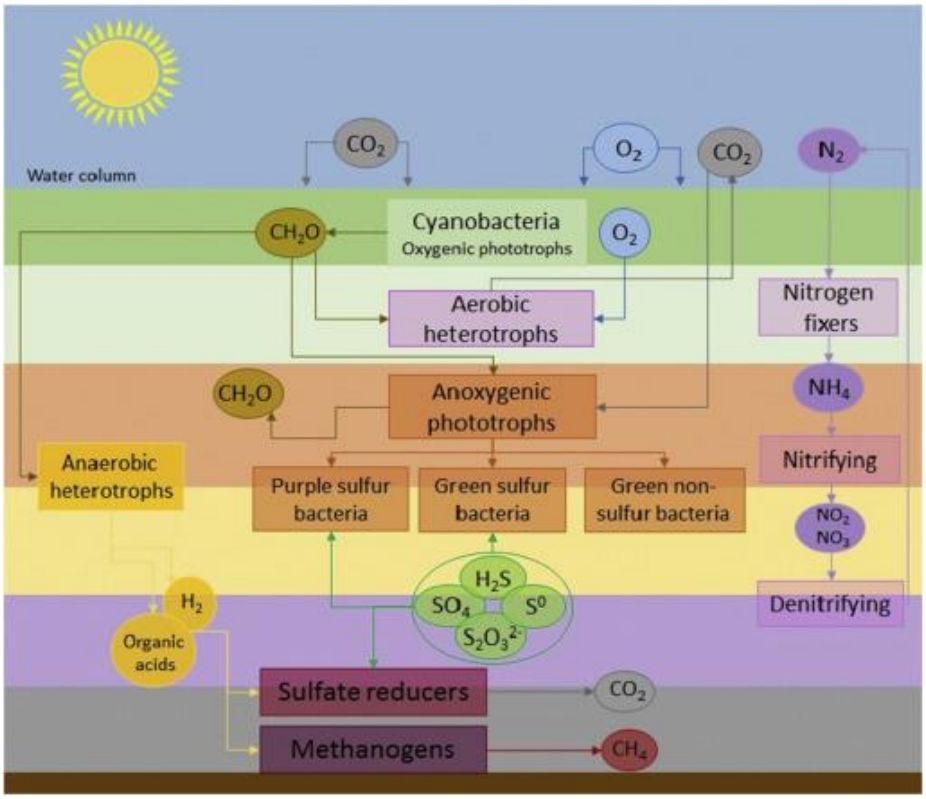
Tabel 1: *Indicatie van de functies van de 15 dominante bacteriefyla in het Markermeer.*

Phylum	Percentage van het totaal # sequenties	fotosynthese	sulfaatreductie	sulfide oxidatie	afbraak poly-sacchariden	nitriet oxidatie	ammonium-oxidatie	afbraak organische stof
Cyanobacteria	47.31	■						
Proteobacteria	16.77			■			■	
Bacteroidota	7.71				■			
Desulfobacterota	7.21		■					
Planctomycetota	5.77							
Acidobacteriota	3.01							
Chloroflexi	2.88			■				
Nitrospirota	2.09					■		
Verrucomicrobiota	1.73				■			
Crenarchaeota	0.87						■	
Thermoplasmatota	0.79							■
Nanoarchaeota	0.64							■
Asgardarchaeota	0.5							■
Actinobacteriota	0.43				■			
Nitrospinota	0.33					■		

Biologische interacties zijn essentieel voor het functioneren van een biofilm of biomat. Bacteriën leven vaak in gestructureerde levensgemeenschappen bestaande uit consortia, waarin soorten samenwerken in processen gerelateerd aan de koolstof-, zwavel- en stikstofcycli (figuur 12). Hierdoor hebben ze een grote invloed op de (bodem)biochemie van een aquatisch systeem (Prieto-Barajas *et al*. 2018). De gemeenschappen bevatten een variatie aan biofunctionele groepen, waaronder fotosynthetiseerders (Cyanobacteriën), anoxische fotosynthetiseerders (*Chloroflexi*, *Chlorobi* en *Proteobacteria*), aerobe heterotrofen en anaerobe sulfaat reducerende bacteriën (SRB), zwaveloxiderende bacteriën, methanogene Archaea, nitrificeerders en denitrificeerders (figuur 12). De gemeenschap is zo geconstrueerd dat de functies van de verschillende soorten elkaar ondersteunen, de oxische en anoxische omzettingen kunnen het beste afgestemd worden op het grensvlak van het oxisch en anoxisch bodemmilieu. Door de afstemming ontstaat een dynamische verticale fysisch-chemische gradiënt met micromilieu's en niches die aansluiten op de specifieke eisen van de soorten (Bolhuis *et al*. 2014). De samenstelling en dichtheden van de verschillende consortia in een microbiologische structuur zijn inherent aan het type biomat en de locatie waar deze voorkomt (Bolhuis *et al*. 2013). De microbiële structuren variëren van een dun laagje van enkele millimeters (biofilm) op het sediment of rondom losse sedimentdeeltjes, tot centimeters dikke

matten (biomatten) op en in de bodem en van monoculturen tot complexe levensgemeenschappen (Prieto-Barajas *et al*. 2018).

