

Vinnsla og vörupróun
Processing and Product
Development

Líftækni
Biotechnology



Matvælaöryggi
Food Safety



Lífríki í hverum í Krísuvík og Gunnhver á Reykjanesi

Rannsókn unnin vegna Rammaáætlunar um nýtingu á
jarðvarma á háhitasvæðum.

Unnið fyrir Orkustofnun 2006 - 2007

Sólveig K. Pétursdóttir
Sólveig Ólafsdóttir
Steinunn Magnúsdóttir
Guðmundur Óli Hreggviðsson

Líftækni

Skýrsla Matís 31-07
Ágúst 2007

ISSN 1670-7192

EFNISYFIRLIT

| | |
|--|----|
| Ágrip | 1 |
| 1. Inngangur | 3 |
| 2. Efni og aðferðir | 6 |
| 2.1 Sýnataka | 6 |
| 2.2 Einangrun á DNA | 6 |
| 2.2.1. Lífmassasýni | 6 |
| 2.2.2 Jarðvegssýni | 6 |
| 2.2.3 Sýni af yfirborðsbrák | 7 |
| 2.3 PCR á 16S rRNA geninu | 7 |
| 2.4 Klónun og raðgreining | 7 |
| 2.5 Ákvörðun á tegundasamsetningu í sýnum | 8 |
| 2.6 Skyldleikatré | 8 |
| 3. Niðurstöður | 9 |
| 3.1 Sýnataka og helstu mælingar | 9 |
| 3.1.1 Seltún | 9 |
| 3.1.2 Austurengjahver | 11 |
| 3.1.3 Gunnuhver | 12 |
| 3.2 Árangur úr DNA einangrun og PCR | 13 |
| 3.3 Niðurstöður greininga á tegundasamsetningu í sýnunum | 14 |
| 3.3.1 Sýni úr Seltúni | 14 |
| 3.3.2 Sýni úr Gunnuhver á Reykjanesi | 20 |
| 4. Umræður | 23 |
| 4.1 Raunbakteríur | 23 |
| 4.1.1 Fylking Aquificae | 23 |
| 4.1.2 Fylking Proteobaktería | 24 |
| 4.2 Fornbakteríur | 25 |
| 4.3 Líffræðilegur fjölbreytileiki | 28 |
| 5. Heimildir | 30 |

Ágrip

Þessi rannsókn á lífríki í hverum á Krísuvíkursvæðinu er þriðja lífríkisúttektin sem framkvæmd er innan Rammáætlunar, en þær tvær fyrri fjölluðu um lífríki í hverum á Hengilssvæðinu og á Torfajökulssvæðinu.

Áhersla var einkum lögð á hverasvæðið í Seltúni þar sem sýnataka var sameiginleg með jarðefnafræðingum Jarðvísindastofnunar sem var fyrsta skref í þverfaglegri nálgun á viðfangsefninu sem vonir eru bundnar við, en er þó enn á frumstigi. Önnur svæði sem reynt var að kanna voru hverir við Austurengjahver og svæðið við Gunnuhver á Reykjanesi.

Hitastig í hverunum í Seltúni var á bilinu 53-93°C og ennfremur er greint frá einu jarðvegssýni sem tekið var við lægra hitastig eða 34°C. Sýrustig í hverunum í Seltúni var á bilinu pH 2,5-6.

Hitastig í hverunum við Austurengjahver var á bilinu 50-75°C og sýrustig pH 2,4 - 4,3. Hitastig í hverunum við Gunnuhver mældust á bilinu 70-90°C og sýrustig pH 3,8 – 4,2.

Alls voru tekin þrettán sýni á ofangreindum svæðum og tókst að einangra DNA úr sjö þeirra. Ekki tókst að ná DNA úr sýnunum við Austurengjahver. Kjarnsýrumögnun á 16S rRNA sem er tegundagreinandi gen dreifkjörnunga tókst á sex sýnum. Mögnun fékkst úr öllum þessum sýnum með sérvirkum raunbakteríuvísimum, en þremur með fornbakteríuvísimum.

Alls fengust 304 raðgreiningar á raunbakteríutegundum á svæðinu sem kennt er við Seltún. Þessar tegundir dreifast á 26 tegundir sem dreifast aftur á 10 fylkingar. Frumbjarga tegundir *Aquificae* fylkingarinnar hýsa rúmlega 80% raðgreininganna og teljast því ríkjandi í þessum sýnum og eru frumframleiðendur í vistkerfi hveranna. Fimm tegundir innan þessarar fylkingar fundust í sýnunum úr Seltúni. Aðrar tegundi greinast aðallega til mismunandi hópa *Proteobacteria* (13%) en þær eru afar sundurleitir hópur. Aðrar tegundir sem fundust eru fámennar og skipta hér minna máli. Alls fékkst 81 raðgreining fornbakteríutegunda af Seltúnssvæðinu. Flestar þeirra eða rúm 90% flokkast til *Thermoplasmatales* innan fylkingar *Euryarchaeota*, en þetta er hita- og sýrukær tegund. Aðrar fornbakteríur í sýnunum í Seltúni flokkast til *Chrenarchaeota* fylkingarinnar flestar til ættar *Desulfurococcales*.

Alls fengust 56 raunbakteríuraðgreiningar úr hverunum við Gunnuhver. Langflestar þeirra (um 70%) flokkast til frumbjarga fylkingar *Aquificae*, en um 30% til mismunandi hópa *Proteobacteria*. Fornbakteríur í Gunnuhver eru einsleitar þar sem þær eru allar af ætt *Sulfolobales* sem er afar hita- og sýrukær hópur.

Í heild má segja að svæðið við Seltún sýni dæmigert mynstur jaðarvistkerfis þar sem ein tegund er ríkjandi og aðrar tegundir dreifist á ýmsar fylkingar. Útreiknaður líffræðilegur fjölbreytileiki í sýnunum var tiltölulega lágur eða á bilinu 1,0-2,0. Til samanburðar má geta þess að sami stuðull útreiknaður fyrir sýni af Torfajökulssvæðinu og á Ölkelduhálsi var á bilinu 1,1-4,7. Umhverfisaðstæður hita- og sýrustigs í Seltúni og í Gunnhver eru ekki á jaðrinum, heldur er líklegt að efni og efnasambönd í hverunum og leirinn geti haft áhrif á fjölbreytileika lífríkisins, þ.e. hvaða tegundir fá þrífist og hverjar ekki.

Sjaldgæfar tegundir sem áttu einungis fjarskylda ættingja í Genbank fundust m.a. í Seltúnssýnunum. Þarna er þó í flestum tilvikum aðeins um 1-2 fulltrúa viðkomandi tegundar að ræða. Þessar fjarskyldu tegundi flokkuðust allflestar undir fylkingar *Proteobaktería* og *Acidobaktería*.

Mátis – Prokaria mun að öllum líkindum halda áfram að vinna að sýnatöku og tegundagreiningum á Krísuvíkursvæðinu. Ætlunin er að taka þær niðurstöður með í lokasamantekt yfir lífríki í hverum á Íslandi á síðasta ári Rammaáætlunar.

1. Inngangur

Samkvæmt verkefnissamningi milli Orkustofnunar og Prokaria sem undirritaður var sumarið 2006 er nú unnið að þriðja áfanga verkefnisins um lífríki á hverasvæðum í Íslandi. Fyrsti áfangi fól í sér greiningu á lífríki hvera á Hengilssvæðinu og var skýrslu skilað þar um árið 2005 (Viggó Þór Marteinsson o.fl., 2005). Annar áfangi fól í sér greiningu á lífríki hvera á Torfajökulssvæði og var skýrslu skilað þar um í janúar 2006 (Sólveig K. Pétursdóttir o.fl. 2006). Núverandi áfangi, (3. áfangi) felur í sér sambærilega greiningu á lífríki hvera á Krísuvíkursvæðinu. Jafnframt er þó um að ræða fyrstu skref þverfaglegar nálgunar þar sem ummyndunarfræðingar Jarðvísindastofnunar og líffræðingar Prokaria (nú Matis – Prokaria) standa að sameiginlegri sýnatöku að nokkru leyti með það að lokamarkmiði að fá innsýn í hvaða ferlar lífrænir og ólífrænir eru að verki í hverunum.

Notkun sameindalíffræðilegra aðferða við greiningar á tegundasamsetningu mismunandi vistkerfa hefur fleygt fram á síðustu árum. Í dag er hægt að greina tegundasamsetningu í blönduðum sýnum án þess að undangengin ræktun sé skilyrði. Sífelld þróaðri tækjakostur gerir kleift að greina tegundasamsetningu í sýni á örskömmum tíma. Í ljós hefur komið að lífheimur örveranna er miklum mun fjölbreyttari en talið var. Urmull af áður óþekktum tegundum hefur komið í ljós, en jafnframt hefur fengist staðfesting á því að einungis hefur tekist að rækta örlítið brot af þeim örverutegundum sem raunverulega finnast í lífheiminum. Þróun nýrra ræktunaraðferða og vaxandi þekking á mismunandi lífsferlum auka þó líkurnar á því að með tímanum takist mönnum að einangra fleiri tegundir.

Örverur í hverum flokkast til tveggja ríkja lífheimsins þ.e. til raunbaktería (Eubacteria) og fornbaktería (Archaea). Þær síðar nefndu eru almennt séð hitaþolnari og sýruþolnari en þær fyrrnefndu.

Sameindalíffræðilegu aðferðirnar fela í sér raðgreiningu á tegundagreinandi geni -16S rRNA. Á síðustu árum hafa menn raðgreint 16S rRNA genið bæði úr ræktuðum örverum og lífmassasýnum sem innihalda ýmsar tegundir. Með samvinnu vísindamanna víða um heim hefur með tímanum myndast gríðarlega stór gagnagrunnur sem hýsir m.a 16S rRNA genaraðir. Þessi grunnur í

“Genbank” hefur nýst sérlega vel til viðmiðunar þegar greina á lífveru til tegundar, eða tegundasamsetningu í sýni.

Almennt hefur verið talið að hitastig og sýrustig ráði mestu um það hvaða tegundir geti lifað á hverjum stað. Á síðari árum hefur þó verið bent á að fleiri þættir kunni að ráða miklu um tegundasamsetningu í hverum. Rannsókn var gerð á hverum með áþekka eiginleika hvað varðaði sýrustig og hitastig í þjóðgarðinum Yellowstone í Bandaríkjunum og kom í ljós að tegundabreytileiki milli hvera var umtalsverður. Þar benda menn því á nauðsyn þess að mæla aðra jarðefnafræðilega þætti (Blank, C.E. og félagar, 2002). Í reynd má segja að þessi nálgun eigi vaxandi fylgi að fagna víða um heim og má sjá þess merki í nýjustu greinum um tegundasamsetningu og vistfræði hvera sérstaklega í Yellowstone þjóðgarðinum en einnig víðar.

Aukin vitneskja um efni og efnasambönd í nánasta umhverfi hveraörveranna eykur einnig líkur á að hægt verði að einangra og rækta fleiri tegundir á kerfisbundin hátt.

Í ljósi þessa og í samráði við Hákon Aðalsteinsson á Orkustofnun, sem er verkefnisstjóri verkefna sem unnin eru fyrir Orkustofnun vegna Rammáætlunar um nýtingu vatnsafls og jarðvarma, var ákveðið var að hefja samvinnu við jarðefnafræðinga á Jarðvísindastofnun (mynd 1). Markmiðið var að nálgast viðfangsefnið á þverfaglegan hátt og reyna að sjá hvaða jarðefnaþættir hafa áhrif á tegundasamsetningu í hverunum og hvaða ferlar eru þar í gangi lífrænir og ólífrænir. Þess ber þó að geta að samvinnan er á frumstigi og verður gerð grein fyrir niðurstöðum og túlkunum þar um sérstaklega.



Mynd 1. Þverfagleg nálgun í Seltúni í Krísuvík. Jarðefnafræðingar frá Jarðvísindastofnun HÍ (appelsínugulir) og örverufræðingar frá Matís-Prokaria ofan við aðalhverinn í Seltúni.

Í þessari skýrslu er greint frá tegundasamsetningu sem var ákvörðuð í sýnum sem tekin voru á Krísuvíkursvæðinu og á Reykjanesi 2006 og 2007. Samanburður er gerður á tegundasamsetningu og hlutföllum einstakra tegunda milli sýna og greint frá áður óþekktum tegundum. Yfirlit er gefið um líklegt vistfræðilegt hlutverk helstu hópa.

Markviss samanburður á niðurstöðum um tegundasamsetningu í hverum á Krísuvíkursvæðinu og Reykjanesi við niðurstöður af öðrum hverasvæðum s.s.s Hengilssvæði og Torfajökulssvæði er látinn bíða, en gert er ráð fyrir að slík samantekt verði unnin á síðasta ári verkefnisins árið 2009.

