

**Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu**  
**Wydział Biologii**

---

**- ROZPRAWA DOKTORSKA -**

w formie spójnego tematycznie cyklu artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych

mgr Marta Pikosz

**INTERACTIONS BETWEEN FILAMENTOUS  
GREEN ALGAE: TAXONOMIC DIVERSITY,  
ECOLOGICAL AND BIOCHEMICAL EFFECTS**

**INTERAKCJE MIĘDZY ZIELENICAMI NITKOWATYMI:  
ZRÓŻNICOWANIE TAKSONOMICZNE ORAZ EFEKTY  
EKOLOGICZNE I BIOCHEMICZNE**

Promotor: dr hab., prof. UAM Beata Messyasz

- Poznań 2019 -

Praca doktorska wykonana w ramach Studium Doktoranckiego w Zakładzie Hydrobiologii w Instytucie Biologii Środowiska na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Praca finansowana ze środków z Narodowego Centrum Nauki w ramach grantu (NZ8\_25092) oraz z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (PBS1/A1/2/2012).

## Podziękowania

Ta praca doktorska, będąca zwieńczeniem blisko siedmiu lat pracy, nie powstałaby bez wsparcia i życzliwości wielu osób. Ich obecność, zrozumienie i pomoc pozwoliły mi dotrwać do końca pomimo chwil zwątpienia.

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania *Pani prof. UAM dr hab. Beacie Messyasz* za nieocenioną pomoc udzieloną w trakcie przygotowywania pracy doktorskiej, cierpliwość i wyrozumiałość oraz motywację do krytycznego spojrzenia na problematykę badawczą.

Chciałam wyrazić głęboką wdzięczność *Pani prof. dr hab. Lubomirze Burchardt* bez której moja praca doktorska nie mogłaby powstać.

Dziękuję *Panu prof. dr hab. Grzegorzowi Schroederowi* oraz *Pani prof. UAM dr hab. Bogusławie Łęskiej* za umożliwienie wykonywania badań w ramach współpracy międzywydziałowej z Zakładem Chemii Supramolekularnej Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Szczególne wyrazy wdzięczności składam pracownikom Zakładu Hydrobiologii i Zakładu Ochrony Wód Wydziału Biologii UAM w Poznaniu za pomoc i życzliwość oraz prawdziwie naukową atmosferę w pracy.

Chciałabym również podziękować rodzinie oraz przyjaciołom, za nieustanne wsparcie oraz motywację. Pragnę podziękować wszystkim moim przyjaciołom, którym nie znudziło się pytać „Jak tam doktorat?”, ani słuchać o kolejnym „ostatnim tygodniu” pisania pracy.

Bardzo serdecznie dziękuję.

Marta Pikosz

## **Spis treści:**

<b>1. STRESZCZENIE</b>	<b>5</b>
<b>2. ABSTRACT</b>	<b>7</b>
<b>3. ANKIETA DOROBKU NAUKOWEGO</b>	<b>9</b>
<b>4. WSTĘP</b>	<b>24</b>
<b>5. CEL PRACY ORAZ HIPOTEZY BADAWCZE</b>	<b>28</b>
<b>6. TEREN BADAŃ</b>	<b>29</b>
<b>7. METODY BADAŃ</b>	<b>32</b>
<b>8. WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA</b>	<b>37</b>
<b>9. PODSUMOWANIE</b>	<b>45</b>
<b>10. LITERATURA</b>	<b>46</b>
<b>11. OŚWIADCZENIA WSPÓŁAUTORÓW</b>	<b>50</b>
<b>12. KOPIE CYKLU PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE, O KTÓRYM MOWA W ART. 13 UST. 2 USTAWY O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI</b>	<b>58</b>

## 1. STRESZCZENIE

Nieliczne informacje na temat funkcjonowania biocenoz tworzonych przez zielenice nitkowate stały się punktem wyjścia do podjęcia wnikliwej ich analizy. Celem naukowym pracy doktorskiej pt.: „Interakcje między zielenicami nitkowatymi: zróżnicowanie taksonomiczne oraz efekty ekologiczne i biochemiczne” było określenie zakresu zmienności morfologicznej zielenic nitkowatych w relacji z parametrami fizyczno-chemicznymi wody w różnych typach ekosystemów wodnych. Istotą przeprowadzonych badań *ex situ* było wykazanie zmian zachodzących w obrębie produkcji aminokwasów obecnych w plechach makroglonów, na skutek ich ekspozycji na działanie stresu spowodowanego konkurencją. W ramach postawionych celów badawczych testowano szereg hipotez badawczych związanych z wpływem warunków środowiskowych na wzorce wzrostu różnych gatunków tworzących maty zielenicowe. Badania prowadzono w warunkach *in situ* i eksperymentach laboratoryjnych.

Wyniki przeprowadzonych badań wnoszą nowe oraz uzupełniające informacje odnośnie wymagań siedliskowych dla poszczególnych gatunków zielenic nitkowatych. Najistotniejszym etapem badań było otrzymanie wzorców wzrostu (szczególnie pod względem wymagań termicznych i świetlnych) i odrębność nisz ekologicznych gatunków budujących maty glonowe w wodach słodkich. W badaniach wykazano zmienność przestrzenną zagęszczenia i cech biofizycznych mat jednogatunkowych, budowanych przez *Cladophora glomerata* (L.) Kütz. Opracowane wyniki pozwalają lepiej zrozumieć rolę zielenic nitkowatych jako biowskaźników w monitoringu wód. W dalszej perspektywie, badania te mogą mieć istotne znaczenie aplikacyjne w zarządzaniu zbiornikami z problemem masowego pojawu mat glonowych. Współwystępowanie kilku taksonów zielenic nitkowatych w tym samym miejscu może powodować wystąpienie interakcji, jaką jest konkurencja o przestrzeń (duże zagęszczenie mat) i pierwiastki biogenne. Skutkiem konkurencji może być wzajemne zastępowanie lub wykluczanie się gatunków wspomagane przez wydzielanie substancji chemicznych. Po raz pierwszy wykazano, że na skutek interakcji między zielenicami nitkowatymi zachodzą zmiany biochemiczne w postaci zmian składu aminokwasów obecnych w plechach makroglonów.

Badania wykonane w ramach pracy doktorskiej pozwoliły na poznanie biologii i funkcjonowania zielenic nitkowatych co może przyczynić się w przyszłości

do określenia możliwości ograniczenia masowych pojawów zielenic nitkowatych w warunkach silnej eutrofizacji oraz możliwości wykorzystywania biomasy zielenic do celów gospodarczych.

## 2. ABSTRACT

Scarce information about the functioning of biocenoses created by filamentous green algae have become the starting point to undertake a thorough analysis of them. The scientific goal of the doctoral thesis: " Interactions between filamentous green algae: taxonomic diversity, ecological and biochemical effects." was to determine the morphological variability of filamentous green algae in relation to the physical and chemical parameters of water in various types of aquatic ecosystems. The essence of the *ex situ* examinations was to show the changes occurring in the production of amino acids present in macroalgae thalli, as a result of their exposure to stress caused by competition. Within the set research goals, a number of research hypotheses related to the impact of environmental conditions on the growth patterns of various species of forming mats green algae were tested. The tests were carried out *in situ* and in laboratory experiments.

The results of the research carried out provide both new and complementary information regarding habitat requirements for individual species of filamentous green algae. The most significant stage of the research was to obtain growth patterns (especially in terms of thermal and light requirements) and the distinctness of ecological niches of species building algae mats in fresh water ecosystems. Spatial variability of compaction and biophysical features of single-species mats, built by *Cladophora glomerata* (L.) Kütz., has been demonstrated in the studies. The developed results allow a better understanding of the role of filamentous green algae as bioindicators in water monitoring. In the long-term, these studies may have important application implications in management of reservoirs with the problem of massive appearance of algae mats. The coexistence of several taxa of filamentous green algae in the same place may cause interaction, which is competition for space (high density of mats) and nutrients. The effect of competition may be mutual substitution or species exclusion, assisted by the release of chemical substances. It was demonstrated for the first time that biochemical changes in the form of changes in the amino acid composition present in macroalgae thalli occur as a result of the interaction between filamentous green algae.

Research carried out as part of the doctoral thesis allowed to get to know the biology and the functioning of filamentous green algae, which may contribute in the future to determine the possibility of limiting mass occurrences of filamentous green

algae in conditions of strong eutrophication and the possibility of using biomass of green algae for economic purposes.

### 3. ANKIETA DOROBKU NAUKOWEGO

Mgr Marta Pikosz

Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki.

**A. Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcia naukowe, o których mowa w art. 13 ust. 2 ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, rozprawę doktorską pt. „Interactions between filamentous green algae: taxonomic diversity, ecological and biochemical effects”**

#### **Publikacja I**

**Pikosz M., Messyasz B.** 2015. New data on distribution, morphology and ecology of *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn (Oedogoniales, Chlorophyta) in Poland. *Biodiversity Research and Conservation*, 40:21-26.

[13 pkt. MNiSW]

#### **Publikacja II**

**Pikosz M., Messyasz B.** 2015. Composition and seasonal changes in filamentous algae in floating mats. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 44(2):273-281.

[0,519 IF; 15 pkt. MNiSW]

#### **Publikacja III**

**Pikosz M., Messyasz B.** 2016. Characteristic of *Cladophora* and coexisting filamentous algae in relation to environmental factors in freshwater ecosystems in Poland. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 45(2):202-215.

[0,544 IF; 15 pkt. MNiSW]

#### **Publikacja IV**

**Pikosz M., Messyasz B., Gąbka M.** 2017. Functional structure of algal mat (*Cladophora glomerata*) in a freshwater western Poland. *Ecological Indicators*, 74:1-9.

[3,983 IF; 35 pkt. MNiSW]

#### **Publikacja V**

**Pikosz M., Czerwik-Marcinkowska J., Messyasz B.** 2019. The effect of *Cladophora glomerata* exudates on the amino acid composition of *Cladophora fracta* and *Rhizoclonium* sp. *Open Chemistry*, 17:313-324.

[1,425 IF; 14 pkt. MNiSW]

**B. Sumaryczny współczynnik impact factor IF** według listy Journal Citation Reports (JRC) na rok wydania publikacji wynosi: **7,015**.

Sumaryczny współczynnik MNiSW: **92 pkt.**

---

**C. Pozostałe publikacje niewchodzące w skład rozprawy doktorskiej**

Publikacje w czasopismach wyróżnionych w Journal Citation Reports (JCR)

Messyasz B., Czerwik-Marcinkowska J., Uher B., Rybak A., Szendzina L., **Pikosz M.** 2013. *Ulva flexuosa* subsp. *pilifera* (Chlorophyta, Ulvophyceae) from the Wielkopolska region (West Poland): a new observation on the ultrastructure of vegetative cells. *Oceanological and Hydrobiological Studies*. 42(2): 209-215.

[0,867 IF; 15 pkt. MNiSW]

Messyasz B., Czerwik-Marcinkowska J., Masalski A., Uher B., Rybak A., Szendzina L., **Pikosz M.** 2013. Morphological and ultrastructural studies on *Ulva flexuosa* subsp. *pilifera* (Chlorophyta) from Poland *Acta Soc Bot Pol.* 82(2): 157-163.

[1,17 IF; 15 pkt. MNiSW]

Schroeder G., Messyasz B., Łęska B., Fabrowska J., **Pikosz M.**, Rybak A. 2013. Algi jako surowiec w przemyśle i rolnictwie. *Przemysł Chemiczny* 92(7): 1380.

[0,414 IF; 15 pkt. MNiSW]

Schroeder G.M., Łęska B., Messyasz B., **Pikosz M.**, Fabrowska J. 2015. Extraction of macroalgal biomass for cosmetics industry. *Przemysł Chemiczny* 94(3): 405-407. DOI: 10.15199/62.2015.3.30

[0,367 IF; 15 pkt. MNiSW]

Messyasz B., Łęska B., Fabrowska J., **Pikosz M.**, Roj E., Cieslak A., Schroeder G., 2015. Biomass of freshwater *Cladophora* as a raw material for agriculture and the cosmetic industry. *Open Chemistry*, 13: 1108–1118. DOI: 10.1515/chem-2015-0124

[1,207 IF; 14 pkt. MNiSW]

Messyasz B., Leska B., Fabrowska J., **Pikosz M.**, Cieslak A., Schroeder G. 2015. Effects of organic compounds on the macroalgae culture of *Aegagropila linnaei*. Open Chemistry, 13: 1040-1044. DOI: 10.1515/chem-2015-0119

[1,207 IF; 14 pkt. MNiSW]

Pankiewicz R., Łęska B., Messyasz B., Fabrowska J., Sołoducha M., **Pikosz M.** 2016. First isolation of polysaccharidic ulvans from cell wall of freshwater algae. Algae Research- Biomass, Biofuels and Bioproducts, 19:348-354.