Er is bij biomatten sprake van ecologische successie. Microbiële matten ontwikkelen zich van dunne films rondom (zwevend) sedimentdeeltjes tot verticaal gelaagde structuren van meerdere biofilms in de benthische zone. De eerste overlevingsstap voor dit trofische netwerk is fotosynthese door primair producerende bacteriën, dit zijn de pioniersoorten voor een biomat. Fotosynthetiserende bacteriën, zoals cyanobacteriën, leven op het zuurstofrijke bodemoppervlak en produceren voedingsstoffen die in de bodem en benthische zone omgezet kunnen worden. Eencellige en filamenteuze cyanobacteriën hebben ook een functie in de stikstoffixatie. Cyanobacteriën koloniseren het benthische milieu en maken het geschikt voor andere bacteriën door structuren in de bodemlaag op de grens van zuurstofrijk en zuurstofarm te vormen, zodat meer gespecialiseerde micro-organismen met specifiekere en hogere eisen zich in de bodem kunnen vestigen en handhaven (Prieto-Barajas *et al*. 2018). Bacteriegroepen die stikstof- of zwavelverbindingen omzetten leven echter in de zuurstofloze bodem. Stikstoffixerende, sulfaatreducerende en organische stof omzettende bacteriën kunnen profiteren van de energie en structuren die de cyanobacteriën genereren. Omzettingsproducten worden tussen de verschillende functionele groepen doorgegeven en verder omgezet tot voor het voedselweb opneembare producten (figuur 12). De gemeenschap ontwikkelt zich verder tot een complexe, dynamische structuur waarin micro-organismen hun positie kunnen aanpassen naar de meest gunstige condities voor bijvoorbeeld lichtintensiteit, zuurstofbeschikbaarheid of redox potentiaal (Yamanaka *et al.* 2013, Boomer *et al.* 2009). Goed ontwikkelde biomatten bestaan uit zelfvoorzienende, soortenrijke microbiële gemeenschappen die intensief met elkaar interacteren, omgeven door een matrix van exopolysacchariden. Deze biomatten kunnen losse bodems stabiliseren, bescherming bieden tegen fysische dynamiek en de ontwikkeling van een pioniervegetatie faciliteren (Bolhuis *et al*. 2013).



Figuur 12: *Voorbeeld van de structuur van en metabolische processen in biomatten (Bron: Prieto-Barajas* et al. *2018). Thioploca en Beggiatoa behoren tot de kleurloze zwavelbacteriën en nemen in de figuur een met de overige zwavelbacteriën vergelijkbare functie in.*

Hoewel de meeste van deze functionele groepen ook in het Markermeer zijn aangetroffen (tabel 1), zijn cyanobacteriën dominant. De andere groepen zijn bepekt vertegenwoordigd (sequentie percentage *Proteobacteria* <16, overige groepen <8). Processen als fotosynthese, stikstoffixatie, denitrificatie, metalenreductie, sulfaatreductie en methanogenese zijn essentieel voor het functioneren van biomatten (Paerl & Pinckney 1996, Prieto-Barajas *et al*. 2018) en worden beïnvloed door zuurstofbeschikbaarheid,

pH, redox potentiaal, saliniteit, de aanwezigheid van elektronendonoren en -receptoren, en de fysische parameters lichtintensiteit, temperatuur en druk (Prieto-Barajas *et al* 2018).