2. Efni og aðferðir

2.1 Sýnataka

Alls voru tekin níu sýni af svæðinu við Seltún í Krísuvík, þar af fjögur á mismunandi stöðum í aðalhvernum. Tvö sýni voru tekin við Austurengjahver, eitt úr hvernum sjálfum og annað úr nálægu gufuauga. Tvö sýni voru tekin af svæðinu við Gunnuhver. Þrettán sýni voru því tekin alls. Myndir voru teknar af hverjum sýnatökustað og hitastig og pH mælt. Jarðefnafræðingar tóku sýni til greininga úr hverum í Seltúni, en nánar verður greint frá niðurstöðum þar um í sérstakri skýrslu síðar. Þegar komið var á rannsóknastofuna var reynt að skola leiragnir af lífmassanum og taka sýni til smásjárskoðunar.

2.2 Einangrun á DNA

2.2.1. Lífmassasýni

Flest sýnin sem tekin voru áttu það sameiginlegt að vera lífmassi umlukinn leirleðju. Sýnin voru því skoluð og hrist í 0,9% NaCl lausn, látin setjast til, lífmassinn veiddur upp úr og skolaður aftur. Lífmassinn var síðan „homogenizeraður“ með því að hrista og hræra sýnið. Því næst voru teknir u.þ.b. 2 mL af lífmassasýni og leystir upp í sama rúmmáli af TE buffer. Því næst var DNA einangrað úr sýninu með phenol-chloroform aðferð (4 mL Phenol settir út í, hrist rólega í 5 mín, og spunnið í skilvindu í 5 mín við 4.500 rpm. Vatnsfasi hirtur ofan af og phenol hreinsun endurtekin, spunnið og vatnsfasi hirtur. Sama rúmmál af blöndu af Chloroform – isoamylalcohol (24:1 vol:vol) sett út í, blandað rólega saman og spunnið í 5 mín við 4500 rpm. 1/10 vol af 3M Natrium Acetati var sett saman við ásamt 2 x rúmmáli af 96% ísköldu ethanoli, spunnið við 13000 rpm í 30 mín. Floti var hellt af og botnfallið skolað með 1ml af 70% EtOH og síðan spunnið aftur við 13000 rpm í 20 mín. Floti hellt af, þurrkað og pellett leystur upp í 100 µL af Te buffer.)

2.2.2 Jarðvegssýni

Jarðvegssýni (ca 100mL) voru skoluð í 200mL 0,9% NaCl lausn, hrist duglega nokkrum sinnum og látið standa yfir nótt. Þá var floti hellt ofan af botnfalli, það spunnið (1000 rpm 10 min) og flot hirt og spunnið aftur við 8000rpm í 20 mín. Botnfallið, - bakteríurnar voru þá hirtar og leystar upp í sama rúmmáli af Te buffer. Síðan var phenol – chloroform aðferð (sjá í 2.3.1) notuð til að einangra DNA úr sýninu.

2.2.3 Sýni af yfirborðsbrák

Sýni af yfirborðsbrák voru spunnin beint við 8000 rpm. Botnfallið var hirt og það síðan leyst upp í sama rúmmáli af Te buffer og DNA einangrað með phenol chloroform aðferð (2.3.1) eins og áður.

2.3 PCR á 16S rRNA geninu

Algengast er að nota 16S rRNA gen baktería til tegundaákvörðunar og var það gert hér. Þynningarröð var gerð af hverju sýni (óþynnt, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) og voru allar þynningar prófaðar við kjarnsýrumögnun (PCR) á geninu. Mögnun var reynd með sérvirkum 16S endavísunum fyrir raunbakteríur (F27 og R1544) og fornbakteríur (F23 og R1391). PCR hvarfið (4 μ l 10x polymerasa buffer; 3,3 μ l dNTP (10 μ M), 0,7 μ l Teg polymerasi (0,5U), 1,0 μ l af hvorum vísi (20 μ M) og 27,7 μ l sterilt vatn og 2,0 μ l af sýni úr hverri þynningu) var gert í tvíriti, þar sem PCR mögnunin fór fram við 2 mismunandi pörunarhitastig vísis og DNA móts, þ.e. við 42°C og 52°C. Hitaferillinn í PCR var 94°C í 4 min, (94°C í 50 sek, 42/52°C í 50 sek., 72°C í 2min) x 35 hringir; og 72°C í 7min, kælt (4°C) í lokin. Afurðirnar voru síðan rafdrengar á 1% Agarosa geli með Ethidium bromíð og DNA bönd af rétttri stærð klippt úr gelinu. Ef engin afurð fékkst úr sýninu, var endurtekið með því að nota "gradient PCR" þar sem pörunarhitastig vísis og móts var breytilegt á bilinu milli 42 og 56°C.

2.4 Klónun og raðgreining

DNA var hreinsað úr gelbútunum með GFX aðferð skv. leiðbeiningum frá framleiðanda (Amersham Biosciences). Klónun var gerð inn í Topo plasmíð og ferjað í Top10 frumur skv. leiðbeiningum frá framleiðanda (Invitrogen). Ræktað var á skálum með LB æti með ampicillini y/n og reynt að fá ca 50 - 100 klóna alls (raunbakteríur og fornbakteríur) úr hverju sýni. Síðan var ræktað í vökvaæti y/n. Gengið var úr skugga um að genið væri á plasmíðinu með PCR hvarfi þar sem M13 F og R vísar voru notaðir til að parast beggja vegna innskots á plasmíðinu. PCR afurðin var því næst hreinsuð með EXO og SAP skv. leiðbeiningum frá framleiðanda (USB). og raðgreiningarhvarf framkvæmt með Big Dye hvarflausn. Því næst voru raðirnar greindar í Applied Biosystems 3730 raðgreini. Raðirnar voru svo yfirfarnar og flokkaðar við 98% innbyrðis samsvörun í Sequencher forritinu.

2.5 Ákvörðun á tegundasamsetningu í sýnum

Flokkar eins raða ($\geq 98\%$ skyldleiki) eða stakar raðir voru bornar saman við þekktar raðir í NCBI Genbank með BLAST á veraldarvefnum. Þannig fengust nánustu ættingjar hvernar raðar og jafnframt skyldleikaprósenta óþekktu raðarinnar við nánasta ættingjann. Á þennan hátt fékkst yfirlit um tegundasamsetningu í hverju sýni.

2.6 Skyldleikatré

Ættartré yfir 16S rDNA raðir úr ríkjandi fylkingum raunbaktería og fornbaktería sem fundust í sýnunum voru gerð. Röðunum var samraðað í Bioedit og Clustal tölvuforritunum og skyldleiki hverra tveggja raða metinn (Neighbour Joining) og túlkaður í svokölluðu ættartré þar sem nánir ættingjar mynda nálægar greinar. Viðmiðunarraðir voru fengnar úr Genbank. Á þennan hátt fékkst yfirlitsmynd af því að hvaða marki sýnin voru lík eða ólík innbyrðis m.t.t. tegundasamsetningar og einnig gleggri mynd af því hvort áður óþekktar tegundir eða hópar væru til staðar í sýnunum.

3. Niðurstöður

3.1 Sýnataka og helstu mælingar

3.1.1 Seltún

Sýni voru tekin af hverasvæðinu í Seltúni í Krísuvík þriðjudaginn 29. ágúst og aftur í byrjun nóvember. Ummyndunarfræðingarnir Andri Stefánsson og Ingvar Gunnarsson frá Jarðvísindastofnun Háskóla Íslands voru með í för og var reynt að taka sýni af sömu stöðum til rannsókna. Aðaláherslan var lögð á meginhverinn skammt ofan við bílastæðið. Hverinn er vatnsríkur leirhver á að giska 5 x 6m að stærð. Kröftugt vatnsstreymi er úr miðju hversins sem flæðir undan halla yfir gróskumiklar leirkenndar gróðurþekjur neðst í honum. Leirkenndar, gráar gróðurþekjur eru einnig víða við bakka hversins, sums staðar með hvítum útfellingum.

Sýni K1-K4 voru tekin á mismunandi stöðum í hvernum. Nokkur önnur sýni, K5-K8 voru svo tekin víðsvegar annars staðar á svæðinu við Seltún. Sýni KRI3 var leirsýni sem tekið var úr 30cm djúpri holu á svæðinu.

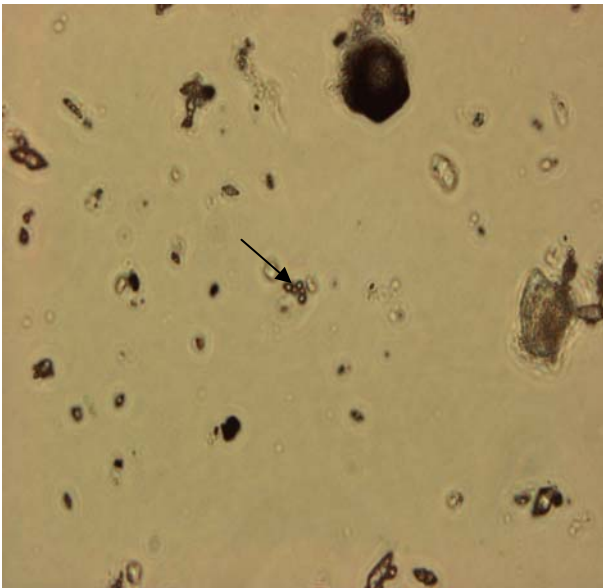
Sýni K1 var tekið ofan við aðalhverinn. Þarna var mikið gasuppstreymi og var sýnið tekið úr þykkri örverumottu með þéttum gráum leir. Hvítar útfellingar voru sýnilegar ofan á leirnum (mynd 2). Smásjármynd af sýninu sýndi kúlulaga frumur og þráðlaga form (myndir 3 og 4). Hér ber að geta að smásjármyndataka af leirríkum sýnum er oft vandkvæðum bundin, þar sem agnir vilja loða við þrátt fyrir ítrekaða skolun.



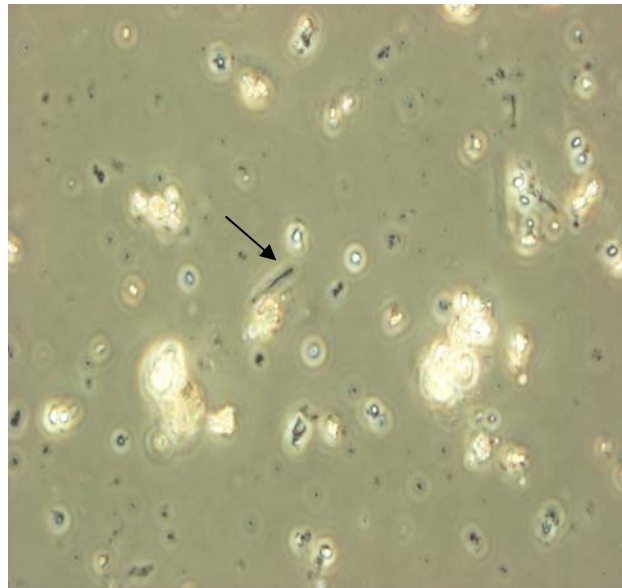
Mynd 2. Sýni K1 í Seltúni í Krísuvík. Þéttur örverugróður íblandaður gráum leir, með hvítum útfellingum

Sýni K2 var tekið nálægt K1 úr sama hver. Lífmassi með gráhvítum útfellingum var veiddur út með pinsettu. Grár massi var undir.

Sýni K3 var tekið á svipuðum slóðum af örþunnri yfirborðsbrák sem myndaði filmu ofan á hvernum (mynd 5). Reynt var að veiða brákina sérstaklega ofan af.



Mynd 3. Sýni K1 úr grárri þekju með hvítum útfellingum. Í sýninu sást kúlulaga frumur. (100x stækkun)



Mynd 4. Sýni K1 úr grárri þekju með hvítum útfellingum. Í sýninu sást þráðlaga form. (100x stækkun)

Sýni K4 var tekið neðst í hvernum. Í miðju hversins er mikið vatn og mikið gasuppstreymi sem flæðir yfir þykkan, þéttan, gróskumikinn einsleitan örverugróðurinn sem er leirkenndur (mynd 6). Sýnið var tekið úr þessum gróðri.



Mynd 5. Sýni K3 var tekið af fljótandi örverubrák sem myndaði filmu ofan á hvernum.



Mynd 6. Sýni K4 var tekið þar sem vatn úr hverauppstreptunni streymdi yfir þéttan örverugróðurinn.