[4,694 IF; 40 pkt. MNiSW]

#### Publikacje w recenzowanych czasopismach wymienionych w wykazie MNiSW

Rybak A., Messyasz B., Szendzina L., **Pikosz M.**, Koperski M. 2011. A new locality of the freshwater population of *Ulva flexuosa* subsp. *pilifera* (Chlorophyta, Ulvophyceae) in Poznań (Wielkopolska). Teka Kom. Kszt. Środ. Przyr. – OL PAN, 8: 131 – 144.

[5 pkt. MNiSW]

Messyasz B., **Pikosz M.**, Rybak A., Łepkowska K. 2012. Epiphytic diatom community and calcium carbonate crystals characteristics on the surface of freshwater *Ulva* thalli. Teka Kom. Kszt. Środ. Przyr. - OL PAN, 9: 96-106.

[5 pkt. MNiSW]

Messyasz B., **Pikosz M.**, Rybak A. 2014. Odmiany polimorficzne węglanu wapnia na powierzchni plech *Ulva* (Chlorophyta) notowanych w wodach słodkich. KOSMOS Problemy Nauk Biologicznych, 63(1): 117-124.

[4 pkt. MNiSW]

Burchardt L., Hindák F., Komárek J., Lange-Bertalot H., Messyasz B., **Pikosz M.**, Wejnerowski Ł., Jakubas E., Rybak A., Gąbka M. 2014. Spring phytoplankton and periphyton composition: case study from the thermally abnormal lakes in western Poland. Biodiv. Res. Conserv. 36:17-24. DOI 10.2478/biorc-2014-0010

[7 pkt. MNiSW]

Messyasz B., Rybak A., **Pikosz M.**, Szendzina L. 2013. Fertility effects on *Ulva* thalli mass development in inland waters of Poland. *Biologie Animală Supliment, Proceedings of the International Scientific Conference, Scientific Annals of Alexandru Ioan Cuza University of Iasi.* 69-82.

[7 pkt. MNiSW]

Messyasz B., **Pikosz M.**, Schroeder G., Łęska B., Fabrowska J. 2015. Identification and Ecology of Macroalgae Species Existing in Poland. Chapter 2, In: *Marine Algae Extracts: Processes, Products and Applications, First Edition*, Eds. Kim S.K., Chojnacka K., p. 17-39. Wiley –VCH, ISBN: 978-3-527-33708-8.

[7 pkt. MNiSW]

Schroeder G., Łęska B., Fabrowska J., Messyasz B., **Pikosz M.** 2015. Analysis of green Algae Extracts. Chapter 5, In: *Marine Algae Extracts: Processes, Products and Applications, First Edition*, Ed. Kim S.K., Chojnacka K., p. 81-99, Wiley –VCH, ISBN: 978-3-527-33708-8.

[7 pkt. MNiSW]

Fabrowska J., Łęska B., Schroeder G., Messyasz B., **Pikosz M.** 2015. Biomass and Extracts of Algae as Material for Cosmetics. Chapter 38, In: *Marine Algae Extracts: Processes, Products and Applications, First Edition*, Ed. Kim S.K., Chojnacka K., pp. 681-706. Wiley –VCH, ISBN: 978-3-527-33708-8.

[7 pkt. MNiSW]

Messyasz B. **Pikosz M.**, Treska E. 2018. Biology of freshwater macroalgae and their distribution. Chojnacka K., Wiczorek P., Schroeder G., Michalak I. (Red.) *Algae Biomass: Characteristics and Applications. Developments in Applied Phycology*, vol 8. Springer, Cham. 17-31.

[7 pkt. MNiSW]

**Pikosz M.** 2012. *Oedogonium capillare* (Chlorophyta, Oedogoniales) from the new site in Poland. Nowe Trendy w Naukach Przyrodniczych 3, Tom III, Creative-Science-Monografia, str. 148-156.

[3 pkt. MNiSW]

Messyasz B., Rybak A., Łęska B., **Pikosz M.** 2010. Charakterystyka inkrustacji pokrywającej plechy słodkowodnej formy zielenicy *Ulva* sp. (Ulvaceae, Chlorophyta). Środowisko i Przemysł, Rozdz. II, ISBN 978-83-62108-05-3, Wyd. Cursiva, pp. 43-68.

[3 pkt. MNiSW]

Rybak A., Messyasz B., Łęska B., **Pikosz M.**, Fabrowska J. 2012. Wydajność asymilacji azotu na przykładzie wybranych gatunków roślin wodnych. Środowisko i Przemysł, red. G. Schroeder, P. Grzesiak, Cursiva Tom III, ISBN 978-83-62108-18-3, str. 7-38.

[3 pkt. MNiSW]

Messyasz B., Krysiuk A., **Pikosz M.** 2013. Charakterystyka parametrów fizykochemicznych stawów zdegradowanych działalnością przemysłu cukrowniczego w Kościanie. Środowisko i Przemysł, red. G. Schroeder, P. Grzesiak, Tom IV Cursiva, ISBN 978-83-62108-28-2, str. 205-231.

[3 pkt. MNiSW]

Messyasz B., **Pikosz M.**, Żurek S., Hływa J. 2014. Zdolność poboru nieorganicznych form azotu i fosforu z wody przez zielenice nitkowate z rodzaju gałęzatką (*Cladophora glomerata*, Chlorophyta). W: G. Schroeder, P. Grzesiak (red.), Środowisko i Przemysł. Tom V (rozdział 7). Wydawnictwo Cursiva, Kostrzyń, ISBN 978-83-62108-32-9: 125-140.

[3 pkt. MNiSW]

Messyasz B., Łepkowska K., **Pikosz M.** 2014. Różnorodność gatunkowa organizmów porostowych na makroskopowych zielenicach z rodzaju *Cladophora*. W: G. Schroeder, P. Grzesiak (red.), Środowisko i przemysł. Tom V (rozdział 8). Wydawnictwo Cursiva, Kostrzyń, ISBN 978-83-62108-32-9: 141-175.

[3 pkt. MNiSW]

Messyasz B., **Pikosz M.**, Pioechota J., Radziszewska A., Treska E., Kołodziejska A. 2016. Zmiany sezonowe kryształów CaCO<sub>3</sub> oraz peryfitonowych okrzemek na powierzchni plech *Cladophora glomerata*. W: G. Schroeder, P. Grzesiak (red.), Środowisko i przemysł. Tom VI (rozdział 15). Wydawnictwo Cursiva, Kostrzyń, ISBN 978-83-62108-35-0: 329-351.

[5 pkt. MNiSW]

---

#### **D. Uczestnictwo w konferencjach naukowych**

##### Komunikaty ustne

**1. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 03.12.2014 r.

**Nazwa konferencji:** 1<sup>st</sup> Polish-Kazakh Meeting: relationship between chemistry and biology. International Scientific Conference

**Zasięg konferencji:** międzynarodowa

**Autorzy:** **Pikosz M.**, Messyasz B.

**Tytuł referatu:** Filamentous green algae in Poland

**2. Data i miejsce konferencji:** Trzebnica, Polska, 23-24.01.2017 r.

**Nazwa konferencji:** Bioaktywne związki pochodzenia naturalnego

**Zasięg konferencji:** krajowa

**Autorzy:** Messyasz B., **Pikosz M.**, Treska E.

**Tytuł referatu:** Rola czynników fizyczno-chemicznych w kształtowaniu potencjału glonów jako źródło związków bioaktywnych

##### Komunikaty posterowe

**3. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 5-7.04.2011 r.

**Nazwa konferencji:** II Konferencja Naukowo - Dydaktyczna Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Wyzwania współczesnej biologii, biotechnologii i ochrony środowiska

**Zasięg konferencji:** krajowa

**Autorzy:** Messyasz B., Rybak A., **Pikosz M.**

**Tytuł posteru:** Culture crystals bands on the surface of freshwater *Ulva* taxa

**4. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 8-9.04.2011 r.

**Nazwa konferencji:** Ogólnopolska Konferencja Studentów Biologii. Problemy Biologiczne Współczesnego Świata

**Zasięg konferencji:** krajowa

**Autorzy:** Messyasz B., Rybak A., Szendzina L., **Pikosz M.**

**Tytuł posteru:** Wpływ inkrustacji na wzrost i układ komórek w plechach makrozielenicy *Ulva* sp. (Ulvophyceae, Chlorophyta) w ekosystemach wodnych Wielkopolski

**5. Data i miejsce konferencji:** Wrocław, Polska, 19-21.05.2011 r.

**Nazwa konferencji:** 30<sup>th</sup> International Phycological Conference

**Zasięg konferencji:** międzynarodowa

**Autorzy:** Messyasz B., Rybak A., Szendzina L., **Pikosz M.**

**Tytuł posteru:** The effects of nutrient contents and number of calcium crystals on morphometric features of freshwater *Ulva*

**6. Data i miejsce konferencji:** Agigea – Constanta, Rumunia, 21-22.10.2011

**Nazwa konferencji:** International Scientific Session. The human impact on biodiversity in Black Sea area

**Zasięg konferencji:** międzynarodowa

**Autorzy:** Messyasz B., Rybak A., **Pikosz M.**, Szendzina L.

**Tytuł posteru:** Fertility effects on *Ulva* thalli mass development in inland waters of Poland

**7. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 22-23.03.2012

**Nazwa konferencji:** I Konferencja Młodych Naukowców z okazji Światowego Dnia Wody

**Zasięg konferencji:** krajowa

**Autorzy:** Messyasz B., Rybak A., **Pikosz M.**

**Tytuł posteru:** Freshwater *Ulva* (Chlorophyta) as a bioaccumulator of heavy metals pollution in Nielba river (Wielkopolska region)

**8. Data i miejsce konferencji:** Olsztyn, Polska, 17-20.05.2012

**Nazwa konferencji:** 31<sup>st</sup> International Phycological Conference

**Zasięg konferencji:** międzynarodowa

**Autorzy:** Messyasz B., Rybak A., **Pikosz M.**

**Tytuł posteru:** The ability of green alga *Ulva flexuosa* subsp. *pilifera* to calcium carbonate precipitation

**9. Data i miejsce konferencji:** Olsztyn, Polska, 17-20.05.2012

**Nazwa konferencji:** 31<sup>st</sup> International Phycological Conference

**Zasięg konferencji:** międzynarodowa

**Autorzy:** Messyasz B., Czerwik-Marcinkowska J., Rybak A., **Pikosz M.**, Szendzina L.

**Tytuł posteru:** Ultrastructure characteristics of *Ulva flexuosa* subsp. *pilifera* from freshwater habitats of the Wielkopolska region

**10. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 12.01.2013

**Nazwa konferencji:** Wpływ młodych naukowców na osiągnięcia polskiej nauki

**Zasięg konferencji:** krajowa

**Autorzy:** **Pikosz M.**, Messyasz B.

**Tytuł posteru:** The morphology characteristics and incrustation abilities of the filamentous green algae in small rivers of Wielkopolska

**11. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 21-22.03.2013

**Nazwa konferencji:** II Konferencja Młodych Naukowców z okazji Światowego Dnia Wody

**Zasięg konferencji:** krajowa

**Autorzy:** **Pikosz M.**, Messyasz B.

**Tytuł posteru:** Characteristics of macroscopic green algae filaments co-existed with cyanobacteria from small pond in the Wielkopolska region

