

DISS. ETH Nr. 30416

Nutrient Acquisition Strategies of Heterotrophic Marine Bacteria - From the Microscale to Biogeochemical Cycles

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

ASTRID K. M. STUBBUSCH

MSc, University of Heidelberg

born on 06.05.1994

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Martin Ackermann

Prof. Dr. Cara Magnabosco

Dr. Olga T. Schubert

Prof. Dr. Mary Ann Moran

Prof. Dr. Shinichi Sunagawa

Prof. Dr. Martin Polz

2024

Summary

The role of marine heterotrophic bacteria in global carbon cycling is a crucial yet complex aspect of oceanic ecosystems. Heterotrophic bacteria rely on organic matter as a nutrient and energy source. Their consumption of this organic matter affects its longevity and sinking, influencing the long-term storage of carbon in the ocean. The complex interplay between different species required to access the nutrients further adds to the intricacy of these processes. This research aims to elucidate nutrient acquisition strategies of heterotrophic marine bacteria at the microscale and their implications for biogeochemical cycles in the ocean.

Nutrient acquisition through foraging for particles

In the first research chapter of this thesis (chapter 2), I focused on the transition between degradation and dispersal by particle-foraging bacteria. Marine particles provide nutrient-rich microhabitats in an otherwise dilute environment. Little is known about how particle-foraging cells alternate between (a) colonizing and degrading particles and (b) dispersing towards new particles. Here, we studied the growth, motility, and gene expression of the marine isolate *Vibrio cyclitrophicus* ZF270 growing on alginate, a common component of marine particles. We found that the breakdown products of the alginate, which result from the extracellular degradation of the polysaccharide, triggered the dispersal of a part of the cell population. The fraction of dispersing cells increased with the initial size of the cell group. This behaviour was accompanied by an increase in gene expression for motility and chemotaxis related genes. These molecular mechanisms may also underlie the degradation-dispersal cycles that contribute to the remineraliza-

tion of particulate organic matter in the ocean, thus preventing the sinking of particles in the deep ocean for long-term carbon storage.

Nutrient Acquisition Through Contact-Dependent Antagonism

In the second research chapter (chapter 3), I investigated whether bacteria can acquire nutrients from other living cells using contact-dependent antagonism. Though pathogenic and predatory bacteria are known to acquire nutrients from other cells, it is not clear whether bacteria with antagonistic mechanisms can also acquire nutrients from other cells. Here, we studied simple communities of *Vibrio* spp., that encode the type VI secretion system, and target cells. Using microfluidics and stable isotope labelling Raman spectroscopy, we found that bacteria can indeed acquire nutrients by lysing neighboring cells through the type VI secretion system, enhancing their growth during nutrient starvation. We found that attacked target cells lyse slowly and have a leaky cell membrane, which increased the nutrient uptake by the antagonistic cell in our mathematical model. Using pangenomic association studies, we found a reduced metabolic gene repertoire of T6SS-encoding *Vibrio*, especially for carbohydrate metabolism like alginate degradation. This genomic adaptation and the prevalence of T6SS-encoding bacteria in diverse natural ecosystems suggested that bacterial antagonism could play a significant role in nutrient transfer within microbial communities in nutrient-limited environments.

Overall, this thesis provides novel insights into the strategies used by heterotrophic marine bacteria to acquire nutrients, and emphasizes the importance of these processes in the context of global biogeochemical cycles. The work highlights how metabolic and non-metabolic bacterial processes at the microscale can influence larger-scale processes, such as carbon sequestration and nutrient cycling in the ocean.

Zusammenfassung

Die Rolle mariner heterotropher Bakterien im globalen Kohlenstoffkreislauf ist ein entscheidender, jedoch komplexer Aspekt ozeanischer Ökosysteme. Heterotrophe Bakterien sind auf organisches Material als Nährstoff- und Energiequelle angewiesen. Ihr Verbrauch dieses organischen Materials beeinflusst dessen Langlebigkeit und Absinken, was wiederum die langfristige Kohlenstoffspeicherung im Ozean bestimmt. Das komplexe Zusammenspiel verschiedener Arten, das notwendig ist, um Zugang zu den Nährstoffen zu erhalten, trägt zusätzlich zur Komplexität dieser Prozesse bei. Diese Forschung zielt darauf ab, die Nährstofferwerbsstrategien heterotropher Meeresbakterien im Mikromaßstab und ihre Auswirkungen auf biogeochemische Kreisläufe im Ozean zu beleuchten.

