Universiteit
Leiden
The Netherlands

# Ecological functions and environmental fate of exopolymers of Acidobacteria

Costa, O.Y.A.

**Citation**
Costa, O. Y. A. (2020, July 9). *Ecological functions and environmental fate of exopolymers of Acidobacteria*. Retrieved from https://hdl.handle.net/1887/123274

| | |
|---|---|
| Version: | Publisher's Version |
| License: | Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden |
| Downloaded from: | https://hdl.handle.net/1887/123274 |

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page

Universiteit Leiden

The handle http://hdl.handle.net/1887/123274 holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author**: Costa, O.Y.A.
**Title**: Ecological functions and environmental fate of exopolymers of Acidobacteria
**Issue Date**: 2020-07-09

# Samenvatting

Acidobacteriën zijn wijdverbreid, maar over hun functionele rol in het ecosysteem is nog veel onbekend. De alomtegenwoordigheid van *Acidobacteria* in verschillende ecosystemen, en met name de bodem, werpt prangende vragen op over de fysiologische eigenschappen die hieraan ten grondslag liggen. Het gebrek aan deze fundamentele kennis is voornamelijk te wijten aan het feit dat *Acidobacteria* moeilijk te isoleren zijn en onder laboratoriumomstandigheden een lage groeisnelheid kennen. Meer inzicht in de fysiologische eigenschappen van verschillende subdivisies van de *Acidobacteria* is van belang om hun voorkomen in bodemecosystemen en interacties met andere bodemorganismen beter te kunnen begrijpen.

Het genus *Granulicella* behoort tot de klasse *Acidobacteriia*. Van dit genus is bekend dat het in vloeibare kweken overvloedig extracellulaire polysachariden (EPS) kan produceren. EPS zijn voor bacteriën van fundamenteel belang; ze vormen een ideaal substraat voor chemische reacties, bevorderen acquisitie van nutriënten en beschermen tegen zout- en droogtestress. EPS geproduceerd door microörganismen kunnen op hun beurt planten een voordeel bieden door de aggregatie van bodemdeeltjes te verbeteren en daarmee het vocht- en nutriëntenvasthoudend vermogen van de bodem te vergroten.

Eerder onderzoek naar de chemische en fysische eigenschappen van EPS van de twee *Granulicella* sp.-stammen WH15 en 5B5, toonde aan dat deze sachariden een emulsificerende werking kunnen hebben. De belangrijkste doelstellingen van mijn proefschrift waren daarom i) het in kaart brengen en doorgronden van het metabolisme van de bovengenoemde *Granulicella* stammen, ii) het ontrafelen van de functies van het door stam WH15 geproduceerde EPS (WH15EPS) en iii) het gedrag van deze EPS in bodemecosystemen.

Voor ons onderzoek optimaliseerden we in het laboratorium allereerst de groeicondities van de *Granulicella* stammen WH15 en 5B5. Zo verkregen we hoge biomassa en stimuleerden EPS-productie. Aanpassingen in het metabolisme van WH15 en 5B5 werden vervolgens in kaart gebracht door gebruik te maken van een zogenaamde 'multi-omics approach'. Next-generation sequencing, ook wel high-throughput sequencing genoemd, werd ingezet om bodemgerelateerde micro-organismen te indentificeren die geassocieerd zijn met de afbraak van het WH15EPS.

In **hoofdstuk 3** toonden we, middels transcriptionele en proteome analysesanscriptionele aan dat wanneer *Granulicella* sp. WH15 gekweekt wordt op toenemende concentraties cellobiose, er een verhoogde expressie is van genen die excretie reguleren en genen die een rol spelen in de basale celstofwisseling. Deze verhoogde expressie ging ten koste van de aanmaak van nieuwe biomassa. In **hoofdstuk 4** observeerden we dat de groeiopbrengst van *Granulicella* sp. WH15 en 5B5 significant hoger was wanneer een mix van sporen-elementen aan het groeimedium toegevoegd werd. Mangaan (Mn) bleek, na evaluatie van de effecten van elk van de individuele sporenelementen, een significant positief effect te hebben op de groei van beide stammen. Proteoom- en genoomanalyses brachten aan het licht dat de stammen beschikken over diverse, nog niet-gekarakteriseerde metaalion-transporters die mogelijk betrokken zijn in metaalion-homeostase en waarschijnlijk ook bijdragen aan een

verhoogde overlevingskans bij hoge mangaanconcentraties. Optimalisatie van koolstof- en mangaanconcentraties in het groeimedium liet de geselecteerde stammen, en vooral WH15, onder laboratoriumomstandigheden sneller groeien en meer extraheerbare hoeveelheden EPS produceren.

In **hoofdstuk 5** hebben we WH15EPS gelabeld met $^{13}C$ en het effect hiervan bestudeerd op de assemblage van de actieve bacteriële en schimmelgemeenschappen. Onze resultaten toonden aan dat WH15EPS voornamelijk werd geassimileerd door *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *Ascomycota* en *Basidiomycota*. Co-inertieanalyse suggereerde algemene relaties tussen deze bacteriële en schimmelsoorten. We hebben tevens de opname van WH15EPS door *Singulisphaera* en de verbindingen met andere *Planctomycetes* en *Acidobacteria* waargenomen, die niet eerder waren beschreven.

In **hoofdstuk 6** hebben we, door middel van cultuuronafhankelijke en cultuurafhankelijke technieken, WH15EPS toegepast als een verrijkingsfactor om microörganismen en functies te identificeren die betrokken zijn bij de afbraak van EPS. Onze resultaten toonden een grote diversiteit aan glycosidehydrolases, enzymen met groot biotechnologisch potentieel, alsook een groot aantal niet-geclassificeerde microörganismen.

In **hoofdstuk 7** heb ik de algemene bevindingen van mijn proefschrift geïntegreerd en de belangrijkste resultaten over de impact van koolstofbronnen en sporenelementen op de fysiologie van *Granulicella* en, meer in het algemeen, de ecologische functies en het lot van EPS van *Acidobacteria* in het milieu. De resultaten beschreven in dit proefschrift vormen een solide basis voor meer mechanistische studies van *Acidobacteria* en andere niet-gecultiveerde microben.