**12. Data i miejsce konferencji:** Konin, Polska, 20-23.05.2013

**Nazwa konferencji:** 32<sup>nd</sup> International Conference of Polish Phycologists

**Zasięg konferencji:** międzynarodowy

**Autorzy:** Messyasz B., **Pikosz M.**, Staniszewski R.

**Tytuł posteru:** *Spirogyra crassa* (Charophyta, Zygnemaceae) from Noteć river (Poland)

**13. Data i miejsce konferencji:** Konin, Polska, 20-23.05.2013

**Nazwa konferencji:** 32<sup>nd</sup> International Conference of Polish Phycologists

**Zasięg konferencji:** międzynarodowy

**Autorzy:** Messyasz B., Burchardt L., Gąbka M., Rybak A., **Pikosz M.**, Dondajewska R.

**Tytuł posteru:** Distribution pattern of cyanobacteria assemblages in the stratified and eutrophic Lake Góreckie

**14. Data i miejsce konferencji:** Konin, Polska, 20-23.05.2013

**Nazwa konferencji:** 32<sup>nd</sup> International Conference of Polish Phycologists

**Zasięg konferencji:** międzynarodowy

**Autorzy:** **Pikosz M.**, Messyasz B., Łepkowska K.

**Tytuł posteru:** Morphometrical and ecological diversity of filamentous green algae in the mats from the Mogilnica river

**15. Data i miejsce konferencji:** Jezioro Góreckie, Polska, 21-22.06.2013

**Nazwa konferencji:** I Warsztaty Makrofitowe

**Zasięg konferencji:** krajowa

**Autorzy:** Pikosz M.

**Tytuł posteru:** Glony nitkowate towarzyszące makrofitom w Samicy Stęszewskiej

**16. Data i miejsce konferencji:** Janów Lubelski, Polska, 26-27.09.2013

**Nazwa konferencji:** Konferencja krajowa, Funkcjonowanie, zagrożenia i ochrona drobnych zbiorników wodnych

**Zasięg konferencji:** krajowa

**Autorzy:** Messyasz B., **Pikosz M.**

**Tytuł posteru:** Masowy zakwit metafitonu w drobnych zbiornikach wodnych w Wielkopolsce

**17. Data i miejsce konferencji:** Iasi, Rumunia, 24-26.10.2013

**Nazwa konferencji:** Annual Scientific Meeting

**Zasięg konferencji:** międzynarodowa

**Autorzy:** Messyasz B., **Pikosz M.**

**Tytuł posteru:** Diagnostic features of filamentous green algae - difficulties and simplifity in the species identification

**18. Data i miejsce konferencji:** Iasi, Rumunia, 24-26.10.2013

**Nazwa konferencji:** Annual Scientific Meeting

**Zasięg konferencji:** międzynarodowa

**Autorzy:** **Pikosz M.**, Messyasz B.

**Tytuł posteru:** Space distribution of metaphyton species against a background of environmental factors in water reservoirs in Poland

**19. Data i miejsce konferencji:** Karpacz, Polska, 1-4.12.2013 r.

**Nazwa konferencji:** XXXVIII Międzynarodowe Seminarium Naukowo Techniczne „Chemistry for Agriculture”

**Zasięg konferencji:** krajowa

**Autorzy:** Messyasz B., **Pikosz M.**, Łęska B., Fabrowska J. Schroeder G.

**Tytuł posteru:** Słodkowodne glony makroskopowe jako substrat ekstraktów - czynniki optymalizujące rozwój biomasy

**20. Data i miejsce konferencji:** Karpacz, Polska, 1-4.12.2013 r.

**Nazwa konferencji:** XXXVIII Międzynarodowe Seminarium Naukowo Techniczne „Chemistry for Agriculture”

**Zasięg konferencji:** krajowa

**Autorzy:** Łęska B., Fabrowska J., Messyasz B., **Pikosz M.**, Schroeder G

**Tytuł posteru:** Pozyskiwanie glonów makroskopowych wykorzystywanych w ekstraktach w przemyśle kosmetycznym

- 21. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 13-14.03.2014 r.  
**Nazwa konferencji:** III Konferencja Młodych Naukowców z okazji Światowego Dnia Wody  
**Zasięg konferencji:** krajowa  
**Autorzy:** Messyasz B., **Pikosz M.**, Łepkowska K.  
**Tytuł posteru:** Epiphytic growth on the surface of different *Cladophora* species
- 22. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 13-14.03.2014 r.  
**Nazwa konferencji:** III Konferencja Młodych Naukowców z okazji Światowego Dnia Wody  
**Zasięg konferencji:** krajowa  
**Autorzy:** Łepkowska K., Messyasz B., **Pikosz M.**  
**Tytuł posteru:** of epiphytic diatoms on filamentous green alga
- 23. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 10-12.04.2014 r.  
**Nazwa konferencji:** III Konferencja Naukowo-Dydaktyczna Wydziału Biologii UAM w Poznaniu  
**Zasięg konferencji:** krajowa  
**Autorzy:** **Pikosz M.**, Messyasz B.  
**Tytuł posteru:** Zielenice nitkowate zróżnicowane pod względem morfologii i taksonomii
- 24. Data i miejsce konferencji:** Gdynia, Polska, 19-22.05.2014 r.  
**Nazwa konferencji:** 33<sup>th</sup> International Conference of Polish Phycological Society  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** Messyasz B., **Pikosz M.**  
**Tytuł posteru:** Main habitat preferences of macroscopic filamentous algae
- 25. Data i miejsce konferencji:** Gdynia, Polska, 19-22.05.2014 r.  
**Nazwa konferencji:** 33<sup>th</sup> International Conference of Polish Phycological Society  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** **Pikosz M.**, Messyasz B.  
**Tytuł posteru:** Similarities and differences of massive blooms of filamentous algae in different aquatic ecosystems in Wielkopolska region
- 26. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 11-13.09.2014 r.  
**Nazwa konferencji:** 11<sup>th</sup> International Conference Synanthropization of Flora and Vegetation  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** **Pikosz M.**, Messyasz B.  
**Tytuł posteru:** Mechanisms of filamentous green algae domination in water ecosystems of the Wielkopolska region

**27. Data i miejsce konferencji:** Tulcea, Rumunia, 11-13.09.2014 r.

**Nazwa konferencji:** 2<sup>nd</sup> International Conference Water resources and wetlands

**Zasięg konferencji:** międzynarodowa

**Autorzy:** Pikosz M., Messyasz B.

**Tytuł posteru:** Relationship between development of macrogreen algae and water level in lowland rivers in Poland

**28. Data i miejsce konferencji:** Szczecin, Polska, 17.10.2014 r.

**Nazwa konferencji:** VII Międzynarodowa Konferencja Doktorantów Uniwersytetu Szczecińskiego

**Zasięg konferencji:** międzynarodowa

**Autorzy:** Pikosz M., Messyasz B.

**Tytuł posteru:** Taxonomic and morphological diversity of macroscopic green algae in Mogilnica river (Wielkopolska region)

**29. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 7-8.11.2014 r.

**Nazwa konferencji:** II Międzynarodowa Konferencja Naukowa Oxygenalia

**Zasięg konferencji:** międzynarodowa

**Autorzy:** Pikosz M., Jakubas E., Messyasz B.

**Tytuł posteru:** Impact of filamentous green algae on functioning water ecosystems

**30. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 17.10.2015 r.

**Nazwa konferencji:** Wpływ Młodych Naukowców na osiągnięcia Polskiej nauki

**Zasięg konferencji:** krajowa

**Autorzy:** Pikosz M., Messyasz B.

**Tytuł posteru:** *Cladophora rivularis* (Chlorophyta, Cladophorales) w ekosystemach wodnych Polski

**31. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 12-13.03.2015 r.

**Nazwa konferencji:** IV Konferencja Młodych Naukowców z okazji Światowego Dnia Wody

**Zasięg konferencji:** krajowa

**Autorzy:** Rybak M., Jakubowska N., Pikosz M., Pronin M., Świdnicki K., Rosińska J.

**Tytuł posteru:** Diversity of water research conducted by Young scientists

**32. Data i miejsce konferencji:** Poznań, Polska, 12-13.03.2015 r.

**Nazwa konferencji:** IV Konferencja Młodych Naukowców z okazji Światowego Dnia Wody

**Zasięg konferencji:** krajowa

**Autorzy:** Pikosz M., Messyasz B., Żurek S., Hływa J.

**Tytuł posteru:** Studies on the ability of *Cladophora glomerata* (Chlorophyta) to dissolved nitrogen and phosphorus uptake

- 33. Data i miejsce konferencji:** Rzeszów, Polska, 18-21.05.2015 r.  
**Nazwa konferencji:** 34<sup>th</sup> International Conference of the Polish Phycological Society  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** Messyasz B., **Pikosz M.**  
**Tytuł posteru:** Effect of habitat conditions on macroalgal massive development in various types of water bodies
- 34. Data i miejsce konferencji:** Rzeszów, Polska, 18-21.05.2015 r.  
**Nazwa konferencji:** 34<sup>th</sup> International Conference of the Polish Phycological Society  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** **Pikosz M.**, Messyasz B.  
**Tytuł posteru:** *Oedogonium capillare* (Oedogoniales, Chlorophyceae) from mid-field pond in Wielkopolska Region – morphometrical and ecological aspects
- 35. Data i miejsce konferencji:** Rzeszów, Polska, 18-21.05.2015 r.  
**Nazwa konferencji:** 34<sup>th</sup> International Conference of the Polish Phycological Society  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** Messyasz B., **Pikosz M.**, Issayeva U.A., Łęska B.  
**Tytuł posteru:** Phytoseston comparison of two small rivers dominated by filamentous green algae
- 36. Data i miejsce konferencji:** San Diego, USA, 7-10.06.2015 r.  
**Nazwa konferencji:** The 5<sup>th</sup> International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** Pankiewicz R., Łęska B., Messyasz B., Fabrowska J., Sołoducha M., **Pikosz M.**  
**Tytuł posteru:** First isolation of polisacharidic ulvans from cell wall of freshwater alga
- 37. Data i miejsce konferencji:** Londyn, UK, 23-28.08.2015 r.  
**Nazwa konferencji:** Sixth European Phycological Congress  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** Messyasz B., **Pikosz M.**, Łęska B., Pankiewicz R.  
**Tytuł posteru:** The freshwater species of *Cladophora* (Chlorophyta) from Poland (Central Europe)
- 38. Data i miejsce konferencji:** Londyn, UK, 23-28.08.2015 r.  
**Nazwa konferencji:** Sixth European Phycological Congress  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** Messyasz B., Łęska B., **Pikosz M.**, Schroeder G.  
**Tytuł posteru:** Characteristic of bioactive compounds from biomass of freshwater *Cladophora glomerata*

- 39. Data i miejsce konferencji:** Londyn, UK, 23-28.08.2015 r.  
**Nazwa konferencji:** Sixth European Phycological Congress  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** Łęska B., Messyasz B., Fabrowska J., **Pikosz M.**, Schroeder G  
**Tytuł posteru:** The effect of different Cu (II) concentrations on adsorption yield using freshwater *Cladophora*
- 40. Data i miejsce konferencji:** Łódź, Polska, 1-4.06.2016 r.  
**Nazwa konferencji:** XXXV<sup>th</sup> International conference of the Polish Phycological Society  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** **Pikosz M.**, Messyasz B.  
**Tytuł posteru:** Characteristic of the structure of dense mat formed by *Cladophora glomerata*
- 41. Data i miejsce konferencji:** Łódź, Polska, 1-4.06.2016 r.  
**Nazwa konferencji:** XXXV<sup>th</sup> International conference of the Polish Phycological Society  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** **Pikosz M.**, Messyasz M., Gąbka M.  
**Tytuł posteru:** Habitat variables of filamentous green algae in water ecosystems in Wielkopolska Province (Poland)
- 42. Data i miejsce konferencji:** Łódź, Polska, 1-4.06.2016 r.  
**Nazwa konferencji:** XXXV<sup>th</sup> International conference of the Polish Phycological Society  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** Messyasz B., **Pikosz M.**, Garbarczyk A., Żurek S.  
**Tytuł posteru:** Impact of physical and chemical factors on the desmids distribution in a shallow lake
- 43. Data i miejsce konferencji:** Łódź, Polska, 1-4.06.2016 r.  
**Nazwa konferencji:** XXXV<sup>th</sup> International conference of the Polish Phycological Society  
**Zasięg konferencji:** międzynarodowa  
**Autorzy:** Messyasz B., Issayeva U. A., **Pikosz M.**, Łęska B.  
**Tytuł posteru:** Diatoms accompanying filamentous green algae occurrence in the small urban rivers