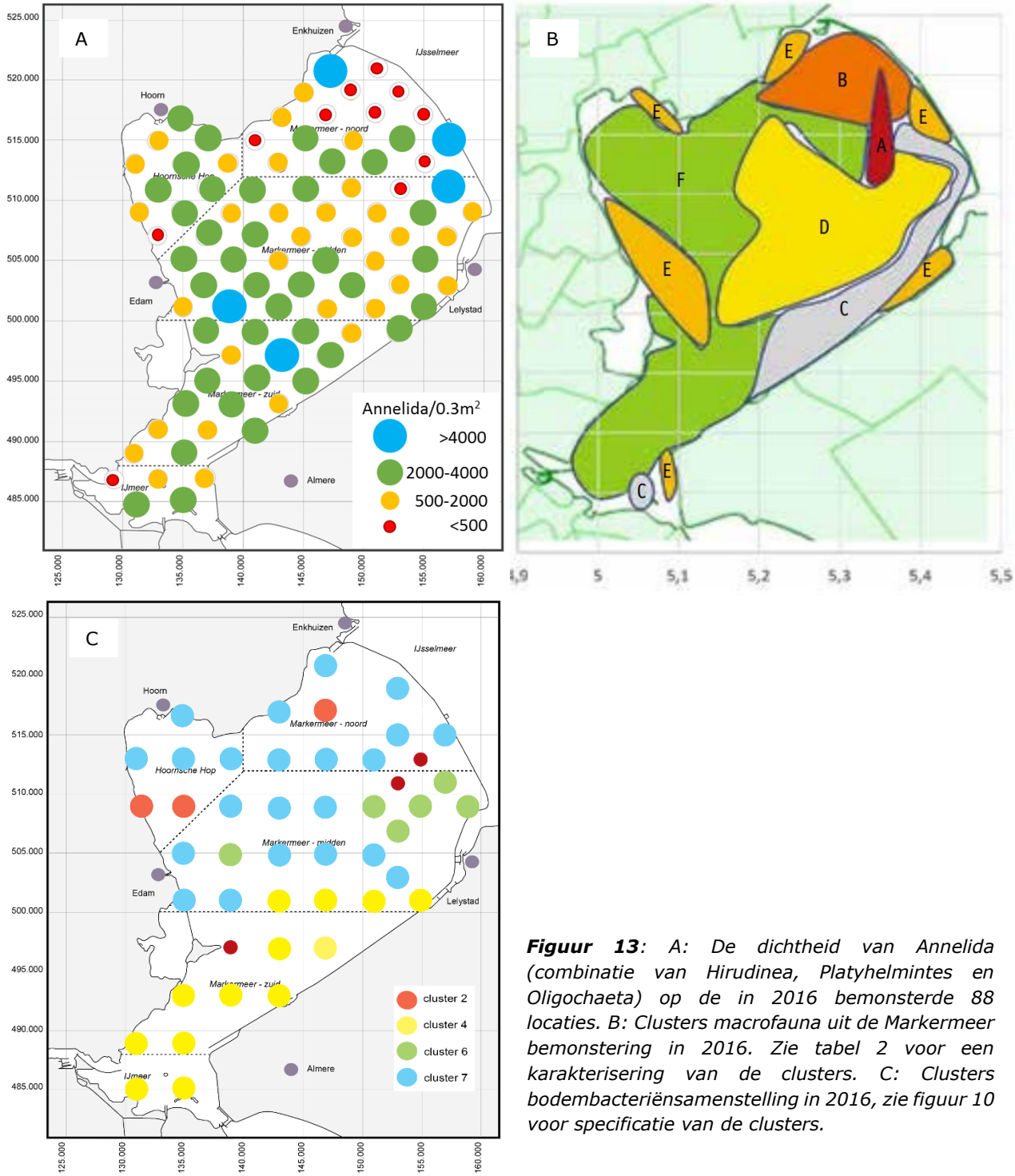
Ondanks het ontbreken van gestructureerde biomatten op de Markermeerbodem, bevat de bodem dezelfde hoofdgroepen als die voor de Waddenkust aangetroffen zijn in de zoetere delen van de brakwatergradiënt (Bolhuis *et al*. 2013). Ook langs de Waddenkust bevatten de gemeenschappen veel Cyanobacteria, maar ze domineren er niet. Proteobacteria was het meest abundante fylum. Mogelijk zijn de fyla voor het opbouwen van een symbiotische structuur wel aanwezig, maar is de Markermeerbodem te dynamisch om de complexe gemeenschapsstructuren tot ontwikkeling en successie te kunnen laten komen. Wanneer Markermeerslib tot rust gebracht wordt in een experimentele setting, vormt zich binnen enkele uren een microbiële laag (Van den Berg *et al*. 2014, Van Riel *et al*., in prep.) die zich mogelijk verder zou kunnen ontwikkelen tot biofilm of biomat. Op de bodems met biomat of biofilm ontwikkelde de vegetatie meer lengte en biomassa dan op het Markermeer kleisubstraat met zeer beperkte microbiële laag.
Op basis van micromilieu kunnen, naast de in biofilms en biomatten gestructureerde micro-organismen, ook aan detritus en plankton gerelateerde consortia worden onderscheiden (Paerl & Pinckney 1996). In aan plankton gerelateerde consortia vormen diatomeeënsoorten vaak een een-op-een consortium met cyanobacteriën, welke gerelateerd zijn aan de productie en omzetting van nutriënten. Belangrijke biogeochemische omzettingen vinden vaak geconcentreerd plaats in het detritus. Het is mogelijk dat het voedselweb van het Markermeer uit twee parallelle delen bestaat met weinig samenhang: Een pelagisch voedselweb waarin algen een grote rol spelen en waar de algen en de zwevende deeltjes een cyclus doormaken, en een meer benthisch voedselweb waarin de bodembewonende macrofauna, de zwavelbacteriën en mogelijk de bodemwoelende vissen een rol spelen (Verdonschot *et al.* 2020). Hoe gescheiden, dan wel interactief, deze twee deelvoedselwebben zijn is nog onduidelijk.