Sýni K5 var tekið úr lítilli opnu í bullandi leirhver vinstra megin við göngubrú á leið frá aðalhvernum. Brák flaut ofan á og var reynt að taka sýni af henni. Hitastig var fremur hátt eða 93.1°C og sýrustig lágt eða pH 3-3.5.

Sýni K6 var tekið í læk hægra megin við göngubrúna á leiðinni frá aðalhvernum. Svartir grannir þræðir voru sýnilegir í heitum læknum og var tekið sýni af þeim með pinsettu.

Sýni K7 var tekið úr lítilli opnu alveg við göngubrúna, vinstra megin á leið niður, ofan við K6. Sýnið var tekið úr yfirborðsbrák. Ekki tókst að ná miklu magni, en ákveðið að freista þess þó. Hitastigið í opnunni var tiltölulega hátt eða 79.2°C og sýrustigið afar lágt, eða pH 2.5.

Sýni K8 var tekið úr læk neðan við bílastæði. Sérkennilegar svart útstreymi sást undan bakkanum og minnti á “black smoker”. Vökvasýni, ca 1L var tekið af þessu til síunar.

Sýni KRI3 var tekið í tengslum við fyrri rannsókn, en er haft með hér þar sem það kemur úr hverasvæðinu í Seltúni. Þetta sýni var að vísu ekki tekið beint úr hver, heldur var grafin hola (30cm) ofan í leirinn rétt neðan við gíginn á svæðinu og var jarðvegssýni tekið í botni holunnar og greint.

3.1.2 Austurengjahver

Sýni A1 var tekið úr lítilli leiropnu 2-3m frá Austurengjahver (mynd 7). Sýni A2 var vatnssýni (400mL) tekið úr Austurengjahvernum sjálfum (mynd 8).



Mynd 7. Lítil opna við Austurengjahver (Ø~20cm). Hitastigið mældist um 75°C og pH 4,3.



Mynd 8. Austurengjahver er tiltölulega stór tjörn um 50°C heit en sýrustigið er mjög lágt eða um pH 2,5.

3.1.3 Gunnuhver

Loks var farið að svæðinu við Gunnuhver nálægt Reykjanesvita og sýni tekin þar úr hvítumleittum leirhver (G1) og úr gufuauga (G2). Í töflu 1 má sjá helstu upplýsingar um sýnin sem tekin voru. Sýni G1 var tekið úr hvítum leirhver á svæðinu við Gunnuhver (mynd 9). Sýni G2 var tekið úr gufuauga á sama svæði (mynd 10).



Mynd 9. Hvítur leirhver á svæðinu við Gunnuhver á Reykjanesi. Hitastigið í hvernnum var um 70°C og pH 4,2.



Mynd 10. Gufuauga á svæðinu við Gunnuhver. Hitastigið mældist um 90°C og pH 3,8.

TAFLA 1. GERÐ SÝNA OG MÆLINGAR Á ÞEIM

| Staður | Sýni | Hitastig | pH | Gerð hvers | Gerð sýnis | Nr OS |
|------------|------|-----------|-------|---------------------|------------------|--------|
| Seltún | K1 | 55°C | 5,5-6 | Vatnsríkur leirhver | Lífmassi leir | O63833 |
| Seltún | K2 | 55°C | 6 | Vatnsríkur leirhver | Lífmassi leir | O63834 |
| Seltún | K3 | 57.3-60.5 | 6 | Vatnsríkur leirhver | Yfirborðsbrák | e.g. |
| Seltún | K4 | 53-54°C | 5,5-6 | Vatnsríkur leirhver | Lífmassi leir | O63835 |
| Seltún | K5 | 93.1°C | 3-3.5 | Leirpottur | Yfirborðsbrák | e.g. |
| Seltún | K6 | 60°C | 3 | Lækur afrennsli | Lífmassi leir | O63836 |
| Seltún | K7 | 79.2 | 2,5 | Vatnsríkur leirhver | Yfirborðsbrák | e.g. |
| Seltún | K8 | kalt | e.g. | Útstreymi | Vatnssýni | O63837 |
| Seltún | KRI3 | 34°C | 2,5 | Leir | Jarðvegssýni | e.g. |
| Austurengi | A1 | 75°C | 4,3 | Leirpottur | Leirsýni (grátt) | e.g. |
| Austurengi | A2 | 50°C | 2,4 | Vatnshver (stóri) | Vatnssýni | e.g. |
| Gunnuhver | G1 | 70°C | 4,2 | Leirhver hvítur | Leirsýni (hvítt) | e.g. |
| Gunnuhver | G2 | 90°C | 3,8 | Gufuauga | Jarðvegssýni | e.g. |

Taflan gefur yfirlit um öll sýnin sem tekin voru, hitastig, sýrustig, gerð hvers, gerð sýnis, árangur af DNA einangrun og númer sýnis sem tekið var af ummyndunarfræðingum Jarðvísindastofnunar. “e.g.” ekki gert.

3.2 Árangur úr DNA einangrun og PCR

Misjafnlega gekk að einangra DNA úr sýnunum, sem er ekki óeðlilegt þar sem leirblönduð sýni eins og þau sem hér var um að ræða eru talsvert erfiðari viðureignar en “hrein” lífmassasýni, þar sem leirinn vill loða við lífmassann og trufla DNA einangrunina.

Sýni K5, K7, A2 og G2 eru dæmi um sýni þar sem hitastig og / eða sýrustig eru við jaðaraðstæður og lífrænn hluti sýnisins því fremur lágur. Það kemur því ekki verulega á óvart að ekki skyldi takast að ná DNA úr þessum sýnum. Sýni K8 af svörtu útstreymi undan lækjarbakka neðst í Seltúni hefur líklega verið af ólífrænum toga og því ekkert DNA að hafa.

Ekki er útilokað að hægt hefði verið að þétta lífmassa úr nægilega stóru (10-20L) vatnssýni úr Austurengjahver, þrátt fyrir lágt sýrustig, en aðgengi að hvernium er ekki gott og var það því ekki gert.

Sýnataka var endurtekin að hluta til að freista þess að ná DNA úr öðrum sýnum af sömu stöðum. Í heildina tókst að einangra DNA úr 7 sýnum af 13 sem tekin voru sem verða að teljast sæmilegar heimtur miðað við gerð sýna og eðlisþætti á sýnatökustað. Kjarnsýrumögnun (PCR) með sérvirkum vísium fyrir raunbakteríur tókst í 6 af 7 sýnum sem innihéldu DNA (tafla 2). Kjarnsýrumögnun fyrir fornbakteríur (Archaea) tókst í 3 af 7 sýnum sem innihéldu DNA (tafla 2).

TAFLA 2. DNA EINANGRUN OG PCR ÚR SÝNUNUM

| Sýni | Hitastig | pH | Gerð sýnis | DNA | PCR raunb. | PCR fornb. |
|------|-----------|-------|------------------|-----|------------|------------|
| K1 | 55°C | 5,5-6 | Lífmassi | + | + | + |
| K2 | 55°C | 6 | Lífmassi | + | - | - |
| K3 | 57.3-60.5 | 6 | Yfirborðsbrák | + | + | - |
| K4 | 53-54°C | 5,5-6 | Lífmassi | + | + | + |
| K6 | 60°C | 3 | Lífmassi | + | + | - |
| G1 | 70°C | 4,2 | Leirsýni (hvítt) | + | + | + |
| KRI3 | 34°C | 2,5 | Leirsýni (grátt) | + | + | - |

DNA einangrun tókst í 7 sýnum af 13. Taflan gefur yfirlit um kjarnsýrumögnun (PCR) á 16S genum raunbaktería og fornbaktería úr sýnunum.

3.3 Niðurstöður greininga á tegundasamsetningu í sýnunum

Raðgreiningarnar sem fengust úr sýnunum voru flestar af góðum gæðum og 600-800bp langar eða um 40-50% af 16S rRNA geninu (~1500bp) sem gefur tiltölulega áreiðanlega tegundagreiningu.

3.3.1 Sýni úr Seltúni

Yfirlit um tegundasamsetningu raunbaktería og fornbaktería í sýnum úr meginhvernum (K1, K3 og K4) og í sýni K6 af svörtum þráðum í læk, eru í töflum 3 og 4. Niðurstöður úr sýni KRI3 sem tekið var af jarðvegi á 30cm dýpi eru teknar fyrir sérstaklega og má sjá tegundasamsetningu raunbaktería í sýninu í töflu 5.

3.3.1.1 Raunbakteríur í sýnum úr Seltúni

Alls fengust 211 raðgreiningar upp úr sýnum í meginhvernum (sýni K1, K3 og K4) og 93 úr sýni af svörtum þráðum í heitum læk (K6), eða 304 raðgreiningar alls úr sýnum af Svæðinu í Seltúni. Þessar 304 raðir flokkast til 26 tegunda sem eru misdreifðar á 10 fylkingar (tafla 3).

TAFLA 3. TEGUNDASAMSETNING RAUNBAKTERÍA Í KRÍSUVÍKURSÝNUM (K1, K3, K4 og K6)

FYLKING: AQUIFICALES 5 tegundir

| Röð ^{a)} | Genbank ^{b)} | Nánasti ættingi ^{c)} | Fylking ^{d)} | Skyldl. ^{e)} | Fjöldi ^{f)} | % ^{g)} |
|-------------------------|-----------------------|--|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------|
| K1-1-36 | AF255597 | Aquificales str. SRI-240 | Aquificae | 99 | 36 | |
| K3-1-70 | AF255597 | Aquificales str. SRI-240 | Aquificae | 99 | 70 | |
| K4-1-40 | AF255597 | Aquificales str. SRI-240 | Aquificae | 99 | 41 | |
| K3-2-1 | AJ320225 | Hydrogenobaculum sp. NOR3L3B | Aquificae | 99 | 1 | |
| K3-3-7 | AF528192 | Sulfurihydrogenibium azorense | Aquificae | 100 | 7 | |
| K4-2-1 | AF528192 | Sulfurihydrogenibium azorense | Aquificae | 99 | 1 | |
| K3-4-1 | AF453508 | Uncultured Aquificales bacterium cl pAz4 | Aquificae | 97 | 1 | |
| K6-1-93 | DQ831989 | Uncult Hydrogenobaculum sp. AN112 | Aquificae | 99 | 93 | |
| ALLS Aquificales | | | | | 250 | 82,3 |

FYLKING: γ -PROTEOBAKTERÍUR 5 tegundir

| Röð | Genbank | Nánasti ættingi | Fylking | Skyldl. | Fjöldi | % |
|---|----------|---------------------------------------|-------------------|---------|-----------|----------|
| K1-2-3 | AF255600 | Uncultured bacterium SRI-280 | γ -Proteob | 99 | 3 | |
| K3-5-3 | AF255600 | Uncultured bacterium SRI-280 | γ -Proteob | 99 | 3 | |
| K4-3-7 | AF255600 | Uncultured bacterium SRI-280 | γ -Proteob | 97 | 7 | |
| K4-4-7 | DQ414419 | Marinobacter sp. 61A | γ -Proteob | 100 | 7 | |
| K4-5-1 | AB118236 | Thiovirga sulfuroxydans | γ -Proteob | 95 | 1 | |
| K4-6-3 | AF154088 | Unc hydrocarbon seep bacterium BPC028 | γ -Proteob | 95 | 3 | |
| ALLS γ-Proteobakteríur | | | | | 24 | 8 |

FYLKING: δ -PROTEOBAKTERÍUR 5 tegundir

| Röð | Genbank | Nánasti ættingi | Fylking | Skyldl. | Fjöldi | % |
|---|----------|---|-------------------|---------|-----------|------------|
| K1-3-3 | DQ333312 | Uncultured Desulfurella sp. clone SK401 | δ -Proteob | 97 | 3 | |
| K3-6-1 | DQ333312 | Uncultured Desulfurella sp. clone SK401 | δ -Proteob | 96 | 1 | |
| K4-7-3 | DQ333312 | Uncultured Desulfurella sp. clone SK401 | δ -Proteob | 97 | 3 | |
| K4-8-2 | AF354149 | Uncultured delta proteobacterium | δ -Proteob | 91 | 2 | |
| K4-9-1 | AF193026 | Desulfovibrio sp. | δ -Proteob | 87 | 1 | |
| ALLS δ-Proteobakteríur | | | | | 10 | 3,3 |

FYLKING: ε-PROTEOBAKTERÍUR 2 tegundir

| Röð | Genbank | Nánasti ættingi | Fylking | Skyldl. | Fjöldi | % |
|-------------------------------|----------|---|-----------|---------|----------|------------|
| K3-7-2 | DQ295701 | Uncultured epsilon proteob clone MilliWH2 | ε-Proteob | 99 | 2 | |
| K4-10-1 | DQ295701 | Unc epsilon proteobacterium cl MilliWH2 | ε-Proteob | 99 | 1 | |
| K4-11-2 | AB030590 | Uncultured epsilon proteobacterium | ε-Proteob | 97 | 2 | |
| ALLS ε-Proteobakteríur | | | | | 5 | 1,6 |