**44. Data i miejsce konferencji:** Tulcea, Rumunia, 8-10.10.2016 r.

**Nazwa konferencji:** 3rd International Conference "Water resources and wetlands

**Zasięg konferencji:** międzynarodowa

**Autorzy:** Łęska B., Fabrowska J., Messyasz B., **Pikosz M.**, Pankiewicz R.

**Tytuł posteru:** Fatty acids as example of active compounds contained in macroalga *Cladophora glomerata*

**45. Data i miejsce konferencji:** Tulcea, Rumunia, 8-10.10.2016 r.

**Nazwa konferencji:** 3rd International Conference "Water resources and wetlands

**Zasięg konferencji:** międzynarodowa

**Autorzy:** Messyasz B., **Pikosz M.**, Łęska B., Pankiewicz R., Fabrowska J.

**Tytuł posteru:** The influence of habitat factors on filamentous green algae development forming monospecies mats in flowing and stagnant waters

---

#### E. Udział w projektach badawczych

a) **Nazwa projektu:** Grant nr NZ8\_25092 z Narodowego Centrum Nauki

**Okres uczestnictwa:** od 2015 do 2017

**Kierownik:** Prof. UAM dr hab. Bogusława Łęska

**Pełniona funkcja w grantie badawczym:** wykonawca

**Tytuł projektu:** Fizykochemiczne i biologiczne przyczyny ekologicznej dominacji zielenic nitkowatych w wodach śródlądowych.

b) **Nazwa projektu:** Grant nr PBS 1/A1/2/2012 z Narodowego Centrum Badan i Rozwoju

**Okres uczestnictwa:** od 2012 do 2015

**Kierownik:** Prof. dr hab. Katarzyna Chojnacka, Prof. dr hab. Grzegorz Schroeder

**Pełniona funkcja w grantie badawczym:** wykonawca

**Tytuł projektu:** Innowacyjna technologia ekstraktów glonowych - komponentów nawozów.

c) **Nazwa projektu:** Grant nr 68-2-02-2015 Kazakhstan Republic Ministry of Education and Science

**Okres uczestnictwa:** 2014-2015

**Kierownik:** Prof. Issayeva U. Akmaral, Prof. UAM dr hab. Beata Messyasz

**Pełniona funkcja w grantie badawczym:** wykonawca

---

## **F. Nagrody i stypendia**

- Laureatka programu stypendialnego Fundacji UAM dla doktorantów UAM w roku akademickim 2015/2016.
  - Laureatka stypendium Rektora UAM dla najlepszych doktorantów w roku akademickim 2013/2014, 2015/2016.
  - Laureatka stypendium doktoranckiego z dotacji podmiotowej na dofinansowanie zadań projakościowych w roku akademickim: 2013/2014, 2014/2015, 2015/2016.
- 

## **G. Podsumowanie wszystkich osiągnięć naukowych**

Sumaryczny współczynnik całości dorobku naukowego Impact Factor IF według listy Journal Citation Reports (JRC) na rok wydania publikacji wynosi: **16,741 IF**.

Sumaryczny współczynnik MNiSW: **304 pkt**.

Bazy danych: **14** publikacje w Web of Science, **12** publikacji w SCOPUS (maj 2019),

**H=5 (Web of Science), H=6 (SCOPUS)**

Liczba cytowań publikacji: wg Web of Science = **69**, wg Scopus = **81**

#### 4. WSTĘP

Proces eutrofizacji nadal należy do jednego z najbardziej istotnych zagrożeń i powszechnie występujących problemów wód śródlądowych (Smith i in. 2006). Makroglony pojawiają się bardzo często w miejscach silnie przekształconych morfologicznie i zeutrofizowanych (podwyższone stężenia N i P w wodzie), gdzie znajdują dogodne warunki dla swojego rozwoju (Messyasz i in. 2015). Na stan trofii jezior Polski, szczególnie Wielkopolski negatywnie wpływa odlesienie zlewni z równoczesnym zagospodarowaniem dużej jej powierzchni w celach rolniczych. Wraz ze wzrostem stężenia substancji biogenych w wodach wzrasta liczba ekosystemów wodnych (od drobnych zbiorników wodnych, aż po wody płynące), w których licznie występują makroskopowe zielonice nitkowate (Van den Hoek i in. 1995; Bricker i in. 2008; Borja i in. 2008). Zjawisko to opisywane jest w literaturze jako masowy pojaw, równoważny z zakwitem. Masowy pojaw makroskopowych zielonice nitkowatych w ekosystemach wodnych ma poważne konsekwencje dla ich funkcjonowania, np. poprzez zacienienie, zmianę warunków tlenowych oraz zmianę obiegu biogenów (Khanum 1982; Graham i in. 1995). Skutki masowego pojawu makroglonów dla środowiska są różne w zależności od formy tworzonej przez nie dużej biomasy i są zarówno widoczne w wymiarze ekologicznym (wypieranie gatunków makrofitów zanurzonych, powstanie deficytów tlenowych – spadek bioróżnorodności), ekonomicznym (usuwanie biomasy glonów w zbiornikach hodowli ryb, przywrócenie kąpielisk do stanu funkcjonalności), jak i społecznym (walory estetyczne, spadek atrakcyjności rekreacyjnej).

Glony nitkowate najczęściej występują w postaci tzw. mat, które unoszą się na powierzchni wody lub są przytwierdzone do podłoża (kamienie, makrofity). Woda jako siła nośna może przenosić biomasę makroglonów w powierzchniowej warstwie wody, kształtując jej strukturę (luźna, zwarta) i miejsce występowania (pelagial, litoral). W związku ze zróżnicowaną strukturą przestrzenną maty tworzą różnorodne formy, tj. płyty, korytarze, siatki lub pajęczyny, które mogą być mało- lub wielkopowierzchniowe, luźne lub zwarte (Messyasz i in. 2018). Struktura maty, przez którą rozumie się sposób rozmieszczenia osobników (plech), wskazuje na organizację przestrzenną i pozwala określić nie tylko czystość materiału do badań (jednorodny, mieszany z domieszką roślin podwodnych) ale także efektywność zbioru (wielkość zbioru). Biomasa, czyli masa osobników danego gatunku w przeliczeniu na jednostkę

powierzchni lub objętości, zależy w dużym stopniu od sezonowości jej pojawu oraz warunków środowiskowych, które pozwalają na kolonizację kolejnych miejsc. Ponadto zróżnicowanie struktury mat dotyczy także liczby wchodzących w ich skład taksonów, ponieważ mogą występować maty jednogatunkowe (homogeniczność) lub wielogatunkowe (heterogeniczność). W ich strukturę najczęściej wchodzi przedstawiciele Chlorophyta: *Oedogonium*, *Cladophora*, z grupy Charophyta: *Spirogyra*, *Zygnema* i *Mougotia* oraz Ochrophyta: *Vaucheria* i *Tribonema*. Często zielenicom towarzyszą nitkowate sinice i razem tworzą metafiton (Messyasz i in. 2015).

Makroglony wykazują zmienność morfologiczną i fenotypową, która często uniemożliwia ich dokładną identyfikację. Przykład zmienności morfologicznej *Cladophora glomerata* (L.) Kützing w wodach płynących opisany został przez Chudybę (1965). Istnieją liczne dane literaturowe dotyczące różnorodności taksonomicznej roślin wodnych, w których zbiorowiska zielenic nitkowatych są tylko wspomniane. Potrzeba uzupełnienia luki w wiedzy dotyczącej występowania, biologii i ekologii zielenic nitkowatych wynika również z faktu, że wśród nich są gatunki wymienione na Czerwonej Liście Glonów zagrożonych w Polsce (Siemińska i in. 2006). Szeroki zakres tolerancji niektórych taksonów na czynniki abiotyczne (parametry fizyczne i chemiczne wody) dodatkowo pogłębia problem identyfikacji taksonomicznej makroskopowych zielenic.

Pomimo pospolitego występowania zbiorowisk makroskopowych glonów, informacje o ekologii zielenic nitkowatych w literaturze naukowej są nieliczne i fragmentaryczne. Badania ekologiczne mat makroglonów z wód słodkich prowadzone były głównie przez specjalistów z Indii (Khanum 1982) i Kanady (Higgins i in. 2008), z Polski natomiast niepełne informacje o formach morfologicznych *Cladophora glomerata* (L.) Kützing z rzeki pochodzą z lat 60 XX wieku (Chudyba 1965). Charakterystyka interakcji między mikro- i makroglonami spowodowanej zacienieniem wynikającym z występowania zwartych mat została zbadana przez Sundbäck i McGlather (2005), ale dotyczy ekosystemu morskiego. W porównaniu z państwami takimi jak Hiszpania czy USA (Cambra i Aboal 1992; Higgins i in. 2008), w Polsce praktycznie brakuje aktualnych informacji opisujących różnorodność i funkcjonowanie makroskopowych mat, w skład których wchodzi zielenice. Autor dwuletnich badań ekologii mat występujących w jeziorach i stawach w Indiach, określił zakres parametrów wody dla przedstawicieli rodzajów: *Oedogonium*, *Cladophora*, *Rhizoclonium*, *Spirogyra*, *Hydrodictyon*, *Zygnema*, *Sirogonium*, natomiast pominął

aspekt morfometryczny plech (Khanum 1982). Stąd też prowadzony przeze mnie w ramach badań monitoring warunków siedliskowych, przy jednoczesnej analizie parametrów morfometrycznych plech umożliwił określenie gradientu środowiskowego i optimum rozwojowego dla makroglonów budujących maty. Realizacja postawionych w mojej pracy hipotez badawczych przyczyniła się do poszerzenia nielicznych i niewystarczających danych dotyczących przyczyn i skutków tworzenia się mat makroglonowych w ekosystemach wodnych. Ponadto charakterystyka struktury mat makroglonowych pozwoliła określić nowe zbiorowiska makrozielenic i oddziaływania pomiędzy glonami wchodzącymi w ich skład. Dostępne informacje o strukturze i roli mat glonów są zbyt ogólne i przede wszystkim dotyczą populacji taksonów występujących w ekosystemach morskich, stąd też przeprowadzone badania w ramach pracy doktorskiej zdecydowanie wpłyną na rozwój dyscypliny naukowej.

Od kilkunastu lat w wodach na terenie Wielkopolski obserwuje się ciągły wzrost biomasy makroskopowych zielenic, które pokrywają znaczne powierzchnie lustra wody. W niewielkich zbiornikach wodnych kozuchy zielenicowe pokrywają nawet 90% powierzchni lustra wody. Obecność masowo rozwijających się glonów nitkowatych w ekosystemach wodnych, z ekologicznego punktu widzenia jest negatywnym skutkiem wzrostu trofii zbiorników wodnych a największy przyrost biomasy nitkowatych zielenic obserwowany jest latem, w szczycie okresu wegetacyjnego. Prowadzona inwentaryzacja zielenic z rodzaju *Cladophora* na terenie Wielkopolski wykazała jej obecność na kilkudziesięciu stanowiskach. W roku 2012 zaobserwowano obecność wielogatunkowej maty (*Cladophora glomerata* (L.) Kützing, *Rhizoclonium* sp., *Stigeoclonium* sp., *Microspora* sp.) w rzece Mogilnica, jednogatunkowej (*Cladophora glomerata* (L.) Kützing różniącej się morfometrycznie) w rzekach Nielba i Samica Stęszewska oraz wielkopowierzchniową matę (90% całkowitej powierzchni lustra wody) zdominowaną przez przedstawicieli z rodzaju *Oedogonium* w stawie śródpolnym w miejscowości Konojad. Od początku kwietnia 2013 roku rozpoczęto monitoring i pobór prób zielenic nitkowatych tworzących maty w badanych ekosystemach wodnych, podczas których zaobserwowano zmienność składu gatunkowego glonów nitkowatych w macie.