3.3.3 Bodembacteriën in relatie tot andere bodemorganismen in het Markermeer

Naast de sterke invloed van bodembacteriën op de chemische processen in de bodem en hun invloed op bodemstructuur en habitatheterogeniteit, bestaan er ook interacties met bodemorganismen als planten en macrofauna. Zo kunnen bacteriën en andere organismen in symbiose van elkaar profiteren, kunnen bacteriën de omgeving meer of minder geschikt maken voor andere organismen en kunnen voedselrelaties bestaan.
Er is nog veel onduidelijkheid over voedselrelaties. Doordat bacteriën zowel chemoautotroof, heterotroof en facultatief mixotroof kunnen zijn, hebben ze geen karakteristieke isotopensignatuur, wat het moeilijk maakt om trofische relaties met draadvormende zwavelbacteriën te bepalen. Op basis van vetzurenanalyse en waarnemingen van restanten van draadvormige bacteriën in monddelen en darmen van macrofauna en vissen, is aangetoond dat macrofauna en vissen bacteriën consumeren. Een aantal studies rapporteert trofische relaties van organismen in de benthische zone met bodembacteriën. Voor mariene zwavelbacteriën is aangetoond dat ze door anaerobe ciliaten worden geconsumeerd (Fenchel & Bernard 1995, Bernard & Fenchel 1995). Voor enkele soorten intergetijdenslakken, garnalen, gastropoden, vlokreeften, pissebedden en het schelpdier *Corbicula japonica* is waargenomen dat ze op draadvormige schimmels en bacteriën grazen, waaronder zwavelbacteriën (Gebruk *et al*. 2000, Stein 1984, Trager & DeNiro 1990, Yamanaka *et al*. 2013). Hoewel maar weinig invertebraten actief prederen op bacteriën kleiner dan 7 µm, worden ze vaak passief door filteraars of detritivoren opgenomen. Op basis van stabiele isotopen vermoeden Kiyashko *et al*. (2001) dat larven van chironomiden en oligochaeten zich onder andere (facultatief) voeden met zwaveloxiderende bacteriën en waarschijnlijk ook met andere bodembacteriën. Zij vermoeden dat larven van chironomiden een sleutelrol spelen in de koppeling van methaanproducerende bacteriën en hogere trofische niveaus in veel zoetwatersystemen. Van larven van chironomiden is bekend dat ze de verspreiding van methanotrofe bacteriën in de bodem beïnvloeden (Kajan & Frenzel 1999). Dermott & Legner (2002) opperden dat detritivore vlokreeften (*Diporeia*) zich voeden met bezonken plankton (vnl. diatomeeën: Gardner *et al*. 1990, Johnson & Wiederholm 1992) en bodembewonende zwavelbacteriën (Marzolf 1965, Sly & Christie 1992, Goedkoop & Johnson 1994).

In 2016 is voor dezelfde locaties als onderzocht in deze studie gelijktijdig een bodemmacrofauna analyse uitgevoerd. Met het inventariseren van bodemmonsters op bodembacteriën, is een relatie te leggen tussen de gemeenschappen van bodemmicro-organismen en de samenstellingen van de macrofauna in de bodem van het Markermeer. Op het eerste gezicht is niet een duidelijke correlatie zichtbaar tussen de patronen van bodembacteriën en macrofauna in de benthische zone van het Markermeer (figuur 13). De bodembewonende macrofauna van het Markermeer bestaat vooral uit Annelida (wormen, figuur 13a); met

name veel oligochaeten en de polychaeet *Hypania*. Deze wormen graven in de bovenste laag van de bodem, ze bioturberen en zouden de anaerobe bodembacteriën dieper de bodem in kunnen dwingen omdat ze de bovenste bodemlaag van zuurstof voorzien met hun activiteit.



***Figuur 13**: A: De dichtheid van Annelida (combinatie van Hirudinea, Platyhelmintes en Oligochaeta) op de in 2016 bemonsterde 88 locaties. B: Clusters macrofauna uit de Markermeer bemonstering in 2016. Zie tabel 2 voor een karakterisering van de clusters. C: Clusters bodembacteriënsamenstelling in 2016, zie figuur 10 voor specificatie van de clusters.*

Dichtheden van Oligochaeta en Tubificidae zijn zeer variabel in zoetwatermeren en sterk afhankelijk van het voedselaanbod, de diepte, de zuurstofhuishouding en competitie/predatie (Howmiller 1977). Hierdoor kunnen wormendichtheden tussen verschillende meren slechts vergeleken worden indien de omstandigheden van bepalende milieuvariabelen vergelijkbaar zijn. Bij lage predatie, voldoende zuurstof en organisch materiaal, kunnen deze wormen hogere aantallen bereiken. In het Markermeer varieert de

verdeling van aantallen Oligochaeta tussen de 1600 en 13300 individuen per m^2. In 2016 lagen de gemiddelde dichtheden rond de 6000 individuen per m^2.

Tabel 2: *Karakterisering van de zes benthosgemeenschappen in het Markermeer in 2016.*

GEMEENSCHAP	AANTAL MONSTERS	TOTAAL AANTAL TAXA	GELIJKEND OP	SIMILARITEIT GELIJKEND CLUSTER (%)	GEMIDDELD AANTAL INDI-VIDUEN (M^2)	GEMIDDELDE BIOMASSA (G/ M^2)
A zoetwaterborstelwormen (arm)	7	12	Geen	43	314	32
B driehoeksmosselen	14	26	F	47	1357	165
C zoetwaterborstelwormen	45	42	D	71	6068	660
D borstelwormen	68	40	E	82	7507	686
E borstelwormen + driehoeksmosselen + lijnpissebedden	56	60	D	82	9206	731
F driehoeksmosselen + borstelwormen + vlokreeften	69	65	E	70	10593	992