FYLKING: ACIDOBAKTERÍUR 2 tegundir

| Röð | Genbank | Nánasti ættingi | Fylking | Skyldl. | Fjöldi | % |
|---------------------------|----------|-------------------------------|----------------|---------|----------|------------|
| K1-4-3 | DQ230949 | Unc bact cl NO27FW100501SAB53 | Acidobacteria? | 89 | 3 | |
| K4-12-2 | DQ230949 | Uncultured bacterium clone | Acidobacteria? | 89 | 2 | |
| ALLS Acidobacteria | | | | | 5 | 1,6 |

FYLKING: NITROSPIRA 3 tegundir

| Röð | Genbank | Nánasti ættingi | Fylking | Skyldl. | Fjöldi | % |
|------------------------|----------|----------------------|-------------|---------|----------|------------|
| K3-8-1 | AF255603 | Nitrospira sp. SRI-9 | Nitrospirae | 99 | 1 | |
| K4-13-3 | AF255603 | Nitrospira sp. SRI-9 | Nitrospirae | 97 | 3 | |
| K4-14-1 | AF255603 | Nitrospira sp. SRI-9 | Nitrospirae | 97 | 1 | |
| ALLS Nitrospira | | | | | 5 | 1,6 |

FYLKING: ÝMSAR

| Röð | Genbank | Nánasti ættingi | Fylking | Skyldl. | Fjöldi | % |
|-------------------|----------|--|----------------|---------|------------|------------|
| K1-5-1 | L09171 | Thermoanaerobact thermosulfurigenes | Firmicutes | 93 | 1 | |
| K4-15-1 | DQ834045 | Uncultured bacterium cl SK685 Thiomonas? | B-Proteob | 99 | 1 | |
| K4-16-2 | AF255590 | Thermus sp. SRI-96 | Deinoc-Thermus | 99 | 2 | |
| K4-17-1 | AF027005 | Unidentified Verrucomicrobium | Verrumicrobia | 94 | 1 | |
| ALLS Annað | | | | | 5 | 1,6 |
| ALLS: | | | | | 304 | 100 |

^aNafn raðar (númer sýnis-númer raðar innan sýnis-fjöldi samskonar raða innan sýnis); ^btilvísunarnúmer tegundarinnar eða nánasta ættingja í Genbank; ^cnafn á nánasta ættingja, ^dfylking sem tegundin tilheyrir, ^eskyldleiki tegundarinnar sem fannst við nánasta ættingja í Genbank (ef skyldleikinn er 98% eða hærrí er talið að um sömu tegund sé að ræða); ^ffjöldi raða innan sýnisins; ^ghlutfall einstakra fylkinga í sýnunum.

Erfðagreiningar á raunbakteríum úr aðalhvernum í Seltúni (sýni K1, K3 og K4) leiddu í ljós að *Aquificae* fylkingin er langstærst í sýnunum, en fjöldi raða sem flokkast til hennar er 250 eða rúmlega 80% allra greindra raða. Tegundir sem flokkast til þessarar fylkingar eru frumbjarga og geta oxað vetni eða H₂S til orkuöflunar og nýtt ólífrænt kolefni sem kolefnisgjafa. Þessar tegundir eru afar algengar í hverum hér á landi sem og annars staðar þar sem þær eru fyrsta stigs framleiðendur og mynda oft undirstöðu vistkerfisins í hverunum. Ríkjandi *Aquificae* tegund í sýnum úr meginhvernum (K1-K4) í Seltúni er tegund af ættkvísl *Aquificales* - str. SRI-240, en þessi tegund fannst fyrst í súlfíðríkum hver í Grændal (Skirnisdóttir o.fl. 2000). Þessi tegund er augljóslega í háu hlutfalli í hverunum í Krísuvík (tafla 3). Á Torfajökulssvæðinu var þessi tegund mjög algeng í sýnum úr Stórahver (Sólveig Pétursdóttir o.fl. 2006).

Fleiri tegundir innan *Aquificae* fylkingarinnar fundust í hverunum í Krísuvík (tafla 3) þó að þær væru ekki ríkjandi í meginhvernum eins og *Aquificales* - str. SRI-240. Ein þessara tegunda er *Hydrogenobaculum* tegund sem fannst í sýni K3 af yfirborðsbrák í meginhvernum. Önnur *Hydrogenobaculum* tegund var allsráðandi í sýni K6 sem var tekið af svörtum sýnilegum þráðum sem uxu í 60°C heitum læk neðan við meginhvervinn í Seltúni. Sýrustigið í læknum var töluvert lægra

en í aðalhvernum, eða pH 3. Þræðirnir voru veiddir upp með pinsettu þannig að sýnið var mjög einsleitt. Allir klónarnir sem fengust úr sýni K6, 93 að tölu, voru sömu tegundar með nánasta ættingja (99%) Uncultured *Hydrogenobaculum* sp. AN112 (tafla 3) sem fannst fyrst með raðgreiningum á DNA úr lífmassasýnum úr hverum í Yellowstone þjóðgarðinum, en röðin var hýst í Genbank í júní 2006 (Nagy o.fl. 2006) og er náskyld öðrum *Hydrogenobaculum* tegundum sem fundist hafa t.d. á Torfajökulssvæðinu. Þess má geta að í rannsókn sem gerð var á 30 *Hydrogenobaculum* stofnum sem voru einangraðir úr sýnum úr hverum í Yellowstone var sýnt fram á að um helmingur stofnanna oxaði H₂S til orkuöflunar, aðeins tveir gátu eingöngu oxað H₂ og að allir oxuðu arsenít, en nýttu það ekki til orkuöflunar (D'Imperio og McDermott 2006).

Enn önnur tegund innan fylkingar *Aqificae*, *Sulfurihydrogenibium azorense*, fannst í sýnum af yfirborðsbrák og úr lífmassasýnum í meginhvernum í Seltúni (tafla 3). Þessi tegund var fyrst einangruð úr hver á Azoreyjum eins og nafnið bendir til og var henni fyrst lýst árið 2004 (Aguiar o.fl. 2004). Þessi tegund flokkast til *Hydrogenothermaceae* ættarinnar eins og *Aquificales* SRI-240 tegundin sem fjallað var um hér að framan. Samkvæmt lýsingu getur tegundin notað brennistein, sulfít, thiosulfat, járn (ferrous iron) eða vetni sem elektrónugjafa og súrefni (0.2–9.0 %, v/v) sem elektrónugega. Tegundin getur einnig vaxið loftfirrt með brennisteini, arsenate og járn (ferric iron) sem elektrónugega. *S. azorense* vex á bilinu 50–73°C og við pH 5.5–7 (Aguiar o.fl. 2004) sem kemur vel heim og saman við aðstæður í hvernum í Seltúni í Krísuvík þar sem hitastigið var á bilinu 53–60°C og pH 5,5–6. Aðeins ein önnur tegund flokkast til *Sulfurihydrogenibium* ættkvíslarinnar. Þessi tegund heitir *Sulfurihydrogenibium yellowstone* og var einangruð úr hver í Yellowstone þjóðgarðinum eins og nafnið bendir til. Þessi tegund hefur ekki fundist hér á landi svo vitað sé.

Proteobakteriur fundust einnig í sýnum úr hvernum (tafla 3), en *Proteobakteriufylkingin* er stór og mjög sundurleit hópur baktería sem eru ýmist frumbjarga eða ófrumbjarga og nota ýmsar leiðir í lífsbaráttunni. Þó nokkrar tegundir *Proteobacteria* eru algengar í hverum.

Ein *Proteobakteríu* tegundin sem fannst í um 5% hlutfalli í meginhvernum í Seltúni var “*Uncultured bacterium* str. SRI-280” sem flokkast til γ -*Proteobacteria*. Þessi tegund fannst fyrst hér á Íslandi í súlfíðríkum hver í Grænsdal við Hveragerði (Skírnisdóttir o.fl. 2000). Síðar hefur hún fundist í Yellowstone þjóðgarðinum og víðar. Enn hefur þó ekki tekist að rækta þessa tegund. Þess má geta að í tilraun sem gerð var í því skyni að nota einfalda lífræna elektrónugjafa til að örva súlfatafoxandi samfélög í vatnshreinsun á súru vatni sem innihélt málma og sulfat greindist þessi tegund í allt að 6% tilvika þar sem ethanol var elektrónugjafinn (Kaksonen, A. O.fl. 2004).

Önnur γ -*Proteobaktería* sem fannst í nokkrum eintökum í meginhvernum í Krísuvík á sér nákominn (100%) ættingja í Kína (*Marinobacter*), tegund sem fannst þar í olíumenguðum söltum jarðvegi. Sú tegund virðist flokkast til *Alteromonas* ættkvíslarinnar en innan hennar eru m.a. tegundir sem nýta sér súlfat.

Desulfurella tegundir sem flokkast til δ -*Proteobaktería* fundust víða í hvernum, en þó aðeins í 1,5-6,5% tilvika (tafla 3). Þessar tegundir vaxa við loftfirrðar aðstæður og geta afoxað brennistein (S°) í H_2S og eru tiltölulega algengar í hverum. Þær þurfa lífrænt kolefni.

Nokkrar ϵ -*Proteobakteríur* fundust í hvernum (tafla 3). Flestar ϵ -*Proteobakteríur* hafa fundist í sjó, en á síðari árum hafa menn einnig fundið þær í landhverum. Afar illa hefur gengið að rækta þessar landhverategundir (Campell o.fl. 2006). Vitað er að ϵ -*Proteobakteríu*tegundir sem hafa fundist í sjó, m.a. á N-Atlantshafshryggnum, geta bundið CO_2 og afoxað NO_3^- í NH_4^+ . Einnig hafa fundist tegundir innan ϵ -*Proteobaktería* sem oxa brennistein. Ekki skal fullyrt hér hvort þær tvær tegundir sem fundust í hvernum í Seltúni í Krísuvík geta það líka.

Ein áhugaverð tegund raunbaktería skyld “Uncultured bacterium clone NO27FW100501SAB53” fannst í meginhvernum í Seltúni í Krísuvík. Þessi tegund er þó einungis 89% skyld ofangreindri tegund í Genbank, sem hefur aldrei verið ræktuð. Tegundin flokkast að öllum líkindum til *Acidobacteria*, en þegar um fjarskyldar tegundir er að ræða er oft erfitt að greina tegundir til ákveðinna hópa. Þessi sama tegund hefur nokkrum sinnum skotið upp kollinum í sambærilegum greiningum hér á Íslandi, en hefur ekki fundist annars staðar svo vitað sé. Þessi tegund hefur aldrei verið ræktuð.

Tegund af ættkvísl *Nitrospira* fannst í nokkrum sýnum í hvernum. Áður var talið að fylkingin ætti sér enga hitakæra meðlimi, en í rannsókn á bakteríum í borholuvatni kom í ljós að hún finnst víða í tengslum við jarðhita (Marteinsson o.fl. 2001). Þessi tegund hefur einnig áður fundist á Íslandi í súlfíðríkum hver í Grænsdal (Skirnisdóttir o.fl. 2000). *Nitrospirae* fylkingin myndar djúpa grein í lífsins tré og inniheldur tegundir sem oxa nítrít. Flestar þekktar tegundir fylkingarinnar eru algengastar í fersku eða söltu vatni. Þær geta tekið upp ólífrænt kolefni (HCO_3^- og CO_2).

Í töflu 3 neðst eru nokkrar tegundir flokkaðar saman innan hópsins “ýmsar fylkingar”. Þar sést tegund sem er aðeins 93% skyld *Thermoanaerobacter thermosulfuringenes* sem er tegund innan *Firmicutes* fylkingarinnar. Tegundin sem fannst í Krísuvík er einnig aðeins 93% skyld

Thermoanaerobacteria islandicum, en sú tegund var tilkynnt sem ný tegund í Genbank í október 2006 (Orlygsson o.fl. 2006) og fannst í Grændal. Krísuvíkurtegundin virðist því alveg ný af nálinni.

Önnur tegund innan hópsins “ýmsar fylkingar” er af *Thiomonas* ættkvísl innan β -*Proteobacteria*. Aðeins ein raðgreining fékkst af þessari ættkvísl og sýndi hún mestan skyldleika við óræktaða *Thiomonas* tegund sem fannst í Yellowstone þjóðgarðinum.