Maty są modelowym układem do badań relacji konkurencyjnych. Dotychczas wskazuje się, że struktura gatunkowa, przestrzenna (luźna, zwarta) oraz wewnętrzna organizacja (zagęszczenie, grubość, wielkość zajmowanej powierzchni) mat zielenicowych jest efektem oddziaływań środowiskowych, szczególnie czynników

hydrodynamicznych i termicznych. Współwystępowanie kilku taksonów w tym samym miejscu może powodować wystąpienie interakcji, jaką jest konkurencja o przestrzeń i biogeny. Skutkiem konkurencji może być wzajemne zastępowanie lub wykluczanie się gatunków, wspomagane przez wydzielanie substancji chemicznych. Opisano dotąd kilka strategii typu „obronnego” w zakresie konkurencji realizowanych przez glony nitkowate w okresie ich licznego występowania w jeziorach płytkich (Irfanullah i Moss 2005).

Niemniej jednak skutki zakwitów wody powodowane przez makroglony są nie tylko negatywne. Nadmierna wyprodukowana ilość biomasy makroskopowych zielenic może mieć zastosowanie do celów ekonomicznych, rozwoju nowych, proekologicznych rozwiązań. Próbując rozwiązać problem z nadmierną ilością biomasy zielenic makroskopowych ich plechy można wykorzystać w celach gospodarczych. Najczęściej stosowaną metodą ich usuwania jest zbieranie zielenic, odkładanie ich na brzegu i poddawanie rozkładowi. Makroglony wykazują zdolność kumulacji pierwiastków śladowych, stąd też wykorzystanie biomasy glonów może mieć ogromne znaczenie gospodarcze. Mogą być wykorzystane do: (i) biologicznego oczyszczania wód ze związków biogenych (azotu i fosforu), (ii) jako skuteczny środek w walce z zakwitami sinic (naturalny algicyd), (iii) jako tani absorbent w oczyszczalniach ścieków np. biosorpcja metali ciężkich (Schroeder i in. 2013, 2015). W dobie propagowania idei ekologicznych i coraz większej tendencji konsumentów do sięgania po zdrową żywność obserwuje się ciągły rozwój rolnictwa ekologicznego. Jedną z głównych zasad rolnictwa ekologicznego jest wyeliminowanie syntetycznych środków ochrony roślin, czy też nawozów. Okazuje się, że słodkowodne makroglony mogą być z powodzeniem wykorzystywane jako naturalne pasze dla zwierząt, nawozy, biostymulatory i środki ochrony roślin (Chojnacka i in. 2012). Co więcej, dzięki obecności licznych aminokwasów, kwasów tłuszczowych, mogą być składnikiem nawozów i wzbogacać glebę w niezbędne pierwiastki (Messyasz i in. 2018).

Ideą przeprowadzonych badań w ramach pracy doktorskiej było poznanie różnorodności taksonomicznej, wzorców wzrostu (optima rozwoju względem parametrów siedliska) i nisz ekologicznych gatunków słodkowodnych zielenic nitkowatych oraz ich reakcji biochemicznych w zróżnicowanych warunkach środowiskowych, w których masowo tworzą się maty. Badania zostały uzupełnione o rzadko podejmowane zagadnienie dotyczące zmian w budowie morfologicznej i w składzie chemicznym plech, zachodzących pod wpływem konkurencji

międzygatunkowej. Ważnym elementem aplikacyjnym badań jest określenie możliwości ograniczenia masowych zakwitów zielenic nitkowatych w warunkach silnej eutrofizacji poprzez poznanie ich biologii i funkcjonowania oraz możliwości wykorzystywania biomasy zielenic do celów gospodarczych.

## **5. CEL PRACY ORAZ HIPOTEZY BADAWCZE**

Nieliczne informacje na temat funkcjonowania biocenoz tworzonych przez zielenice nitkowate stały się impulsem do podjęcia w ramach rozprawy doktorskiej wnikliwej ich analizy. Uzyskane dane stwierdzające występowanie płatów (mat) zielenic nitkowatych w ekosystemach wodnych były podstawą do oceny faktycznej ich roli w ekosystemach wodnych. Poniższa praca ma na celu stwierdzenie zjawiska zmienności morfometrycznej i siedliskowej glonów nitkowatych w ekosystemach wodnych Wielkopolski, jak również określenie warunków środowiskowych, w jakich badane gatunki osiągają optimum rozwojowe. Istotą badań było także określenie przyczyn i skutków wzajemnego pojawiania i zanikania słodkowodnych makroglonów. Kluczowym zadaniem było także wykazanie zmian zachodzących w obrębie produkcji aminokwasów obecnych w plechach makroglonów, na skutek ich ekspozycji na działanie stresu spowodowanego konkurencją.

Osiągnięcie postawionych celów - przeprowadzenie szczegółowych badań dotyczących taksonomii, ekologii i przemian biochemicznych - pozwoliło uzupełnić i wzbogacić wiedzę dotyczącą znaczenia zielenic nitkowatych w eutroficznych ekosystemach wodnych. Postawiono następujące hipotezy badawcze:

**Hipoteza I.** Obecność różnogatunkowych mat prowadzi do zmian w obrębie abiotycznych elementów siedliska badanych ekosystemów wodnych (Publikacje I, II, III, IV).

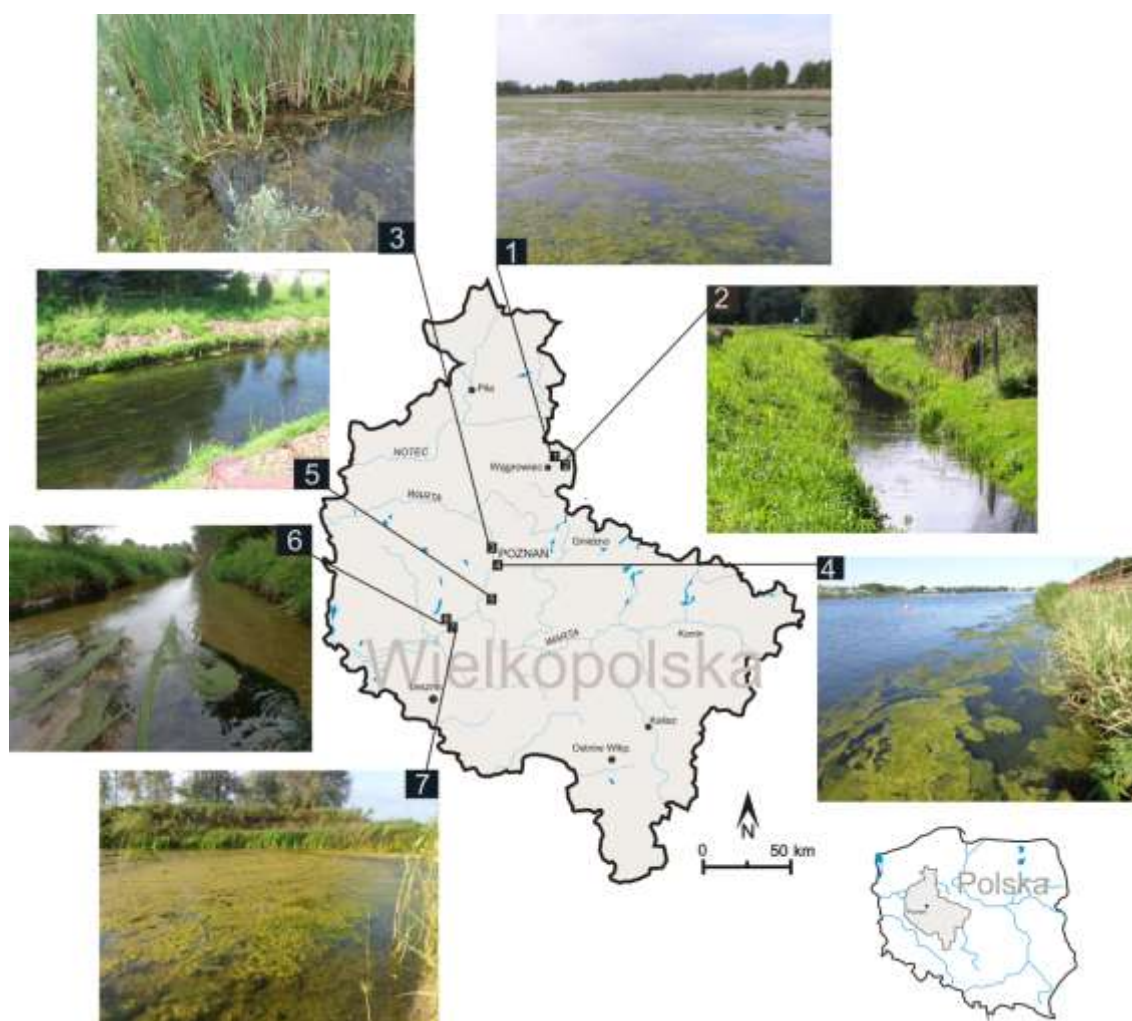
**Hipoteza II.** Czynniki siedliskowe powodują zmiany w budowie morfometrycznej plech, sezonowość występowania oraz produkcję dużej ilości biomasy glonów nitkowatych (Publikacje II, III, IV).

**Hipoteza III.** Makroskopowe zielenice występują masowo w ekosystemach śródlądowych a na skutek konkurencji międzygatunkowej obserwujemy ekspansję tych gatunków, które są lepiej przystosowane do nowych warunków siedliskowych oraz do odpowiedzi na działanie biotycznych i abiotycznych czynników stresowych (Publikacje III, IV, V).

**Hipoteza IV.** Na skutek interakcji między zielenicami nitkowatymi zachodzą zmiany biochemiczne w postaci zmian składu aminokwasów (Publikacja V).

## 6. TEREN BADAŃ

W ramach rozprawy doktorskiej próby makroglonów nitkowatych w latach 2012 - 2015 pobrano z 7 różnych ekosystemów wodnych, zlokalizowanych na terenie województwa wielkopolskiego (Ryc. 1). Obszar monitorowania różnorodności taksonomicznej i ekologicznej zbiorowisk glonów nitkowatych obejmował: śródpolny, naturalny staw w miejscowości Konojad (Publikacje I, II, III, IV), sztuczny zbiornik retencyjny w mieście Poznań - Kampus UAM (Publikacje II, III, IV, V), naturalne, płytkie jezioro w miejscowości Oporzyn (Publikacje III, IV, V), sztuczny zbiornik w mieście Poznań – Zbiornik Maltański (Publikacje III, IV, V) oraz 3 rzeki Nielba, Samica Stęszewska i Mogilnica (Publikacje III, IV).



Ryc. 1. Stanowiska badawcze zielenic nitkowatych na terenie Wielkopolski, Polska: 1 – Jezioro Oporzyńskie, 2 – rzeka Nielba w Wągrowcu, 3 – Zbiornik retencyjny Kampus UAM w Poznaniu, 4 – Zbiornik Maltański w Poznaniu, 5 – Samica Stęszewska w Stęszewie, 6 – rzeka Mogilnica, gmina Kamieniec, 7 – staw w miejscowości Konojad.

**(1) Jezioro Oporzyńskie (N52°55'; E17°9')**

Intensywny wzrost zielenic nitkowatych obserwowany jest w Jeziorze Oporzyńskim położonym w gminie Wągrowiec, oddalonym od Wągrowca o około 20 km. Powierzchnia jeziora wynosi około 20 ha, maksymalna głębokość to 2 m, a 1660 m to długość linii brzegowej. Przez jezioro przepływa rzeka Rudka. Jezioro znajduje się w zagłębieniu o bardzo stromych zboczach, co ułatwia spływ powierzchniowy z okolicznych pól uprawnych i sprzyja rozwojowi zielenic nitkowatych. Zlewnia jeziora ma charakter rolniczy, a udział lasów nie przekracza 5%. Obserwowany jest postępujący proces sukcesji roślinności w strefie brzegowej jeziora. Brzeg jeziora porasta zwarty pas *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud oraz *Typha latifolia* L.