* borstelwormen= zoetwater- en mariene borstelwormen

De benthische macrofauna in het Markermeer is in 6 clusters te onderscheiden (figuur 13b, tabel 2). Waar voor macrofauna eerder een verschil tussen het westelijke en oostelijke deel van het meer te zien is, duidt de clusterverdeling voor bodembacteriën eerder op een ruimtelijk onderscheid tussen het zuidelijke deel en het noordelijke deel van het Markermeer, waarbij de lijn Lelystad-Edam de overgang vormt. Macrofauna en bodembacteriën vertonen beide weinig diversiteit en een dominantie van slechts enkele soorten. Waar de macrofaunagemeenschap vooral bestaat uit zoetwaterborstelwormen, wordt de bacteriëngemeenschap gedomineerd door cyanobacteriën. Locatie 24 en 30 geven een afwijkend beeld in zowel in de macrofaunabemonstering als in de bodembacterie-analyse (figuur 13). Dit gebied, waar Marker Wadden aangelegd wordt, blijkt zowel arm in macrofauna (cluster A) als in bodembacteriën (cluster 3 & 5).

Zoetwaterborstelwormen zijn biotubators. In het Markermeer is in de gebieden waar clusters A en B voorkomen (figuur 13b) het bioturbatiepotentieel laag. Voor de overige delen van het Markermeer is het bioturbatiepotentieel vergelijkbaar en leidt waarschijnlijk tot een gemiddelde biogene mengdiepte van circa 7 cm (Verdonschot et al. 2021). Sommige groepen bodembacteriën, zoals zwavelbacteriën, lijken gebaat bij enige bioturbatie of mate van verstoring omdat sommige groepen in dichtheid kunnen toenemen in verstoorde situaties (Høgslund *et al*. 2010, Noordhuis 2019). Voldoende grote populaties van polychaeten kunnen een matig dynamische niche creëren met gemiddelde fysische substraat verstoring (Kristensen 2001), waardoor stikstof en zuurstof in sedimentlagen kunnen komen waar zwavelconcentraties laag zijn. Met name zwavelbacteriën zouden, als nitraat accumulerende sulfideoxidatoren door middel van hun schede, goed gebruik te kunnen maken van een driedimensionaal wormengangensysteem (Høgslund *et al.* 2010). Daarom is het hoogstwaarschijnlijk dat een aantal vertegenwoordigers van draadvormende zwavelbacteriën juist samen met biotuberende taxa voorkomen. Een hoge bioturbatie activiteit, omwoeling door de bodem, of resuspensie, kan de vorming van bacteriematten in de bodem hinderen of leiden tot een afname van biomassa van bacteriën (Dermott & Legner 2002 m.b.t. effecten op zwavelbacteriën).

4 Conclusies

- Er is geen duidelijk verband gevonden tussen de patronen voor macrofauna en bodembacteriën in de Markermeerbodem. Beiden zijn soortenarm en worden door gedomineerd door enkele algemene groepen. Met name de locatie waar Marker Wadden aangelegd wordt, is in 2016 soortenarm in zowel bodembacteriën als macrofauna.
- *Thioploca* en *Beggiatoa* komen slechts sporadisch voor in de onderzochte Markermeerbodemmonsters en vormen volgens de sequentie analyse slechts een zeer bescheiden onderdeel van de benthische bacteriepopulatie. De twee andere belangrijke genera van draadvormende zwavelbacteriën, *Thiothrix* en *Thiovulum*, zijn niet aangetroffen. De ruimtelijke

verspreiding van het genetisch materiaal dat duidt op de aanwezigheid van zwavelbacteriën, komt overeen met het ruimtelijk patroon van in het Markermeer aangetroffen filamenten.

- De gemeenschappen van bodembacteriën in het Markermeer bestaan voornamelijk uit Cyanobacteria of meer specifiek 16S rRNA sequenties van Cyanobacteria en van chloroplasten uit algen en waterplanten. Deze groep domineert in drie van de vier onderscheiden clusters. Op vier locaties is een afwijkende microbiële samenstelling gevonden, deze locaties bevatten een grotere verscheidenheid aan sequenties gelieerd aan verschillende fyla binnen de Archaea. Het is de vraag of een dergelijke dominantie van cyanobacteriën gerelateerd is aan het bemonsteren van de bovenste bodemlaag. Het uitvoeren van een diepte analyse naar bodembacteriestructuren, zou een nauwkeuriger beeld van de diversiteit van de bodembacteriegemeenschappen kunnen geven.
- In totaal zijn 74 bacteriefyla gedetecteerd, waarvan 15 fyla samen 84-99% uitmaken van de totale bacteriënpopulatie in de Markermeerbodem. Op basis van deze 15 fyla zijn op basis van genera 7 clusters onderscheiden, waarvan 4 grotere clusters. Onderscheid tussen de clusters in de cyanobacteriënrijke groep berust voornamelijk op verschillen in de aanwezigheid van gener\a uit de fyla Proteobacteria, Bacteroida en Desulfobacterota. In twee taxonrijkere clusters (1,2) zijn cyanobacteriën minder dominant. Ook zijn hier meer sequenties voor Chloroflexi, Crenarchaeota, Plantomycetota en Thermoplasmatota gevonden.
- De gedetecteerde fyla zijn betrokken bij omzettingen in de koolstof-, stikstof- en zwavelcycli. Het merendeel betreft fotosynthetiserende bacteriën (Cyanobacteria, 47%) en sulfide- of ammoniumoxiderende groepen (Proteobacteria, Chloroflexi en Crenarchaeota, samen 21%). Waarschijnlijk vormt fotosynthese de grootste energiebron voor de microbiële gemeenschappen in de Markermeerbodem. De dominantie van cyanobacteriën kan duiden op een planktonische bacteriegemeenschap aanvullend op in de bodem levende gemeenschappen. Ook kan dit een indicatie zijn dat de ontwikkeling van bacteriële lagen en matten op het grensvlak van zuurstofrijke/zuurstofloze bodem slecht op gang komt. Cyanobacteriën zijn vaak de eerste organismen die biomatvorming initiëren, vervolgens treedt successie op naar meer complexere, soortenrijkere structuren. Het lijkt erop dat deze ontwikkeling in een pionierfase is. Dit kan een gevolg zijn van de hoge dynamiek in de benthische zone door golfslag, resuspensie, en waarschijnlijk in mindere mate bioturbatie.