3.3.1.2 Fornbakteríur í sýnum úr Seltúni

Alls fékkst 81 fornbakteríuraðgreining úr sýnunum úr aðalhvernum í Seltúni í Krísuvík. Fornbakteríuflóran virðist þó afar einsleit, þar sem *Thermoplasmatales* tegundir innan fylkingar *Euryarchaeota* eru greinilega yfirgnæfandi með yfir 90% greindra klóna.

TAFLA 4. TEGUNDASAMSETNING FORNBAKTERÍA Í KRÍSUVÍKURSÝNUM

| Röð ^{a)} | Genbank ^{b)} | Nánasti ættingi ^{c)} | Fylking ^{d)} | Skyldl. ^{e)} | Fjöldi ^{f)} | % ^{g)} |
|----------------------------|-----------------------|---|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------|
| K1-6-2 | AY861947 | Unc Thermoplasmatales ARCH cl OPPD010 | Euryarchaeota | 96 | 2 | |
| K4-18-2 | AY861947 | Unc Thermoplasmatales ARCH cl OPPD010 | Euryarchaeota | 96 | 2 | |
| K1-7-40 | AY861955 | Unc Thermoplasmatales ARCH cl OPPD020 | Euryarchaeota | 98 | 40 | |
| K4-3-30 | AY861955 | Unc Thermoplasmatales ARCH cl OPPD020 | Euryarchaeota | 98 | 30 | |
| K4-5-1 | DQ237924 | Uncultured archaeon clone YAC1 | Euryarchaeota | 94 | 1 | |
| ALLS Euryarchaeota | | | | | 75 | 92,6 |
| K1-8-2 | DQ243747 | Uncultured Desulfurococcales ARCH clone | Chrenarchaeota | 95 | 1 | |
| K4-21-3 | DQ243747 | Uncultured Desulfurococcales ARCH clone | Chrenarchaeota | 99 | 3 | |
| K4-22-1 | DQ243775 | Uncultured Desulfurococcales | Chrenarchaeota | 92 | 1 | |
| K4-23-1 | DQ441517 | Unc archaeon clone Hverd066N | Chrenarchaeota | 96 | 1 | |
| ALLS Chrenarchaeota | | | | | 6 | 7,4 |
| ALLS: | | | | | 81 | 100 |

^{a)}Nafn raðar (númer sýnis-númer raðar innan sýnis-fjöldi samskonar raða innan sýnis); ^{b)}tilvísunarnúmer tegundarinnar eða nánasta ættingja í Genbank; ^{c)}nafn á nánasta ættingja, ^{d)}fylking sem tegundin tilheyrir, ^{e)}skyldleiki tegundarinnar sem fannst við nánasta ættingja í Genbank (ef skyldleikinn er 98% eða hærrí er talið að um sömu tegund sé að ræða); ^{f)}fjöldi raða innan sýnisins; ^{g)}hlutfall einstakra fylkinga í sýnunum.

Thermoplasmatales tegundir eru hita- og sýrukærar og dafna best við lágt sýrustig um pH 2, sem er ívið lægra en sýrustigið í hvernum í Seltúni. Þær eru fakultatífir anaerobar, þ.e. geta lifað af við súrefnissnauðar aðstæður. Þær geta nýtt sér brennistein, en þurfa lífrænt kolefni. Þær eru frábrugðnar öðrum fornbakteríum að því leyti að þær hafa ekki frumuvegg, en mjög sérstaka frumuhimnu sem gerir þeim kleift að þola lágt sýrustig umhverfisins.

Aðrar fornbakteríur sem fundust í sýnunum í Krísuvík flokkast til fylkingar *Chrenarchaeota* og eru þær nánast allar af ættkvísl *Desulfurococcales*.

3.3.1.3 Tegundasmsetning í jarðvegssýni KRI3 í Seltúni

Sýni KRI3 var sérstakt að því leyti að það var tekið við lágan hita (34°C) og við tiltölulega súrefnissnauðar aðstæður. Ekki var mikil samsvörun milli jarðvegssýnisins KRI3 og hverasýnanna, sem kemur ekki á óvart þar sem lífsskilyrði eru afar ólík, þ.e. annars vegar tiltölulega súrefnissnautt og kalt (34°C) umhverfi og hins vegar súrefnisríkt og heitt umhverfi.

Engar fornbakteríur fundust í sýninu. PCR mögnun með raunbakteríuvísimum gekk hins vegar vel og fengust 68 raunbakteríuraðir úr sýninu (tafla 5).

Stærsti hópurinn sem fannst í KRI3 sýninu innihélt 26 raðir eða um 38% hlutfall. Hér er um að ræða tegundina *Leptospirillum ferrooxidans* sem flokkast til fylkingar *Nitrospirae* en fjallað var nánar um þennan sérstæða hóp hér að framan.

Annar hópur með umtalsvert hlutfall (19%) er skyldastur óræktaðri bakteríu ("Uncultured bacterium BA18") sem fannst í lífmassa í súrefnissnauðu frárennsli á mjög súru námusvæði (Bond, P.L. et. Al. 2000) en skyldasta (94%) ræktaða tegundin virðist vera *Pelobacter acetylenicus* sem er loftfirrð brennisteins-afoxandi baktería af fylkingu δ -Proteobaktería.

Þriðji hópurinn með um 16% tegundahlutfall reynist vera *Acidithiobacillus* tegund (NO25), sýrukær tegund sem var m.a. einangruð úr súrum affallsvökva frá gamalli koparnámu í Noregi (Johnson, D.B., et. al. 2001).

Tegund skyld (90-95%) *Ferrimicrobium acidiphilum* fannst svo í 7 eintökum, en þetta er ófrumbjarga sýrukær *Actinobaktería*, sem m.a. hefur verið notuð í hreinsun á súlfíðtengdum steinefnum (Johnson, B. og Roberto, F.F. 1997).

Allir þessir hópar teljast til tegunda sem búast mætti við að finna í umhverfi sem þessu. Aðrar raðir eru fjarskyldar og fáar af hverri. Því má ætla að þær skipti óverulegu máli.

TAFLA 5. TEGUNDASAMSETNING RAUNBAKTERÍA Í sýni KRI3

| Röð ^a | Genbank ^b | Nánasti ættingi ^c | Fylking ^d | Skyldi. ^e | Fjöldi ^f | % ^g |
|------------------|----------------------|---|----------------------|----------------------|---------------------|----------------|
| KRI3-1-8 | AFE459800 | Acidithiobacillus ferrooxidans DSM 2392 | γ-Proteobacteria | 99 | 8 | 11,8 |
| KRI3-2-26 | AF356835 | Leptospirillum ferrooxidans st Chil-Lf2 | Nitrospirae | 99 | 26 | 38,2 |
| KRI3-3-13 | AF225446 | Uncultured bacterium BA18 | δ-Proteobacteria | 99 | 13 | 19,1 |
| KRI3-4-11 | AF376019 | Acidithiobacillus sp. NO-25 | γ-Proteobacteria | 100 | 11 | 16,2 |
| KRI3-5-7 | AF251436 | Ferrimicrobium acidophilum | Actinobacteria | 90-95 | 7 | 10,3 |
| KRI3-6-1 | AY140239 | Sulfobacillus sp. Y0017 | Firmicutes | 98 | 1 | 1,5 |
| KRI3-8-1 | ST16SRIBR | Sulfobacillus thermosulfidooxidans | Firmicutes | 94 | 1 | 1,5 |
| KRI3-9-1 | AY040739 | Gram-pos iron-oxidi acidoph SLC66 | Firmicutes | 92 | 1 | 1,5 |
| ALLS: | | | | | 68 | 100 |

3.3.2 Sýni úr Gunnuhver á Reykjanesi

Ekki gekk nægilega vel að ná DNA úr sýnum úr Gunnuhver á Reykjanesi. Ítrekað var reynt að einangra DNA úr jarðvegi sem tekið var umhverfis gufuaugu, en án arangurs. Ágætis árangur náðist þó með eitt sýni G1 úr hvítleitum leirhver þar sem hitastigið var 70°C og sýrustig pH4 og tókst bæði að ná raunbakteríum (tafla 7) og fornabakteríum (tafla 8) úr því.

3.3.2.1 Tegundasamsetning raunbaktería í Gunnuhver

Alls fengust 56 raunbakteríuraðgreiningar úr sýninu sem langflestar flokkuðust til *Hydrogenobaculum* ættkvíslar innan *Aquificae* fylkingarinnar. Ein tegund ættkvíslarinnar er ríkjandi í hvernum eða í tæplega 70% hlutfalli greindra klóna (tafla 6). Þarna er sama tegund á ferðinni og *Hydrogenobaculum* tegundin sem var allsráðandi í sýni K6 við Seltún í Krísuvík og greint var frá hér að framan. Tegundin lifir þó greinilega við mismunandi ytri skilyrði, þar sem Gunnuhverssýnið var tekið af hvítum leir, en K6 sýnið af svörtum sýnilegum þráðum í tærum heitum læk. Sem fyrr segir nýta *Hydrogenobaculum* tegundir sér fyrst og fremst oxun á H₂S til orkuöflunar en sumar hverjar nýta sér oxun á H₂ (D'Imperio og McDermott 2006).

Önnur raunbakteríutebund sem fannst í umtalsverðu magni eða í tæplega 18% tegundahlutfalli er óræktuð tegund - "Uncultured thermal soil bacterium clone" (tafla 6). Þessi tegund hefur fundist áður hér á landi, en aldrei verið ræktuð. Tegundin fannst í sambærilegri greiningu á leir úr leirböðum á Heilsustofnun í Hveragerði, en leirinn kemur upprunalega úr leirnámu í mynni Grænsdals, rétt ofan við Hveragerði (Sólveig Pétursdóttir o.fl. 2004).

Heimildir um þessa tegund eru rýrar, enda hefur hún aldrei verið ræktuð. Skv. Genbank fannst hún í rannsókn á líffræðilegum fjölbreytileika í mjög heitum jarðvegi (Botero o.fl 2001 Genbank). Ekkert hefur þó verið birt meira um þessa rannsókn, þannig að ekki er vitað nánar um hvar sýnið var tekið. Sama tegund fannst svo í rannsókn í Yellowstone þjóðgarðinum árið 2005 (Korf o.fl. 2005).

TAFLA 6. TEGUNDASAMSETNING RAUNBAKTERÍA Í GUNNUHVER

| Röð ^{a)} | Genbank ^{b)} | Nánasti ættingi ^{c)} | Fylking ^{d)} | Skylldi. ^{e)} | Fjöldi ^{f)} | % ^{g)} |
|---------------------------|-----------------------|--|--------------------------|------------------------|----------------------|-----------------|
| G1-1-38 | DQ831989 | Unc. Hydrogenobaculum sp. cl AN112 | Aquificae | 99 | 38 | 67,9 |
| G1-3-10 | AF391980 | Unc thermal soil bacterium cl YNPFPP86 | α -Proteobakteria | 99 | 10 | 17,9 |
| G1-2-1 | AY140238 | Acidicaldus organivorans | α -Proteobakteria | 99 | 1 | 1,8 |
| G1-4-4 | AY427958 | Acidithiobacillus caldus | γ -Proteobakteria | 99 | 4 | 7,2 |
| G1-5-2 | AB023405 | Thiobacillus caldus | γ -Proteobakteria | 98 | 2 | 3,6 |
| G1-6-1 | AB233323 | Alicyclobacillus disulfidooxidans | Firmicutes | 99 | 1 | 1,8 |
| ALLS raunbakteriur | | | | | | 56 |

^{a)}Nafn raðar (númer sýnis-númer raðar innan sýnis-fjöldi samskonar raða innan sýnis); ^{b)}tilvísunarnúmer tegundarinnar eða nánasta ættingja í Genbank; ^{c)}nafn á nánasta ættingja, ^{d)}fylking sem tegundin tilheyrir, ^{e)}skyltleiki tegundarinnar sem fannst við nánasta ættingja í Genbank (ef skyltleikinn er 98% eða hærrí er talið að um sömu tegund sé að ræða); ^{f)}fjöldi raða innan sýnisins; ^{g)}hlutfall einstakra fylkinga í sýnunum.

Önnur áhugaverð tegund raunbaktería sem fannst í sýninu (tafla 6) var *Acidicaldus organivorans* sem er hita- og sýrukær tegund innan fylkingar α -Proteobaktería sem var ræktuð úr sýni úr Yellowstone þjóðgarðinum og fyrst lýst sem nýrri tegund árið 2006 (Johnson o.fl. 2006). Þar kemur reyndar fram að hámarksvaxtarhitastig tegundarinnar sé 65°C, en þess má geta að hitastigið í Gunnuhver mældist um 70°C. Hugsanlegt er að íslenski stofninn í Gunnuhver sé hitapólnari en Yellowstone stofnarnir. Í grein Johnsons (2006) kemur einnig fram að tegundin vex best við pH 2,5-3,0 eða við ívið lægra sýrustig en í Gunnuhver þar sem pH mældist 4.0. Tegundin gat oxað brennistein yfir í brennisteinssýru í æti sem innihélt ger extrakt, en gat ekki lifað frumbjarga lífi með brennistein sem orkugjafa. Vöxtur átti sér stað við loftháðar aðstæður, en einnig án súrefnis með loftfirrðri öndun þar sem ferric járn var loka elektrónuþeginn (Johnson o.fl. 2006). Þessi bakteríutebund fannst ekki í mörgum eintökum í sýninu, en er þó áhugaverð þar sem hún er tiltölulega nýuppgötvuð.