**(2) Rzeka Nielba (N52°48'; E17°12')**

Rzeka Nielba znajduje się w środkowo-wschodniej części województwa wielkopolskiego, w powiecie wągrowieckim. Według klasyfikacji rzek, ze względu na długość i wielkość dorzecza, Nielba należy do niewielkich cieków wodnych, gdyż jej długość wynosi niecałe 30 km długości, a powierzchnia zlewni wynosi 158,6 km<sup>2</sup>. Na siódmym kilometrze biegu rzeki wpływa do niej największy jej lewobrzeżny dopływ Redgoszcz. Przepływa przez miejscowość Rgielsko i miasto Wągrowiec, pozostały obszar to tereny rolnicze, a uchodzi do rzeki Wełny, z którą wcześniej się krzyżuje na terenie Wągrowca. Na obszarze zlewni występują cztery jeziora: Łeknińskie, Bracholińskie, Rgierskie (przez które przepływa) oraz Stępuchowskie.

**(3) Zbiornik retencyjny, Kampus UAM (N52°27'; E16°55')**

W ramach kolejnych badań mających na celu określenie składu i zmian sezonowych glonów nitkowatych materiał badawczy zbierano ze sztucznego zbiornika retencyjnego w Poznaniu. Zbiornik retencyjny zlokalizowany jest na terenie Kampusu Morasko Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu za Wydziałem Nauk Politycznych i Dziennikarstwa. Głębokość maksymalna zbiornika wynosi 1,8 m. Skarpę zbiornika wzmocniono płytami ażurowymi, obecny jest wylot kanalizacji deszczowej oraz

budowla upustowa zbiornika wyposażona w zamknięcie szandorowe umożliwiające piętrzenie wody w zbiorniku.

#### ***(4) Zbiornik Maltański, Poznań (N52°24'; E16°58')***

Zbiornik Maltański w Poznaniu, nazywany powszechnie także Jeziorem Maltańskim lub Malta, to najmłodsze sztuczne jezioro na terenie miasta Poznania, które powstało po wojnie, w 1952 roku przez spiętrzenie wód rzeki Cybiny (Mikuła 1996). Zbiornik, jest najniżej położonym zbiornikiem na rzece Cybinie, tuż przed jej ujściem do Warty. Powyżej znajdują się cztery wstępne zbiorniki zaporowe, o małej powierzchni, stąd też nazywane są stawami: Staw Antoninek, Staw Młyński, Staw Browarny oraz Staw Olszak, a także cztery naturalne, eutroficzne jeziora przepływowe (Gołdyn i in. 1996). Zbiornik Maltański zajmuje powierzchnię 64 ha i charakteryzuje się małą głębokością średnią 3,1 m. Występujące często zakwity wody, pogarszające w dużym stopniu jej parametry, mają negatywny wpływ na intensywne wykorzystanie zbiornika w celach rekreacyjnych oraz wzmożoną aktywność w zlewni bezpośredniej. Na jakość wód w zbiorniku duży wpływ mają takie czynniki, jak: niska jakość wód dopływających rzeką Cybiną, mała głębokość niecki jeziornej oraz procesy fizyczno-chemiczne zachodzące w samym zbiorniku (Dondajewska i in. 2008). W celu poprawy jakości wód w zbiorniku przeprowadza się prace rekultywacyjne. Polegają one na chemicznej inaktywacji fosforu w toni wodnej oraz biomanipulacji, czyli ingerencji w skład gatunkowy ichtiofauny, która sprzyja rozwojowi dużych filtratorów, kontrolujących liczebność fitoplanktonu (Dondajewska i in. 2008). Miejsca występowania zielenic nitkowatych zlokalizowane były przy brzegu, w miejscach pozbawionych silnego falowania wody.

#### ***(5) Samica Stęszewska (N52°16'; E16°41')***

Samica Stęszewska swój początek ma w okolicy Ceradza Kościelnego, w gm. Duszniki. Przepływa przez Jezioro Niepruszewskie, Tomickie, Kręplewskie, Witobelskie oraz Łódzko-Dymaczewskie i uchodzi do Kanału Mosińskiego. Rzeka ma długość około 40 km i charakteryzuje się średnim przepływem przy ujściu 0,8 m<sup>3</sup>/sek. Zlewnia rzeki ma charakter typowo rolniczy. Obecność jezior oraz fakt, że rzeka przepływa przez Wielkopolski Park Narodowy, sprzyja rozwojowi turystyki. Ponadto zdecydowana większość obszaru zlewni nie ma systemu kanalizacji. Powyższe czynniki mają ogromny wpływ na jakość wód powierzchniowych.

#### ***(6) Rzeka Mogilnica (N52°9'; E16°31')***

W latach 2012-2014 przeprowadzono badania na rzece Mogilnica na odcinku leżącym w gminie Kamieniec. Całkowita długość rzeki to 66,8 km, rzeka wypływa z Jeziora Pniewskiego i uchodzi do Kanału Mosińskiego w miejscowości Sepno. Rzeka bifurkuje kanałami Prut I i Prut II. Zlewnię Mogilnicy budują gliny i piaski, a w obniżeniach występują torfy. Deniwelacja terenu wynosi 10-15 m. W roku 2000 stan czystości wód rzeki Mogilnicy nie odpowiadał normom określonym dla III klasy czystości wód powierzchniowych płynących (Halicki i in. 2004).

#### **(7) Staw w miejscowości Konojad (N52°10'; E16°31')**

Próby makroskopowych zielenic nitkowatych pobrano z płytkiego (maksymalna głębokość 70 cm), śródpolnego stawu o niewielkiej powierzchni, zlokalizowanego w miejscowości Konojad, w gminie Kamieniec. Utworzona zielenicowa mata w stawie stanowiła do 90% powierzchni lustra wody.

Obszar badań wybrano ze względu na notowany od kilkunastu lat przyspieszony proces eutrofizacji wód śródlądowych w Polsce, a w szczególności w Wielkopolsce, sprzyjający gwałtownemu wzrostowi biomasy makroglonów w wodach tego regionu (Messyasz i Rybak 2011, Messyasz i in. 2015), w szczególności w okresie letnim, w szczycie sezonu wegetacyjnego. Na podstawie badań przeprowadzonych na wymienionych wyżej obiektach poddano weryfikacji postawione hipotezy badawcze w zakresie różnorodności taksonomicznej, zmienności morfologicznej i siedliskowej zielenic nitkowatych.

## **7. METODY BADAŃ**

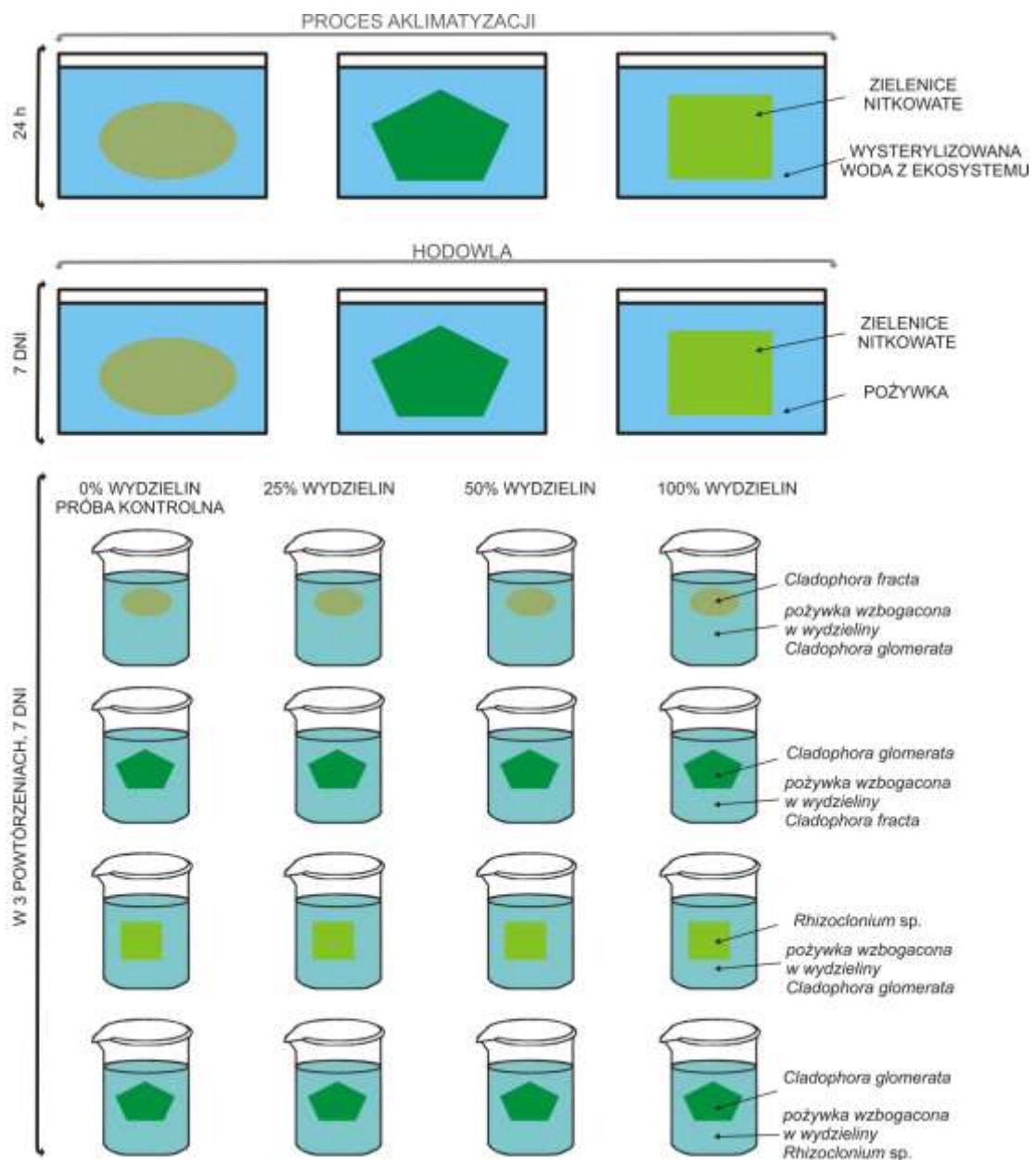
Przeprowadzone badania w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej (Publikacje I-V) dzielą się na badania terenowe i laboratoryjne. Do zadań wykonanych na stanowiskach badawczych należało: sporządzenie formularza terenowego, scharakteryzowanie maty, pobór prób zielenic nitkowatych, pobór prób wody, przeprowadzenie podstawowych analiz fizycznych i chemicznych wody oraz wykonanie dokumentacji fotograficznej stanowiska badawczego. Przy użyciu terenowego miernika YSI 560 Professional Plus każdorazowo określano temperaturę wody ( $^{\circ}\text{C}$ ), pH, zawartość tlenu rozpuszczonego (DO,  $\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ ), przewodnictwo elektrolityczne (EC,  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) oraz całkowitą ilość soli rozpuszczonych (TDS,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Próbkę wody do dalszych analiz chemicznych pobierano w sterylne butelki wykonane z tworzywa sztucznego o pojemności 500 ml i utrwalano je chloroformem ( $\text{CHCl}_3$ ). Próbkę wody (1,5 L) do oznaczenia zawartości chlorofilu *a* pobierano do

szklanych, ciemnych butelek i zabezpieczano je przed wpływem światła. Transport prób do laboratorium Zakładu Hydrobiologii na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza odbywał się w warunkach chłodniczych (+4°C). W ramach prac terenowych na Jeziorze Oporzyńskim związanych z określeniem wpływu wielkopowierzchniowej maty na warunki siedliskowe (Publikacja V) badano intensywność światła fotosyntetycznie czynnego (PAR) stosując miernik LI-1500, rejestrator danych połączony z czujnikiem kwantowym LI-193 SA i LI-192 SA (LI-COR, Lincoln, USA).