Nährstoffaufnahme durch Abbau von organischen Partikeln

Im ersten Forschungskapitel dieser Dissertation (Kapitel 2) konzentrierte ich mich auf den Übergang zwischen der Nahrungsaufnahme und der Verbreitung von Partikel-abbauenden Bakterien. Marine Partikel bieten nährstoffreiche Mikrohabitate in einer ansonsten nährstoffarmen Umgebung. Es ist wenig darüber bekannt, wie Partikel-abbauende Zellen zwischen (a) der Kolonisierung und dem Abbau von Partikeln und (b) der Verbreitung zu neuen Partikeln wechseln. Hier haben wir das Wachstum, die Bewegung und die Genexpression des marinen Isolats *Vibrio cyclitrophicus* ZF270 untersucht, das auf Alginate wächst, einem häufigen Bestandteil mariner Partikel. Wir fanden heraus dass die Abbauprodukte des Alginats, die durch den extrazellulären Abbau dieses Polysaccharids entstehen, die Zerstreuung eines Teils der Zellpopulation auslösten. Der Anteil der sich zerstreuen Zellen nahm mit der anfänglichen Größe der Zellgruppe zu. Dieses Verhalten ging einher mit einer erhöhten Genexpression für die mit Bewegung

und Chemotaxis-assoziierten Gene. Diese molekularen Mechanismen könnten auch den Abbau-Zerstreuungszyklen zugrunde liegen, die zur Remineralisierung von partikulärem organischen Material im Ozean beitragen und so das Absinken von Partikeln in die Tiefsee zur langfristigen Kohlenstoffspeicherung verhindern.

Nährstoffaufnahme durch kontaktabhängigen Antagonismus

Im zweiten Forschungskapitel (Kapitel 3) untersuchte ich, ob Bakterien Nährstoffe aus anderen lebenden Zellen durch kontaktabhängigen Antagonismus aufnehmen können. Obwohl bekannt ist, dass pathogene und räuberische Bakterien Nährstoffe aus anderen Zellen beziehen, ist unklar, ob Bakterien mit antagonistischen Mechanismen ebenfalls Nährstoffe aus anderen Zellen aufnehmen können. Hier untersuchten wir einfache Gemeinschaften von *Vibrio* spp., die das Typ VI Sekretionssystem besitzen, und Zielzellen. Mit Hilfe von mikrofluidischen Experimenten und stabiler Isotopenmarkierung kombiniert mit Raman-Microspektroskopie fanden wir heraus dass Bakterien tatsächlich Nährstoffe aufnehmen können, indem sie benachbarte Zellen durch das Typ VI Sekretionssystem lysieren, was ihr Wachstum während des Nährstoffmangels steigern. Wir fanden heraus dass angegriffene Zielzellen langsam lysieren und eine durchlässige Zellmembran haben, was in unserem mathematischen Modell die Nährstoffaufnahme durch eine antagonistische Zelle erhöhte. Mithilfe von pangenomischen Assoziationsstudien fanden wir ein reduziertes Repertoire an Stoffwechselgenen bei T6SS-kodierenden *Vibrio*, insbesondere für den Kohlenhydratstoffwechsel wie beispielsweise für den Alginatabbau. Diese genomische Anpassung und die Verbreitung von T6SS-kodierenden Bakterien in verschiedenen natürlichen Ökosystemen deuteten darauf hin, dass bakterieller Antagonismus eine bedeutende Rolle im Nährstofftransfer innerhalb mikrobieller Gemeinschaften in nährstoffarmen Umgebungen spielen könnte.

Insgesamt liefert diese Dissertation neue Erkenntnisse über die Strategien, die heterotrophe marine Bakterien zur Nährstoffaufnahme verwenden, und betont die Bedeutung dieser Prozesse im Kontext globaler biogeochemischer Kreisläufe. Die Arbeit hebt hervor, wie metabolische und nicht-metabolische bakterielle Prozesse im Mikromaßstab größere Prozesse wie die Kohlenstoffsequestrierung und den Nährstoffkreislauf im Ozean beeinflussen können.