Tvær náskyldar raunbakteríutebundir sem flokkast til γ -Proteobaktería fundust einnig í sýninu (tafla 6): *Thiobacillus caldus* og *Acidithiobacillus caldus*. Hér er nánast um sömu tegund að ræða, brennisteinsoxandi bakteríu með kjörvaxtarhitastig 45°C og kjörvaxtarsýrustig pH 2 (Kamimura o.fl. 1999). Tegundin var upprunalega einangruð úr hveravatni (Goshiki) í Hokkaido í Japan. Með tilraunum var sýnt fram á að tegundin gat nýtt sér brennistein og tetrathionate sem eina orkugjafann og bundið CO₂ þegar hún var ræktuð á brennisteinsæti.

Alicyclobacillus disulfidooxidans fannst í einu eintaki í sýninu (tafla 6). Þessi tegund getur oxað dísulífið, notað brennistein og pyrit sem orkugjafa og nýtt sér lífræn brennisteinssambönd. Kjörvaxtarhitastig tegundarinnar er lágt eða um 35°C. Kjörvaxtarsýrustig er á milli pH 1,5-2,5.

3.3.2.2 Tegundasamsetning fornbaktería í Gunnuhver

Tafla 7 sýnir tegundasamsetningu fornbaktería í sýninu af svæðinu við Gunnuhver. Þar sést að allar tegundirnar sem fundust í sýninu eru af fylkingu *Chrenarchaeota*. Ríkjandi tegund er *Sulfolobus* tegund sem aldrei hefur verið ræktuð (Nagy o.fl. 2006) með tæplega 70% hlutfall raðgreindra klóna. Fleiri *Sulfolobus* tegundir finnast einnig í sýninu, s.s. *Sulfolobus islandicus* (Whitaker o.fl. 2003) sem hefur -eins og nafnið bendir til- fundist áður hér á landi og *Sulfolobus metallicus* (Fuchs o.fl. 1996). Alls er *Sulfolobus* ættkvíslin með yfir 90% hlutfall klóna í sýninu.

Acidianus infernus er svo með tæplega 10% tegundahlutfall í sýninu (tafla 7). Þessari tegund var lýst árið 1986 sem hita- og sýrukærri tegund sem nýtir brennistein (Seegerer o.fl. 1986). *Acidianus* ættkvíslin er skyld *Sulfolobus* ættkvíslinni, en báðar eru innan *Sulfolobales* ættarinnar.

TAFLA 7. TEGUNDASAMSETNING FORNBAKTERÍA Í GUNNUHVER

| Röð ^a | Genbank ^b | Nánasti ættingi ^c | Fylking ^d | Skyldi. ^e | Fjöldi ^f | % ^g |
|---------------------------|----------------------|---------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------------|
| G1 | DQ832062 | Uncultured Sulfolobus sp. | Chrenarchaeota | 100 | 25 | 67,6 |
| G1 | AY247893 | Sulfolobus islandicus strain 12 | Chrenarchaeota | 98 | 4 | 10,8 |
| G1 | D85505 | Acidianus infernus | Chrenarchaeota | 99 | 5 | 13,5 |
| G1 | X90479 | Sulfolobus metallicus | Chrenarchaeota | 88 | 3 | 8,1 |
| Alls fornbakteriur | | | | | 37 | 100 |

^aNafn raðar (númer sýnis-númer raðar innan sýnis-fjöldi samskonar raða innan sýnis); ^btilvísunarnúmer tegundarinnar eða nánasta ættingja í Genbank; ^cnafn á nánasta ættingja, ^dfylking sem tegundin tilheyrir, ^eskyldleiki tegundarinnar sem fannst við nánasta ættingja í Genbank (ef skyldleikinn er 98% eða hærri er talið að um sömu tegund sé að ræða); ^ffjöldi raða innan sýnisins; ^ghlutfall einstakra fylkinga í sýnunum.

4. Umræður

Sem fyrr segir var áhersla einkum lögð á hverasvæðið í Seltúni í Krísuvík sem varð fyrir valinu í samvinnu við jarðefnafræðinga Jarðvísindastofnunar. Aðrir sýnatökustaðir voru við Austurengjahver og Gunnuhver á Reykjanesi. Þar sem sýni af ofangreindum svæðum eru erfiðari í allri vinnslu en sýni úr hverum sem hafa ekki eins hátt leirinnihald náðist ekki að einangra DNA úr öllum sýnunum, eða úr 7 sýnum af 13 sem tekin voru. Æskilegt hefði verið að sýnin hefðu verið víðar að á á Krísuvíkursvæðinu en raun varð á. Líklegt er að Matis - Prokaria vinni áfram á Krísuvíkursvæðinu og verður þess þá freistað að nýta þær niðurstöður að e-u leyti inn í lokasamantekt um lífríki í hverum á háhitasvæðum á Íslandi innan Rammaáætlunar.

Hér á eftir fer samantekt um helstu tegundir örvera sem fundust í Seltúni og við Gunnuhver og stöðu þeirra innan einstakra fylkinga sem hafa hlutverki að gegna í vistkerfi hveranna. Skyldleikatré eru sýnd sem varpa ljósi á stöðu þessara tegunda og skyldleika tegunda innbyrðis. Líffræðilegur fjölbreytileiki í sýnunum er áætlaður.

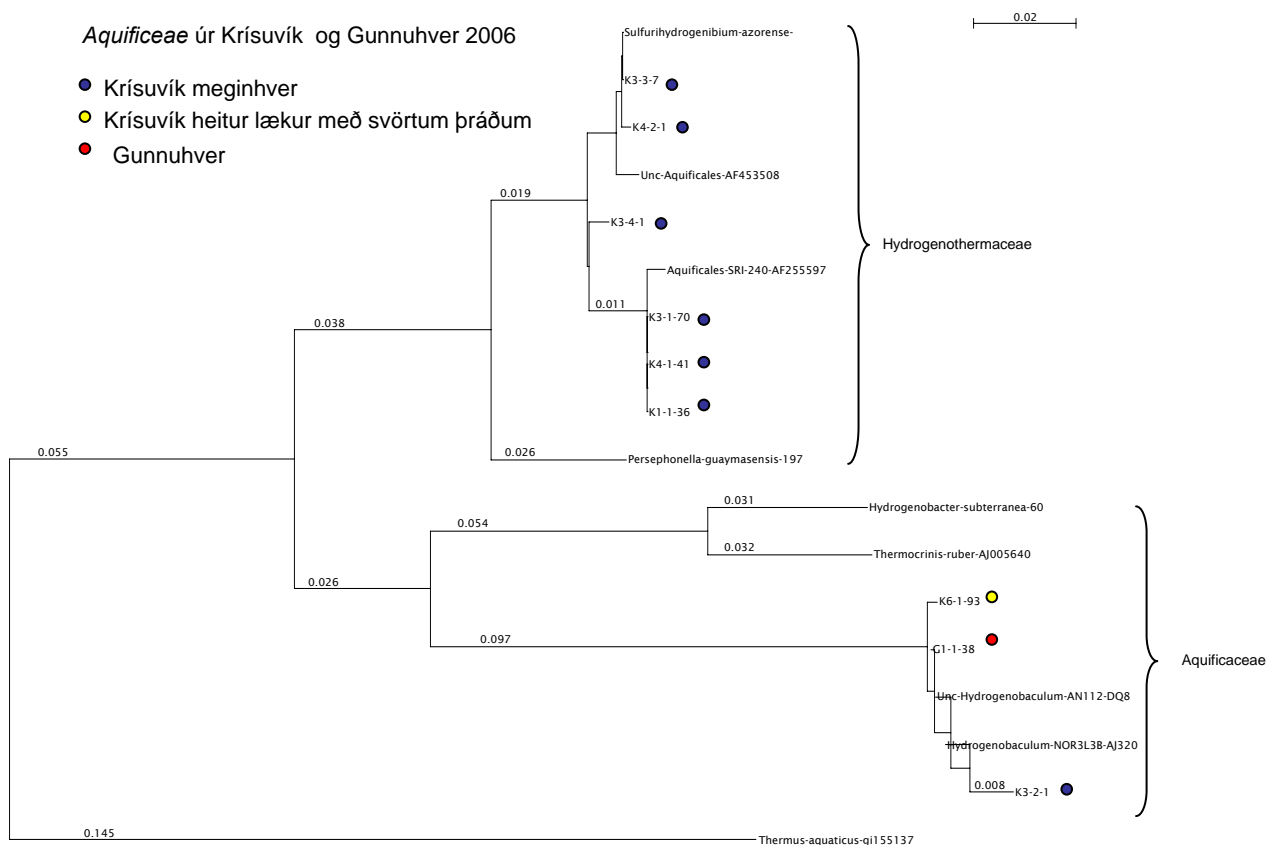
4.1 Raunbakteríur

4.1.1 Fylking Aquificae

Tegundir raunbaktería sem einkenna lífríkið í Seltúni í Krísuvík eru einkum frumbjarga tegundir af fylkingu *Aquificae*. Þessar tegundir sem oxa vetni og súlfíð til orkuöflunar og fá kolefni úr CO₂ ráða ríkjum og mynda lífræna undirstöðu fyrir aðrar ófrumbjarga tegundir. Mynd 11 sýnir skyldleika *Aquificae* tegunda sem fundust í Seltúni og á svæðinu við Gunnuhver ásamt viðmiðunarröðum úr Genbank.

Eins og sjá má eru tegundirnar sem finnast í meginhvernum í Seltúni allar utan tvær innan *Hydrogenothermaceae*. Tegundin sem fannst í sýni af svörtum þráðum í læk neðan meginhversins í Seltúni er hins vegar innan *Aquificaceae* og sama á við um *Aquificae* tegundir úr Gunnuhver.

Aquificae tegundir sem fundust í Krísuvík og í Gunnuhver hafa allar fundist hér á landi áður, m.a á Torfajökulssvæðinu og á Hengilssvæðinu.