Badania laboratoryjne miały na celu analizę chemiczną wody, wykonanie pomiarów morfometrycznych plech, przeprowadzenie eksperymentu badawczego. Próby wody przechowywano w temperaturze -10°C, aż do momentu przeprowadzenia analizy. Za pomocą spektrofotometru HACH DR 2800 zgodnie z metodyką mierzono barwę i mętność wody (FAU), zawartość ortofosforanów ( $\text{mg P-PO}_4^{3-}\cdot\text{L}^{-1}$ ), azotanów ( $\text{mg NO}_3\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}$ ), azotu amonowego ( $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$ ), siarczanów ( $\text{mg SO}_4^{2-}\cdot\text{L}^{-1}$ ) oraz chlorków ( $\text{mg Cl}^-$ ). Analizę koncentracji chlorofilu *a* ( $\text{Chl } a \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) w wodzie rozpoczynano bezpośrednio po dostarczeniu prób do laboratorium, przy użyciu metody spektrofotometrycznej według normy ISO 10260 (Publikacja III). Przy użyciu metod chromatografii jonowymiennej dokonano analizy jakościowej i ilościowej aminokwasów w komórkach zielenic nitkowatych za pomocą AAA400 analizatora aminokwasów firmy INGOS (Publikacja V). Zawartość związków fenolowych w ekstraktach zielenic nitkowatych określono za pomocą spektrofotometrycznej metody Folin-Ciocalteu (Singleton i in. 1999, publikacja V). Zawartość chlorofilu *a*, *b* i karotenoidów w zielenicach nitkowatych oceniono na podstawie wykonanych pomiarów na spektrofotometrze (Lichtenthaler i Welburn 1983; Dere i in. 1998, Yoshi i in. 2004; publikacje IV, V).

W celu określenia interakcji pomiędzy makrozielenicami *Cladophora glomerata* (L.) Kützing, *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing oraz *Rhizoclonium* sp. przeprowadzono eksperyment (Ryc. 2, Publikacja V). Próby makrozielenic zostały oczyszczone z materii organicznej oraz poddane 24-godzinnemu procesowi aklimatyzacji przed rozpoczęciem hodowli. Hodowla prowadzona była w kontrolowanych warunkach (natężenie światła, temperatura) w fitotronie CONVIRON, model CMP 6050. W pierwszej części trwającej 7 dni przeprowadzono hodowlę *Cladophora glomerata* (L.) Kützing, *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing oraz *Rhizoclonium* sp. w pożywce Wanga. W drugiej części eksperymentu (trwającej

kolejne 7 dni) do badań wykorzystano pożywkę, w której rozwijały się poszczególne taksony i w trakcie rozwoju wzbogaciły ją o metabolity wtórne (wydzieliny). Przeprowadzono 4 warianty eksperymentu: (i) hodowlę *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing w pożywkę wzbogaconej w wydzieliny *Cladophora glomerata* (L.) Kützing; (ii) hodowlę *Cladophora glomerata* (L.) Kützing w pożywkę z wydzielinami *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing; (iii) hodowlę nici *Rhizoclonium* sp. w pożywkę z wydzielinami *Cladophora glomerata* (L.) Kützing oraz (iv) hodowlę *Cladophora glomerata* (L.) Kützing w pożywkę z wydzielinami *Rhizoclonium* sp. Próbami kontrolnymi były hodowle plech w pożywkę Wang (100% pożywki w zlewce). Do badań użyto roztworów, w których dodano 25, 50 i 100 % roztworu wydzielin.



Ryc. 2. Schemat procesu hodowli zielenic nitkowatych (Publikacja V).

Ważnym elementem prowadzonych prac były obserwacje mikroskopowe plech i komórek, do których stosowano przed wszystkim mikroskop świetlny (LM), powierzchnię plech pokrytą licznymi okrzemkami monitorowano za pomocą mikroskopu skaningowego (SEM) oraz przekrój komórek badano przy użyciu mikroskopu transmisyjnego (TEM, TESLA BS 500). Badania plech i komórek wykonano przy użyciu mikroskopu świetlnego firmy Carl Zeiss, model Axioskop 2 MOT z wbudowaną kamerą (ProgRes SpeedXT core 3, Jenoptic). Pomiar morfometryczny komórek i plech wykonano za pomocą programu ProCap stosując obiektyw 20x, 40x i 100x z imersją. Na podstawie uzyskanych danych dotyczących długości i szerokości komórek wegetatywnych i generatywnych, kształtu komórek i chloroplastów, liczby i średnicy pirenoidów oraz jąder oznaczano poszczególne taksony. W celu obserwacji pirenoidów i jąder użyto technik barwienia, pirenoidy barwiono za pomocą płynu Lugola (roztwór jodu w jodku potasu), a jądra 1% acetokarminem.

Uzyskane wyniki badań zostały poddane analizie statystycznej za pomocą programu Statistica 12 oraz pakietu R. W celu wykazania zależności między parametrami abiotycznymi środowiska a rozmieszczeniem gatunków zastosowano wieloczynnikową analizę (CCA – kanoniczną analizę korespondencji) wykonaną w oparciu o program CANOCO 4.5. Wzorce wzrostu zielenic nitkowatych w ekosystemach słodkowodnych zostały przedstawione na modelach GAM (Ogólny Model Addytywny) z zastosowaniem rozkładu Poissona.

Wykaz skrótów Aminokwasów stosowanych w pracy:

Ala - Alanina  
Arg - Arginina  
Asp - Kwas Asparaginowy  
Cys - Cysteina  
Glu - Kwas Glutaminowy  
Gly - Glicyna  
His - Histydyna  
Ile - Izoleucyna  
Leu - Leucyna  
Lys - Lizyna  
Met - Metionina  
Phe - Fenyloalanina  
Pro - Prolina

Ser - Seryna  
Thr - Treonina  
Trp - Tryptofan  
Tyr - Tyrozyna  
Val - Walina

## 8. WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Uzyskane wyniki zawarte są w pięciu publikacjach naukowych (I – V), które wchodzi w cykl rozprawy doktorskiej pod tytułem „Interakcje między zielenicami nitkowatymi: zróżnicowanie taksonomiczne oraz efekty ekologiczne i biochemiczne”.

(I) Pikosz M., Messyasz B. 2015. New data on distribution, morphology and ecology of *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn (Oedogoniales, Chlorophyta) in Poland. Biodiversity Research and Conservation

Jest to praca opisująca taksonomię, ekologię *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn i towarzyszące temu taksonowi plechy *Cladophora rivularis* (L.) Kuntze. Współwystępowanie *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn i plech *Cladophora rivularis* (L.) Kuntze potwierdza fakt, iż *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn nie tworzy jednogatunkowych mat. Khanum (1982) obserwował występowanie wraz z *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn przedstawicieli z rodzaju *Spirogyra* oraz *Rhizoclonium*. Na podstawie dostępnych danych literaturowych stwierdzono, że **staw w miejscowości Konojad jest ósmym stanowiskiem *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn w Polsce.** Po raz pierwszy obserwowano *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn w rowie w miejscowości Strzelin k./Wrocławia, (Hilse 1860), później między innymi w Domaszczynie, w zbiorniku w Koniecwałdzie oraz w rzece Przemsza (Sieminiak 1979). Przeprowadzone obecnie badania są cenne ze względu na fakt, iż *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn to gatunek obecny na czerwonej liście glonów w Polsce o statusie narażony na wyginięcie (Siemińska i in. 2006). Badania prowadzono w okresie letnim lipiec-sierpień w 2014 roku, gdy zielenice nitkowane rozwijały się w płytkim, eutroficznym stawie (maksymalna głębokość 1 m) i zajmowały około 70% powierzchni lustra wody. Nierozgałęzione plechy *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn dominowały w macie, która występowała w wodzie o temperaturze około 20°C. Przewodnictwo elektrolityczne wody wynosiło ponad 900  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , pH 7,3-9,6 oraz obserwowano duże wahania zawartości azotanów (0,10-0,40  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), jonów amonowych (0,05-0,17  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), fosforanów (0,07-0,11  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), jak i podwyższoną zawartość siarczanów (średnio 101  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) i chlorków (średnio 101  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Według wyników Sieminiak (1979) *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn występowało w wodzie o niskiej temperaturze 6°C. **Badania przeprowadzone w stawie w miejscowości Konojad potwierdzają szeroki zakres tolerancji badanego**

**gatunku na zmiany temperatury.** Analiza morfologiczna *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn obejmowała zarówno młode plechy, które posiadały komórkę bazalną i szczytową, jak i komórki wegetatywne i generatywne dojrzałych form. **W rezultacie uzyskane wyniki umożliwiły dokładne oznaczenie gatunku tej zielenicy.**

(II) **Pikosz M., Messyasz B.** 2015. Composition and seasonal changes in filamentous algae in floating mats. *Oceanological and Hydrobiological Studies*.

W tej publikacji porównano wyniki badań składu taksonomicznego i zmian sezonowych glonów nitkowatych tworzących maty w dwóch płytkich stawach: naturalnym - śródpolnym (w miejscowości Konojad) i sztucznym - miejskim (w Poznaniu). Różnice pomiędzy ekosystemami wodnymi były widoczne w zakresie parametrów fizyczno-chemicznych wody oraz składu taksonomicznego glonów. Małe zbiorniki wodne często mogą stanowić ostoje bioróżnorodności, ponieważ charakteryzują się jednocześnie najwyższym bogactwem gatunkowym oraz najwyższym udziałem gatunków rzadkich wśród różnych typów siedlisk słodkowodnych (Scheffer i in. 2006, Ożgo 2010). W obu stawach występowały zbiorowiska metafitonu (maty zielenicowo - sinicowe), które były obecne od wiosny, aż do jesieni. W składzie metafitonu pobranego ze stawu zlokalizowanego w miejscowości Konojad dominowali przedstawiciele Cladophorales i Oedogoniales, natomiast w stawie w Poznaniu Cladophorales i Zygnematales. W sumie oznaczono 12 taksonów w obu stawach (11 w śródpolnym, 9 w sztucznym), z czego 5 taksonów występowało jednocześnie na obu stanowiskach (*Ulothrix variabilis* Kützing, *Tribonema aequale* Pascher, *Oedogonium* spp., *Spirogyra* spp. i *Mougeotia* sp.). Staw śródpolny w miejscowości Konojad cechował się wyższą bioróżnorodnością glonów nitkowatych aniżeli sztuczny staw w Poznaniu. W obu badanych ekosystemach zaobserwowano zmienność sezonową składu taksonomicznego metafitonu. Wczesną wiosną (kwiecień, maj) w obu stawach (wyraźniej w stawie w miejscowości Konojad), gdy notowano niższą temperaturę wody, dominowały taksony z rodzaju *Tribonema*, *Ulothrix* i towarzyszyli im przedstawiciele Zygnematales (Tab. 5). W następnej fazie od maja do sierpnia zostały one zastąpione przez taksony z rodzaju *Cladophora* i *Oedogonium*. W stawie w miejscowości Konojad dominowała *Cladophora rivularis* (L.) Kuntze, a w stawie w Poznaniu *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing. To właśnie gatunki z rodzaju *Cladophora* dominowały w zbiorowiskach w badanych ekosystemach, tak jak najczęściej występujący gatunek *Cladophora glomerata* (L.)