5 Aanbevelingen voor verder onderzoek

Deze analyse naar de microbiële samenstelling van de Markermeerbodem was een inventarisatie op basis van een deel van het bodemmateriaal dat tijdens de macrofaunabemonstering is verzameld en kwam voort uit de vraag of en in welke mate *Thioploca* aanwezig is in het Markermeer. Het geeft een eerste indicatie van de samenstelling en verspreiding van bodembacteriën in het Markermeer. Voor een specifiekere analyse van de microbiële opbouw en ontwikkeling is meer gedetailleerd onderzoek nodig met als centrale vragen: Hoe is de verticale opbouw in de bodem, hoe functioneren de bodembacteriën, wordt hun ontwikkeling gehinderd door slibdynamiek en bestaan er meerdere gemeenschappen naast elkaar; bv detritus-, plantonische- en benthische consortia? En wat zijn de consequenties voor het voedselweb en aanbod van niches? Onderstaande suggesties kunnen het beeld verfijnen:

- Onderzoek naar de verticale opbouw van microbiële gemeenschappen. Hoe zijn deze gestructureerd en hoe functioneren ze? Is er een segregatie in de bodem?
- Onderzoek naar de invloed van slib/bodemmateriaal dynamiek en seizoenen op de bodembacteriesamenstelling.
- (Veld-)experimenteel onderzoek hoe de bacteriële gemeenschap het benthos beïnvloeden en omgekeerd met het accent op de effecten van vraat en bioturbatie.
- (Veld-)experimenteel onderzoeken naar de effecten van de huidige toevoer van organisch materiaal (het alg-bacterie-slib complex) op de bodembewonende fauna.
- Onderzoek naar de autonome processen in de Markermeerbodem, vooral de mogelijke stabilisering van de bodem door de ontwikkeling van biofilms of -matten.

4. Referenties

Bernard, C. & Fenchel, T. (1995). Mats of colourless sulphur bacteria. II. Structure, composition of biota and successional patterns. Marine Ecology Progress Series, 128, 171-179.

Bij de Vaate, A. & Jansen, E.A. (2011). De dichtheid van driehoeks- en quaggamosselen in het Markermeer: resultaten van de kartering uitgevoerd in 2011. Deltares report 2011-03

Bolhuis, H., Fillinger, L. & Stal, L.J. (2013). Coastal microbial mat diversity along a natural salinity gradient. PloS one 8.5: e63166.

Bolhuis H, Cretoiu, M.S. & Stal, L.J. (2014). Molecular ecology of microbial mats. FEMS Microbiol Ecol 2014;90:335–50. https://doi.org/10.1111/1574-6941.12408

Bolyen, E., Rideout, J.R., Dillon, M.R., Bokulich, N.A., Abnet, C.C., Al-Ghalith, G.A., Alexander, H., Alm, E.J., Arumugam, M., Asnicar, F. & Bai, Y. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. Nature biotechnology, 37(8), pp.852-857.

Boomer, S. M., Noll, K. L., Geesey, G. G., & Dutton, B. E. (2009). Formation of multilayered photosynthetic biofilms in an alkaline thermal spring in Yellowstone National Park, Wyoming. Applied and environmental microbiology, 75(8), 2464-2475.

Chong J., Liu, P., Zhou, G. & Xia, J. (2020). Using Microbiome Analyst for comprehensive statistical, functional, and meta-analysis of microbiome data. Nature Protocols 15: 799-821.

Dermott, R. & Legner, M. (2002). Dense mat-forming bacterium *Thioploca ingrica* (*Beggiatoaceae*) in eastern Lake Ontario: Implications to the benthic food web. J. Great Lakes Res. 28:688–697

Dermott, R., Munawar, M., Carou, S., Bonnell, R. & Niblock, H. (2005). Is sediment or pseudofaeces toxicity responsible for the decline of the amphipod *Diporeia hoyi* in Lakes Erie and Ontario? Aquatic Ecosystem Health & Management, 8(1): 11-20. DOI: 10.1080/14634980590927373

Fenchel, T. & Bernard, C. (1995). Mats of colourless sulphur bacteria. I. Major microbial processes. Marine Ecology Progress Series, 128, 161-170.