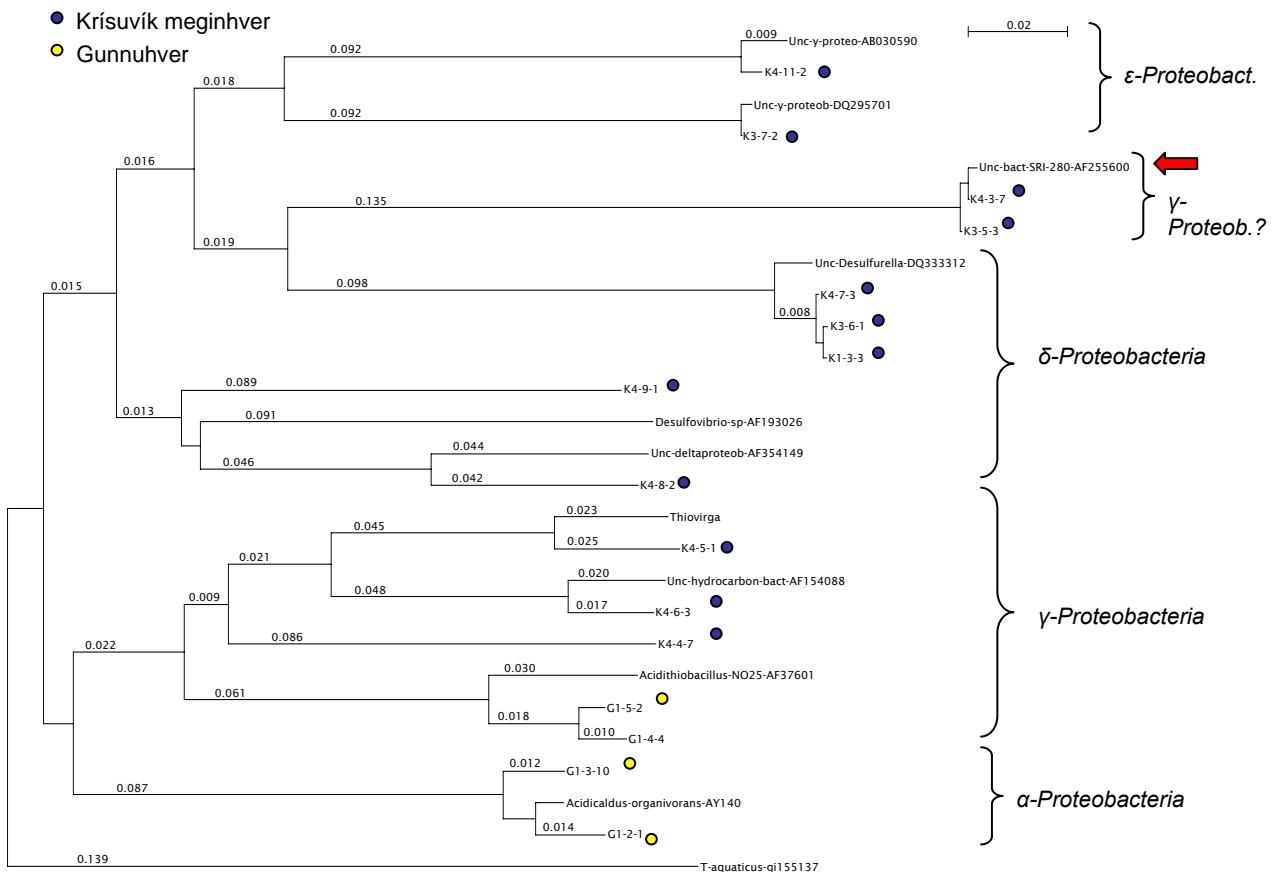
Mynd 11. Tré sem sýnir innbyrðis skyldleika *Aquificae* tegunda sem fundust í sýnum í Krísuvík (Kn) og Gunnuhver (G1). Tréð er byggt á samröðun 16S gena sem fundust í sýnunum ásamt samsvarandi genum úr þekktum *Aquificae* tegundum. *Thermus aquaticus* er notaður sem úthópur. Tölurnar sýna fjarlægðir. Eins og sjá má eru einkum tveir hópar *Aquificae* tegunda í sýnunum þ.e. *Hydrogenothermaceae* og *Aquificaceae*. Sýnin úr Seltúni dreifast á báða hópana, en sýni úr Gunnuhver einskorðast við *Aquificaceae*.

4.1.2 Fylking *Proteobacteria*

Aðrar tegundir sem fundust í sýnunum eru einkum af fylkingu *Proteobacteria* sem er stór og sundurleitur hópur raunbaktería. Mynd 12 sýnir tegundir *Proteobacteria* sem fundust í sýnunum í Krísuvík og á svæðinu við Gunnuhver. Það er einkum næstefsta greinin í trénu sem er áhugaverð, en það er grein sem flokkast til γ -*Proteobacteria* þegar leitað er í Genbank.

Illa hefur gengið að staðsetja þessa tegund til fylkingar, en hún tilheyrir þó hóp sem gengur undir nafninu “Candidate division OP5” (OP = Obsidian Pool, (Yellowstone)). Þessi tegund fannst fyrst í súlfíðríkum hver í Grænsdal árið 2000 og var þá lögð inn í Genbank undir nafninu “Uncultured bacterium SRI 280” (Skírnisdóttir o.fl. 2000). Ættingjar þessarar tegundar fundust m.a. í sýnum úr ræktunartanki með súlfat afoxandi bakteríuflóru (Kaksonen o.fl. 2004) og einnig í hverum í Yellowstone þjóðgarðinum. Þessi tegund og nánustu ættingjar hennar hafa þó aldrei verið ræktaðir.

Proteobakteriur úr Krísuvík og Gunnuhver 2006



Mynd 12. Tré sem sýnir innbyrðis skyldleika *Proteobacteria* sem fundust í sýnum í Krísuvík (Kn) og Gunnuhver (G1). Tréð er byggt á samröðun hlutaraðgreininga á 16S genum sem fundust í sýnunum og sambærilegum svæðum úr 16S genum viðmiðunartegunda. *Thermus aquaticus* er notaður sem úthópur. Tölurnar sýna fjarlægðir.

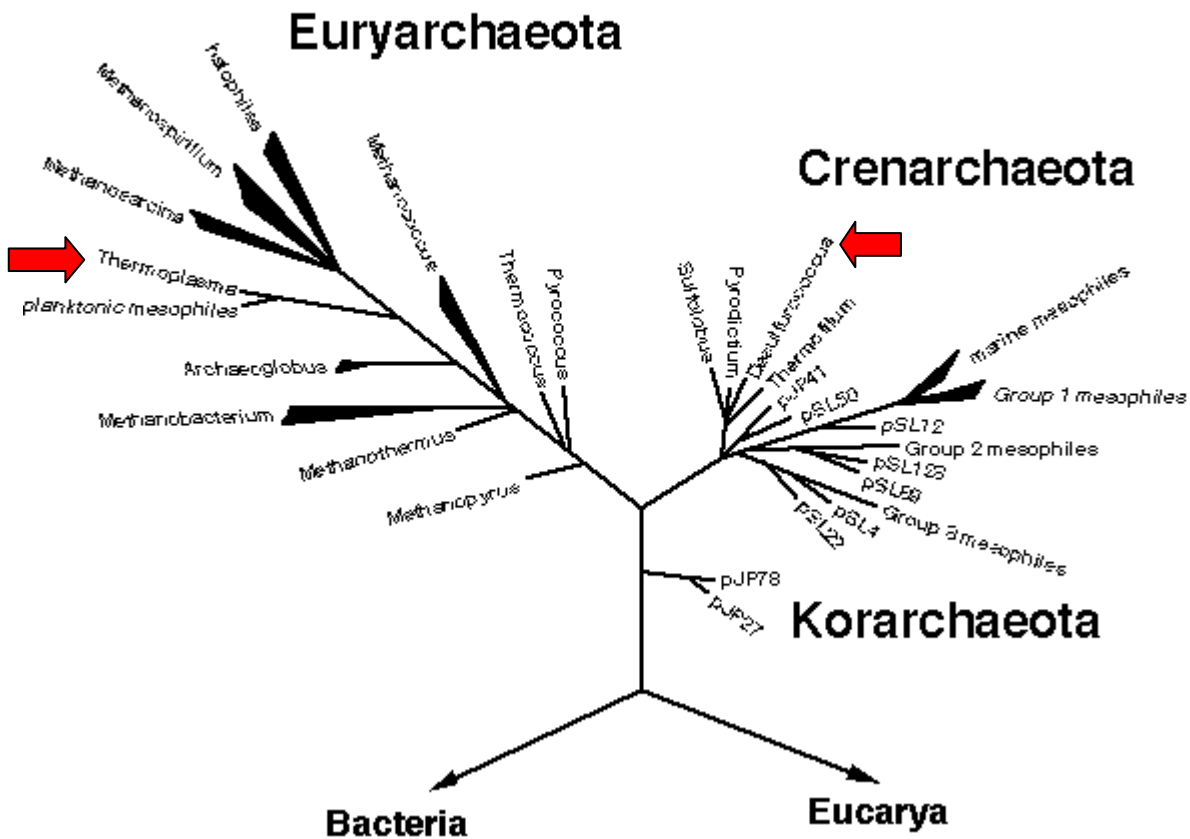
Ýmsir hópar *Proteobacteria* fundust í rannsókninni, α ; γ ; δ og ϵ . Þó vekur athygli að α -*Proteobakteriur* finnast eingöngu í sýninu úr Gunnuhver, engin α -*Proteobacteria* fannst í hverunum Seltúni í Krísuvík. Fjölbreytileiki *Proteobacteria* er þó meiri í Krísuvík þar sem tveir γ -hópar, δ - og ϵ -*Proteobakteriur* finnast, en aðeins tveir hópar finnast í Gunnuhver þ.e. α - og γ -*Proteobakteriur*.

4.2 Fornbakteriur

Fornbakteriur sem fundust í sýnunum voru einkum af fylkingum *Chrenarchaeota* og *Euryarchaeota*. Mynd 13 sýnir innbyrðis tengsl Fornbaktería. Í sýnunum úr hverunum í Seltúni fundust tegundir innan beggja fylkinganna, en í sýninu af svæðinu við Gunnuhver fundust eingöngu tegundir innan fylkingar *Chrenarchaeota*.

Crenarchaeota voru í fyrstu taldar innihalda eingöngu háhitakærar tegundir, en í ljós hefur komið að þær mynda stærsta hóp fornbaktería í sjó. Þær hafa sérstöðu innan fornbaktería þar sem allflestar

þeirra hafa ekki histónprótein (tengist DNA) eins og aðrar fornbakteríutegundir og heilkjörnungar, en histón prótein finnast heldur ekki innan raunbaktería.

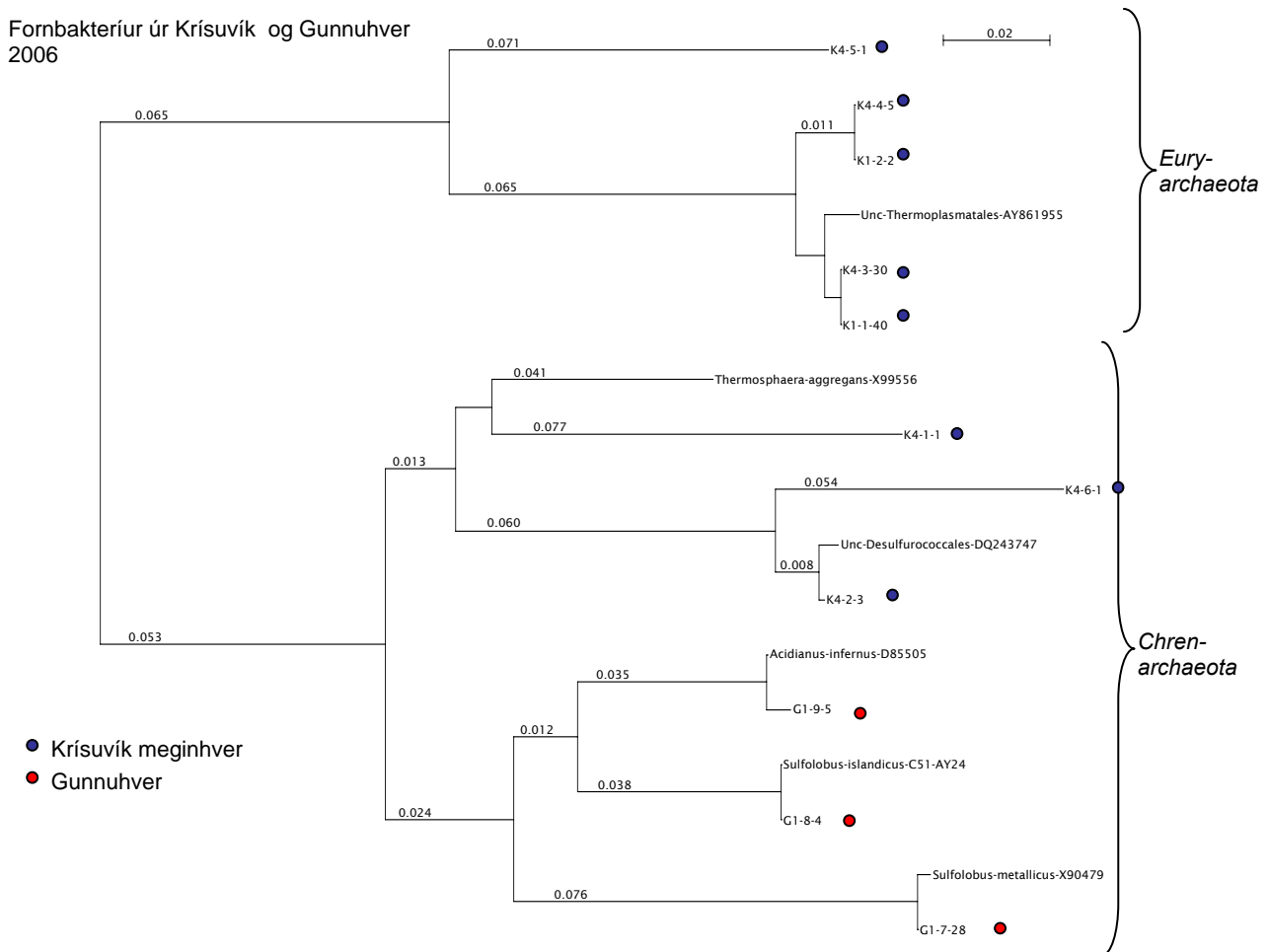


Mynd 13. Innbyrðist tengsl fornbaktería. Stærstu fylkingarnar innan fornbaktería eru *Euryarchaeota* og *Crenarchaeota*. Tegundir innan *Korarchaeota* hafa eingöngu fundist sem “raðir” en aldrei verið ræktaðar. “Bacteria” táknar ríki raunbaktería og “Eucarya” táknar ríki heilkjörnunga. Rauðu örvarnar sýna ættkvíslir sem fundust í sýnum úr Krísuvík og Gunnuhver.

Innan *Euryarchaeota* fylkingarinnar eru methanmyndandi bakteríur (methanogens), halobakteríur sem þola afar háan saltstyrk í umhverfinu og einnig háhitakærar loftháðar og loftfælnar bakteríur. Þarna mynda *Thermoplasma* tegundir einan grein, en tegundir innan hennar voru einmitt áberandi í Krísuvíkursýnunum.

Svo virðist sem fjölbreytileiki fornbaktería sé ívið meiri í Seltúni en í Gunnuhver. Í Gunnuhver fundust einungis fornbakteríur innan ættar *Sulfolobales* innan fylkingar *Crenarchaeota*. Þetta er

hópur sem þolir sérlega lágt sýrustig, en getur lifað ágætu lífi við hærri sýrustig eins og í Gunnuhver þar sem sýrustigið var um pH 4.



Mynd 14. Tré sem sýnir innbyrðis skyldleika fornbaktería sem fundust í sýnum í Krísvík (Kn) og Gunnuhver (G1). Tréð er byggt á samröðun hlutaraðgreininga á 16S genum sem fundust í sýnunum og sambærilegum svæðum úr 16S genum viðmiðunartegunda. Tölurnar sýna fjarlægðir.

Flestar Krísvíkurráðirnar flokkast til ættar *Thermoplasmatales* innan fylkingar *Euryarchaeota*. Ein tegundin, K4-5-1, sker sig nokkuð úr þar sem hún myndar staka grein efst í trénu á mynd 14, en sýnir nánastan skyldleika (94%) við *Thermoplasmatales*. Þar sem röðin er góð að gæðum og sýnir góða aðgreiningu milli basa virðist hér um áður óþekktu tegund að ræða.

Innan *Crenarchaeota* sker K4-1-1 sig úr en í ljós kemur að hún sýnir mestan skyldleika við *Feravidococcus fontis* sem fannst á Kamchaka (Perevalova o.fl. 2007). Tvær tegundir *Desulfurococcales* fundust einnig í sýnunum, þ.e. K4-2-3 og K4-6-1. Sú fyrrnefnda hefur fundist

áður í nágrenni við Hveragerði (Kvist o.fl. 2006). Hin er aðeins fjarskyld tegund sem fannst aðeins sem röð í Yellowstone Park (Meyer-Dombard o.fl. 2005).

Sem fyrr segir voru tegundirnar sem fundust við Gunnuhver allar af ætt *Sulfolobales*. Þar skýtur gamalkunnug tegund upp kollinum *Sulfolobus islandicus* sem var fyrst einangraður hér að Íslandi eins og nafnið bendir til. Náfrænda þessarar tegundar er *Sulfolobus metallicus* sem er ríkjandi í sýninu. Annar ættingi þeirra, *Acidianus infernus*, finnst þarna einnig í nokkrum eintökum, en honum var fyrst lýst árið 1998 (Kurosawa o.fl. 1998).

4.3 Líffræðilegur fjölbreytileiki

Lífrikið í hverunum í Seltúni sýnir einkenni jaðarvistkerfis, þ.e. áberandi ríkjandi tegund og síðan aðrar tegundir sem dreifast á ýmsar fylkingar. Litríkir vatnshverir sem einkenna svæði þar sem líffræðilegur fjölbreytileiki er hærri eins og á Hengilssvæðinu og Torfajökulssvæðinu eru ekki á þessum stað. Staðfesting á einsleitni lífríkisins fæst síðan þegar farið er að greina tegundasamsetninguna. Aðstæður í hverunum hvað varðar hitastig og sýrustig eru þó ekki “við endimörk hins byggilega heims”. Hitastigið þar sem sýnin sem tókst að greina voru tekin er “hóflegt” eða á bilinu 53-60,5°C en sýrustigið frekar í neðri kantinum eða á bilinu pH 3- 6. Í hvernum á svæðinu við Gunnuhver var hitastigið ívið hærra eða 70°C og sýrustig pH 4,2. Bæði svæðin einkenndust af miklum leir og er líklegt að leirinn í sjálfu sér skapi valþrýsting á þær tegundir sem fá þrifist að þær sem hann dregur úr vatnsvirkni. Einnig má vera að uppleyst efni og efnasambönd hafi áhrif og verður fróðlegt að sjá niðurstöður jarðefnafræðinga þar um.

TAFLA 8. LÍFFRÆÐILEGUR FJÖLBREYTTILEIKI Í SÝNUNUM

| Sýni | N | S | n1 | C | Nmax | Nt/Nmax |
|----------------------------|-----|----|-----|------|------|---------|
| Seltún K1-K4 raunbakteríur | 211 | 20 | 7 | 96,7 | 157 | 1,3 |
| Seltún K6 raunbakteríur 93 | 1 | 0 | 100 | 93 | 1,0 | |
| Seltún fornbakteríur | 81 | 8 | 4 | 95,1 | 40 | 2,0 |
| Gunnuhver raunbakteríur | 56 | 6 | 2 | 99,9 | 38 | 1,5 |
| Gunnuhver fornbakteríur | 37 | 4 | 0 | 100 | 25 | 1,5 |

Skýringar: N: Fjöldi raða; S: Fjöldi tegunda í sýni; n1: Fjöldi með aðeins eina röð í sýni; C (coverage): metur hvort fjöldi greindra klóna í sýninu er nægilegur; Nmax: Fjöldi raða innan ríkjandi tegundar; Nt/Nmax: Fjölbreytileikastuðull.

Tafla 8 sýnir samantekt um líffræðilegan fjölbreytileika í sýnunum. Seltúnssýnin eru tekin hér sem ein heild, en fjölbreytileiki metinn fyrir raunbakteríur og fornbakteríur.

Útreiknaður líffræðilegur fjölbreytileiki í sýnunum úr Seltúni er u.þ.b. 2. Sami stuðull fyrir sýnin úr Gunnuhver er ívið lægri eða 1,5. Til samanburðar má geta þess að sambærilegur stuðull fyrir 14 sýni sem tekin voru á Torfajökulssvæðinu var á bilinu 1,0-4,7 og í 16 sýnum af Ölkelduhálsi og Hellisheiði á bilinu 1,1-4,7. Áberandi var í þessum greiningum að líffræðilegur fjölbreytileiki í vatnsríkum hverum þar sem hitastig og sýrustig voru “hófleg” mældist hæstur, en lægri eftir því sem álagið varð meira, þ.e. hærra hitastig og lægra sýrustig.

5. Heimildir

- Aguiar P, Beveridge TJ and Reysenbach AL. 2004. *Sulfurihydrogenibium azorense*, sp. nov., a thermophilic hydrogen-oxidizing microaerophile from terrestrial hot springs in the Azores. *Int J Syst Evol Microbiol* 54 (2004), 33-39; DOI 10.1099/ijs.0.02790-0
- Botero LM, Burr MD, Willits D, Elkins JG, Inskeep WP and McDermott TR. 2001. Prokaryote diversity in an extreme thermal soil. Genbank. Unpublished
- Campell BJ, Engel AS, Porter ML and Takai K. 2006. The versatile E-Proteobacteria: key players in sulphidic habitats. *Nature Reviews Microbiology*. 4: 458-468.
- Fuchs T, Huber H, Burggraf S and Stetter KO. 1996. 16S rDNA-based phylogeny of the archaeal order Sulfolobales and reclassification of *Desulfurolobus ambivalens* as *Acidianus ambivalens* comb. Nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 19, 56-60.
- D'Imperio S and McDermott TR. 2006. The importance of Hydrogen and Sulfide for Hydrogenobaculum like organisms. YNP RCN workshop. Research Coordination Network. Geothermal biology and geochemistry in Yellowstone National Park.
- Johnson DB, Okibe N and Roberto FF. 2003. Novel thermo-acidophilic bacteria isolated from geothermal sites in Yellowstone National Park: physiological and phylogenetic Characteristics *Arch. Microbiol.* 180 (1), 60-68.
- Johnson DB, Stallwood B, Kimura S, Hallberg KB. 2006. Isolation and characterization of *Acididicaldus organivorus*, gen. nov., sp. nov: a novel sulfur-oxidizing, ferric iron-reducing thermo-acidophilic heterotrophic Proteobacterium. *Arch Microbiol.* 185: 212-221.
- Kaksonen AH, Plumb JJ, Franzmann PD and Puhakka JA. 2004. Simple organic electron donors support diverse sulfate-reducing communities in fluidized-bed reactors treating acidic metal- and sulfate-containing wastewater. *FEMS Microbiol Ecol* 47 (3): 279-289.
- Kamimura K, Okayama T, Murakami K and Sugio T. 1999. Isolation and characterization of a moderately thermophilic sulfur-oxidizing bacterium. *Microbios* 99, 7-18.
- Korf SE, Macur RE, Taylor WP, Kozubal MA, Ackerman G, Masur D and Inskeep WP. 2005. Geochemical Controls on Microbial Population Distribution at Rainbow and Joseph's Coat Hot Springs in Yellowstone National Park. Unpublished. Genbank.
- Kurosawa N, Itoh YH, Iwai T, Sugai A, Uda I, Kimura N, Horiuchi T and Itoh T. 1998. *Sulfurisphaera ohwakuensis* gen. nov., sp. nov., a novel extremely thermophilic acidophile of the order Sulfolobales. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48 PT 2, 451-456 (1998)
- Kvist T, Ahring BK and Westermann P. 2007. Archaeal diversity in Icelandic hot springs. *FEMS Microbiol. Ecol.* 59 (1), 71-80.
- Meyer-Dombard DR, Shock EL and Amend JP. 2005. Archaeal and bacterial communities in geochemically diverse hot springs of Yellowstone National Park, USA. *Geobiology* 3 (3), 211-227.

Nagy AM, Korf SE, Macur RE, Inskeep WP, Kozubal MA, Taylor WP and Ackerman GG. 2006. Geochemical Controls on Microbial Population Distribution at Rainbow and Joseph's Coat Hot Springs in Yellowstone National Park. Genbank. Unpublished.

Perevalova AA, Kublanov IV, Kostrikina NA, Kolganova TV, Lebedinsky AV and Bonch-Osmolovskaya EA. 2007. *Fervidococcus fontis* gen. nov., sp. nov., a new hyperthermophilic crenarchaeon from a Kamchatka hot spring. Unpublished í Genbank.

Seegerer A, Neuner AM, Kristjansson JK and Stetter KO. 1986. *Acidianus infernus* gen. nov., sp. nov., and *Acidianus brierleyi* comb. nov.: facultatively aerobic, extremely acidophilic thermophilic sulfur-metabolizing archaebacteria. Int. J. Syst. Bacteriol., 36, 559-564.

Skirnisdóttir S, Hreggvidsson GO, Hjørleifsdóttir S, Marteinsonn VT, Petursdóttir SK, Holst O og Kristjansson JK. 2000. Influence of sulfide and temperature on species composition and community structure of hot spring microbial mats. Appl. Environ. Microbiol. 66 (7), 2835-2841.

Sólveig K. Pétursdóttir, Þorbjörg Hólmgeirsdóttir, Tryggvi Þórðarson, Kristján Guðmundsson, Jakob K. Kristjánsson. 2004. Líf- og læknisfræðilegir eiginleikar hveraleirs. Lokaskýrsla. Verkefni styrkt af Rannís 2003 og 2004

Sólveig K. Pétursdóttir, Steinunn Magnúsdóttir, Viggó Þ. Marteinsonn, Guðmundur Óli Hreggviðsson og Jakob K. Kristjánsson. 2006. Lífríki í hverum á Torfajökulssvæðinu. Skýrsla. Prokaria hf. Janúar 2006.

Spear JR, Walker JJ, McCollom TM of Pace NR. 2005. Hydrogen and bioenergetics in the Yellowstone geothermal ecosystem. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 102 (7), 2555-2560.

Whitaker RJ, Grogan DW and Taylor JW. 2003. Geographic barriers isolate endemic populations of hyperthermophilic archaea. Science 301 (5635), 976-978.

Orlygsson J and Baldursson SR. 2006. Characterization of a new saccharolytic, anaerobic, thermophilic bacterium, *Thermoanaerobacter islandicum* sp. nov., from hot spring in Iceland. Genbank.

Viggó Þ. Marteinsonn, Sólveig K. Pétursdóttir og Steinunn Magnúsdóttir. 2004. Líffræðileg fjölbreytni í hverum og laugum á Hengilssvæðinu. Skýrsla unnin fyrir Orkustofnun.