Fossing, H., Gallardo, V.A., Jørgensen, B.B., Hüttel, M., Nielsen, L.P., Schultz, H.E., Canfield, S., Forster, R.N., Glud, R.N., Gundersen, J.K., Küver, J., Ramsing, N. B., Thamdrup, B. & Ulloa O. (1995). Concentration and transport of nitrate by the mat-forming sulphur bacterium *Thioploca*. Nature, 374(6524), 713-715.

Fukui, M., Teske, A., Aßmus, B., Muyzer, G. & Widdel, F. (1999). Physiology, phylogenetic relationships, and ecology of filamentous sulfate-reducing bacteria (genus *Desulfonema*). Archives of microbiology, 172(4), 193-203

Gardner, W. S., Quigley, M. A., Fahnenstiel, G. L., Scavia, D. & Frez, W. A. (1990). *Pontoporeia hoyi*—a direct trophic link between spring diatoms and fish in Lake Michigan. In Large lakes: Springer, Berlin, Heidelberg. 632-644.

Gebruk, A. V., Southward, E. C., Kennedy, H. & Southward, A. J. (2000). Food sources, behaviour, and distribution of hydrothermal vent shrimps at the Mid-Atlantic Ridge. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 80(3), 485-499.

Goedkoop, W. & Johnson, R. K. (1994). Exploitation of sediment bacterial carbon by juveniles of the amphipod *Monoporeia affinis*. Freshwater Biology, 32(3), 553-563.

Høgslund, S., Nielsen, J. L. & Nielsen, L. P. (2010). Distribution, ecology and molecular identification of *Thioploca* from Danish brackish water sediments. FEMS microbiology ecology, 73(1), 110-120.

Howmiller, R. P. (1977). On the abundance of Tubificidae (Annelida: Oligochaeta) in the profundal benthos of some Wisconsin lakes. American Midland Naturalist, 211-216.

Huettel, M., Forster, S., Kloser, S. & Fossing, H. (1996). Vertical migration in the sediment-dwelling sulfur bacteria *Thioploca* spp. in overcoming diffusion limitations. Applied and Environmental Microbiology, 62(6), 1863-1872.

Inoue, E., Kobayashi, T. & Nishino, M. (2019). Chironomid Fauna (Diptera: Chironomidae) of Lake Biwa, with Emphasis on the Changes in Recent Decades. Lake Biwa: Interactions Between Nature and People 2019, 1-191.

Jannasch, H. W., Nelson, D. C. & Wirsen, C. O. (1989). Massive natural occurrence of unusually large bacteria (*Beggiatoa sp.*) at a hydrothermal deep-sea vent site. Nature, 342, 834–836.

Johannsson, O. E., Charlton, M., Chow-Fraser, P., Dermott, R. M., Howell, E. T., Makarewicz, J. C., Millard, E. S., Mills, E. L. & Richardson, V. (2007). "Productivity and limnology". In The state of Lake

Ontario in 2003. Great Lakes Fishery Commission, Special Publication 07-01, Edited by: Morrison, B. J. and LaPan, S. R. Michigan, Ann Arbor, 11–34.

Johnson, R. K. & Wiederholm, T. (1992). Pelagic-benthic coupling-The importance of diatom interannual variability for population oscillations of *Monoporeia affinis*. Limnology and Oceanography, 37(8), 1596-1607.

Jørgensen, B. B. & Gallardo, V. A. (1999). *Thioploca* spp.: filamentous sulfur bacteria with nitrate vacuoles. FEMS Microbiol Ecol 28, 301–313.

Larkin J.M. & Strohl, W. R. (1983). *Beggiatoa*, *Thiothrix*, and *Thioploca*. Annu. Rev. Microbiol. 37, 341–67.

Kajan, R. & Frenzel, P. (1999). The effect of chironomid larvae on production, oxidation and fluxes of methane in a flooded rice soil. FEMS Microbiology Ecology, 28(2), 121-129.

Kiyashko, S. I., Narita, T. & Wada, E. (2001). Contribution of methanotrophs to freshwater macroinvertebrates: evidence from stable isotope ratios. Aquatic Microbial Ecology, 24(2), 203-207.

Kristensen, E. (2001). Impact of polychaetes (*Nereis spp.* and *Arenicola marina*) on carbon biogeochemistry in coastal marine sediments. Presented during the ACS Division of Geochemistry symposium 'Biogeochemical Consequences of Dynamic Interactions Between Benthic Fauna, Microbes and Aquatic Sediments', San Diego, April 2001. Geochemical Transactions, 2(12), 92-103.

Maier S. (1989). Genus III. *Thioploca*. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. vol. 3: 2101-2106. Williams and Wilkins Co., Baltimore.

Maier, S. & Murray, R. G. E. (1965). The fine structure of *Thioploca ingrica* and a comparison with Beggiatoa. Canadian Journal of Microbiology, 11(4), 645-655.

Marzolf, G. R. (1965). Substrate relations of the burrowing amphipod *Pontoporeia affinis* in Lake Michigan. Ecology, 46(5), 579-592.

Nelson, D. C., Wirsen, C. O. & Jannasch, H. W. (1989). Characterization of large, autotrophic Beggiatoa spp. abundant at hydrothermal vents of the Guaymas Basin. Applied and Environmental Microbiology, 55(11), 2909-2917.

Nemoto, F., Kojima, H. & Fukui, M. (2011). Diversity of freshwater *Thioploca* species and their specific association with filamentous bacteria of the phylum *Chloroflexi*. Microbial ecology, 62(4): 753.

Noordhuis, R. (2010). Ecosysteem IJsselmeergebied: nog altijd in ontwikkeling. Trends en ontwikkelingen in water en natuur van het Natte Hart van Nederland. Rijkswaterstaat Waterdienst, Lelystad

Noordhuis, R. (2019). Survey zwavelbacteriën Markermeer 2019. Deltares Notitie 11204657-002, Utrecht.

Paerl, H.W. and Pinckney, J.L., 1996. A mini-review of microbial consortia: their roles in aquatic production and biogeochemical cycling. Microbial Ecology, 31(3), pp.225-247.

Parada, A.E., Needham, D.M. & Fuhrman, J.A. (2016). Every base matters: assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series, and global field samples. Environ. Microbiol. 18: 1403-1414.

Prieto-Barajas, C.M., Valencia-Cantero, E. & Santoyo, G. (2018). Microbial mat ecosystems: structure types, functional diversity, and biotechnological application. Electronic Journal of Biotechnology, 31, pp.48-56.

Quast C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J. & Glöckner, F.O. (2012). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tool. Nucl. Acid Res. 41: D590-D596.

Quesada, A., Sanchez-Contreras, M. & Fernández-Valiente, E. (2001). Tolerance of Antarctic cyanobacterial microbial mats to natural UV radiation. Nova Hedwigia 123: 275–90.

Schulz, H. N., Jørgensen, B. B., Fossing, H. A., & Ramsing, N. B. (1996). Community structure of filamentous, sheath-building sulfur bacteria, *Thioploca* spp., off the coast of Chile. Applied and Environmental Microbiology, 62(6), 1855-1862.

Sly, P. G., & Christie, W. J. (1992). Factors influencing densities and distributions of *Pontoporeia hoyi* in Lake Ontario. Hydrobiologia, 235(1), 321-352.

Stein, J. L. (1984). Subtidal gastropods consume sulfur-oxidizing bacteria: evidence from coastal hydrothermal vents. Science, 223(4637), 696-698.

Trager, G. C. & DeNiro, M. J. (1990). Chemoautotrophic sulfur bacteria as a food source for mollusks at intertidal hydrothermal vents: evidence from stable isotopes. The Veliger, 33(4), 359-362.

Van den Berg, L. J. L., van Riel, M.C. & Bakker, L. (2014). MarkerMeerMoeras: Nieuwe Kansen voor Natura 2000. CWE, Rijkswaterstaat rapport 2014.01

Van Riel, M.C., Leopold, M.F. & Keizer-Vlek, H.E. (2017). Notitie 'Natuurambitie in de praktijk': stand van natuurdoelen in het Markermeer en gevolgen van de ontwikkeling van de Marker Wadden. Wageningen Environmental Research – ISBN

Van Riel, M.C., Verdonschot, P.F.M & Dekkers, D.D. (2018). Markermeer bodemfaunakartering 2016 en MWTL-analyse MWTL data. Notitie Zoetwaterecosystemen, Wageningen Environmental Research, Wageningen UR, Wageningen. 48 pp.

Van Riel, M.C., Vonk, J.A., Noordhuis, R. & Verdonschot, P.F.M. (2019). Novel ecosystems in urbanized areas under multiple stressors: Using ecological history to detect and understand ecological processes of an engineered ecosystem (lake Markermeer). Wageningen : Freshwater ecosystems, Wageningen Environmental Research - ISBN 9789463950183

Van Riel, M.C., Vonk, J.A., Verdonschot, R.C.M., Ferrús Muñoz, J.F. & Verdonschot, P.F.M. (2021). Using dredged sediments to support wetland plant development in a constructed delta lake. Submitted tot Ecological engeneering.

Verdonschot, P.F.M., Noordhuis, R., Volwater, J.J.J., de Leeuw, J.J. & van Riel, M.C. (2020). Het bodemvoedselweb in het Markermeer? Over de rol van zwavelbacteriën – wormen - brasem. Notitie Zoetwaterecosystemen, Wageningen Environmental Research, Wageningen UR, Wageningen. 28 pp.

Verdonschot, P.F.M., van Riel, M.C. & Verdonschot, R.C.M. (2021). Gezond bodemleven als sleutel voor een robuust Markermeer. Landschap: tijdschrift voor landschapsecologie en milieukunde, 38(1): 14-23.

Yamanaka, T., Mizota, C., Maki, Y. & Matsumasa, M. (2013). Assimilation of terrigenous organic matter via bacterial biomass as a food source for a brackish clam, *Corbicula japonica* (Mollusca: Bivalva). Estuarine, Coastal and Shelf Science, 126, 87-92.