Kützing dominuje nad innymi gatunkami glonów nitkowatych. Pojawianie, zanikanie i dominacja poszczególnych taksonów związana jest ze strategią życiową i dotyczy reakcji glonów na zmiany czynników siedliskowych, na przykład temperatury wody. W śródpolnym stawie w miejscowości Konojad pH wody wynosiło nawet 10,16 natomiast w zbiorniku w Poznaniu maksymalnie wartość pH wyniosła 8,75. Według Fairchild i współautorów (1989) *Cladophora* występuje w wodach z odczynem obojętnym, natomiast przedstawiciele *Oedogonium* i *Spirogyra* preferują wody zasadowe. Przewodnictwo elektrolityczne wody w stawie śródpolnym (Konojad) było nawet trzy razy wyższe niż w stawie w Poznaniu. **W tym artykule zwróciłam uwagę na olbrzymią rolę (nieproporcjonalną do ich wielkości), jaką odgrywają drobne zbiorniki wodne w kształtowaniu bioróżnorodności glonów nitkowatych.**

(III) Pikosz M., Messyasz B. 2016. Characteristic of *Cladophora* and coexisting filamentous algae in relation to environmental factors in freshwater ecosystems in Poland. Oceanological and Hydrobiological Studies

Trzecia publikacja opisuje najczęściej występujące zielenice nitkowane w odpowiedzi na panujące czynniki abiotyczne w ekosystemach słodkowodnych w Polsce. Wyniki opracowano na podstawie dostępnych danych literaturowych oraz własnych badań. Do grupy pospolicie notowanych glonów nitkowatych należały gatunki z rodzaju: *Cladophora* (stanowiły 30% spośród wszystkich badanych stanowisk), *Spirogyra* (16%), *Oedogonium* (11%), *Ulothrix* (8%), *Vaucheria* (7%), *Mougeotia* (7%), pozostałe 20% stanowiły taksony z rodzaju *Rhizoclonium*, *Microspora*, *Bulbochaete*, *Draparnaldia*, *Stigeoclonium*, *Hydrodictyon*, *Zygnema*, *Sirogonium* i *Tribonema*. Najliczniej zasiedlały one rzeki (38%), strumienie (12%) oraz stawy (20%) i jeziora (13%). W wodach płynących najczęściej występowały gatunki z rodzaju *Cladophora* i *Ulothrix*, a w stawach *Cladophora* i *Spirogyra*. W nawiązaniu do powyższych danych w artykule szczegółowo opisano zbiorowiska makroglonów w których dominowały gatunki: *Cladophora glomerata* (L.) Kützing, *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing oraz *Cladophora rivularis* (L.) Kuntze. Zależność między czynnikami siedliskowymi i rozmieszczeniem zielenic nitkowatych wskazywała, że głębokość wody, zawartość chlorków, ortofosforanów, azotanów, całkowita ilość soli rozpuszczonych oraz zawartość chlorofilu *a* w wodzie były kluczowymi parametrami decydującymi o składzie zbiorowisk glonów nitkowatych. Tak, jak w wynikach opisanych we wcześniejszym artykule (II), udowodniono,

iż gatunki z rodzaju *Cladophora* mają szeroki zakres tolerancji na zmiany temperatury. Obecność *Cladophora glomerata* (L.) Kützing (powszechnie występujący gatunek makroskopowych zielenic) była silnie skorelowana z wysoką żyznością wód czyli zawartością chlorofilu *a*, azotanów i fosforanów. *Cladophora glomerata* (L.) Kützing była gatunkiem dominującym w zbiorowiskach makroglonów w rzekach: Samica Stęszewska, Mogilnica, Nielba oraz w Jeziorze Oporzyńskim. Występowała w formie przytwierdzonej do podłoża, jak i unoszącej się na powierzchni lustra wody. Towarzyszyły jej taksony z rodzaju *Rhizoclonium*, *Vaucheria*, *Stigeoclonium* i *Oeodogonium*. Z kolei maty, w których dominowała *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing rozwijały się w strefie przybrzeżnej Zbiornika Maltańskiego oraz w sztucznym stawie w Poznaniu i w dotyku były miękkie i śliskie. Gatunki towarzyszące należały głównie do rodziny Zygnemataceae (*Spirogyra*, *Zygnema* i *Mougeotia*). Obecność *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing zależała od takich czynników jak zawartość całkowitej ilości soli rozpuszczonych oraz przewodnictwa elektrolitycznego wody. Natomiast w stawie w miejscowości Konojad *Cladophora rivularis* (L.) Kuntze wraz z *Oeodogonium capillare* Kützing ex Hirn, *Microspora* sp., *Spirogyra* sp. i *Mougeotia* sp. występowały w wodzie o dużej zawartości chlorków i siarczanów. W artykule scharakteryzowano różnice występujące w budowie morfologicznej plech i komórek pomiędzy 3 gatunkami z rodzaju *Cladophora*, dominującymi w matach, w których występowały. Plechy *Cladophora glomerata* (L.) Kützing pobrane ze zbiorników stagnujących posiadały liczne rozgałęzienia i osiągały około 20 cm długości, natomiast te pobrane z wód płynących miały nieliczne rozgałęzienia a plechy osiągały nawet 1 m długości. Obserwowano plastyczność morfologiczną, na którą wskazywali dużo wcześniej Van den Hoek (1963), Chudyba (1965) i Starmach (1972). **Otrzymane wyniki mają istotne znaczenie, ponieważ wnoszą nowe oraz uzupełniające informacje odnośnie wymagań siedliskowych dla poszczególnych gatunków zielenic nitkowatych.**

(IV) Pikosz M., Messyasz B., Gąbka M. 2017. Functional structure of algal mat (*Cladophora glomerata*) in a freshwater western Poland. Ecological Indicators

Na podstawie zgromadzonej wiedzy w kolejnym etapie badań szczegółowo opisano nisze ekologiczne glonów nitkowatych oraz funkcjonowanie struktury mat. Odpowiedź glonów nitkowatych (*Cladophora glomerata* (L.) Kützing, *Cladophora rivularis* (L.) Kuntze, *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing, *Oeodogonium*

*capillare* Kützing ex Hirn, *Rhizoclonium* sp., *Zygnema* sp., *Mougeotia* sp., *Spirogyra* spp., *Sirogonium* sp., *Stigeoclonium nanum* (Dillwyn) Kützing, *Ulothrix variabilis* Kützing, *Tribonema aequale* Pascher i *Tribonema vulgare* Pascher) na podstawowe czynniki abiotyczne (temperatura, przewodnictwo elektrolityczne wody, całkowita ilość substancji rozpuszczonej oraz zawartość chlorków, ortofosforanów, azotanów i jonów amonowych) została określona za pomocą modeli GAM. Krzywe odpowiedzi dla najbardziej powszechnych taksonów wykazały zróżnicowanie ich nisz ekologicznych. Znaczące różnice stwierdzono nawet dla gatunków należących do jednego rodzaju *Cladophora*, takie jak *Cladophora glomerata* (L.) Kützing, *Cladophora rivularis* (L.) Kuntze i *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing, które rozwijały się w odmiennych warunkach siedliskowych. Istotne były modele jednomodalne z określonym optimum lub monotoniczne rosnące i malejące. Na podstawie modeli powstała krzywa jednomodalna dla gatunków z rodzaju *Tribonema* i *Ulothrix* z optimum występowania w wodzie o temperaturze około 12°C, a dla *Oedogonium* w wodzie o temperaturze około 20°C. Z kolei gatunki z rodzaju *Cladophora* cechowały się wysoką tolerancją na zmiany temperatury i dla *Cladophora glomerata* (L.) Kützing krzywa miała funkcję monotoniczną malejącą a dla pozostałych gatunków z tego rodzaju krzywa była rosnącą. Ta analiza potwierdziła wcześniejsze wyniki, w których omówiono sezonowość występowania glonów nitkowatych. Istotne modele odpowiedzi na zawartość jonów Cl<sup>-</sup> w postaci krzywych monotonicznych dopasowano do 5 spośród 13 analizowanych taksonów, a kolejne 5 miało rozkład jednomodalny. Źródłem chlorków w badanych ekosystemach wodnych był spływ powierzchniowy z pól. Przedstawiciele rodziny Zygnemataceae obecni byli w wodzie o niższej zawartości chlorków (krzywa monotoniczna malejąca), związków biogennych, całkowitej ilości soli rozpuszczonych i w wodzie o niższym przewodnictwie elektrolitycznym (krzywa jednomodalna z optimum rozwojowym przy niskich wartościach). Natomiast *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn i *Cladophora rivularis* (L.) Kuntze preferowały wody o wysokiej koncentracji chlorków (krzywa monotoniczna rosnąca). Dla *Cladophora glomerata* (L.) Kützing określone zostały wartości przewodnictwa elektrolitycznego (300-500  $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) i całkowitej ilości substancji rozpuszczonych (200-400  $\text{mg L}^{-1}$ ), w których wyznaczono jej optimum rozwojowe. Mieściło się ono w nieznacznie większym zakresie wartości niż w przypadku pozostałych taksonów zielenic nitkowatych. Informacje zawarte w artykule mają duże znaczenie w badaniu wzorców wzrostu i odrębności nisz ekologicznych gatunków budujących maty glonowe

w wodach słodkich. Wykazano, że bogactwo gatunkowe nie wzrasta wraz ze wzrostem stężenia związków biogennych wzdłuż całego gradientu. Tylko kilka gatunków jest w stanie rozwijać się w środowisku o wysokiej zawartości związków biogennych. *Cladophora glomerata* (L.) Kützing charakteryzowała się rozkładem jednomodalnym (chlorki, TDS - całkowitej ilości substancji rozpuszczonych, przewodnictwo elektrolityczne wody), natomiast *Rhizoclonium* sp. i *Vaucheria* sp. miały krzywą monotoniczną wzrostową w odpowiedzi na związki azotu.

Badania wykazały, że zielenica nitkowata *Cladophora glomerata* (L.) Kützing ma niewielkie wymagania termiczne i świetlne, zwłaszcza w początkowej fazie wzrostu i stąd jej wczesny rozwój wiosną, w warunkach niższej temperatury wody (takson wczesnowiosenny, zimnolubny), aby wytworzyć zwarte maty przed rozpoczęciem sezonu wegetacyjnego. Taka strategia „wyprzedzania” czasowego pozwala jej wygrać konkurencję z innymi taksonami makroglonów oraz makrofitami zanurzonymi o pierwiastki biogenne w wodzie i powierzchnię w zajmowanym miejscu. Formy *Cladophora glomerata* (L.) Kützing unoszące się w toni wodnej uzależnione są głównie od chemizmu wody. Optymalny skład chemiczny wody dla tego gatunku, pozwalający na wzrost liczby plech w matach i tym samym wzrost powierzchni maty, obejmuje duże stężenia fosforanów i azotu amonowego (stymulacja wzrostu plech na długość). W oparciu o masowy rozwój *Cladophora glomerata* (L.) Kützing, która zajmowała ponad 95% powierzchni eutroficznego Jeziora Oporzyńskiego, przeprowadzono szczegółowe badania struktury gęstej, jednogatunkowej maty w profilu pionowym (strefa powierzchniowa, środkowa, przydenna) i w profilu poziomym (strefa brzegowa i otwartej toni wodnej). W profilu poziomym parametry biologiczne, chemiczne i fizyczne wody nie wykazywały statystycznie istotnych różnic poza temperaturą, promieniowaniem PAR i mętnością wody. Parametry biometryczne plech *Cladophora glomerata* (L.) Kützing pobranych z profilu horyzontalnego również były do siebie zbliżone. W przeciwieństwie do braku zmian w ujęciu przestrzennym, w profilu pionowym zaobserwowano istotne zmiany. Różnica temperatury wody przy powierzchni względem temperatury przy dnie wyniosła 6°C, warunki beztlenowe wystąpiły na głębokości 130 cm, ale intensywny spadek zawartości rozpuszczonego tlenu notowano już na głębokości pół metra pod powierzchnią wody. Obecność gęstej maty spowodowała statystycznie istotne zmiany badanych wskaźników fizyczno-chemicznych wody w profilu pionowym (0-2 m). Ponadto odnotowano istotne zmiany w budowie komórek *Cladophora glomerata* (L.) Kützing pobranych w profilu

panionowym. Wraz z głębokością średnica pirenoidów się zwiększyła, a komórki były mniejsze. Również zawartość chlorofilu b i karotenoidów w plechach uległa zmianie. Wraz z głębokością notowano wzrost zawartości barwników w plechach. Zwiększone magazynowanie skrobi w pirenoidach było odpowiedzią komórek na czynniki stresowe. Opracowane wyniki pozwalają lepiej zrozumieć rolę zielenic nitkowatych jako biowskaźników w monitoringu wód.

(V) **Pikosz M.**, Czerwik-Marcinkowska J., Messyasz B. 2019. The effect of *Cladophora glomerata* exudates on the amino acid composition of *Cladophora fracta* and *Rhizoclonium* sp. Open Chemistry

Pierwsze cztery publikacje odnosiły się głównie do taksonomii i ekologii zielenic nitkowatych. Natomiast ostatni aspekt rozprawy doktorskiej, aspekt biochemiczny, został ujęty w **publikacji V**. Poznanie ekologii makroskopowych glonów nitkowatych umożliwiło przeprowadzenie kolejnych badań, które miały za zadanie określenie interakcji między zielenicami nitkowatymi. Wykonano analizę ilościową i jakościową podstawowych aminokwasów białkowych w komórkach najczęściej występujących przedstawicieli zielenic nitkowatych: *Cladophora glomerata* (L.) Kützing, *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing i *Rhizoclonium* spp. We wszystkich badanych próbach oznaczono obecność 18 aminokwasów. Zawartość poszczególnych aminokwasów (wyrażona w g·100g<sup>-1</sup> białka) w komórkach *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing zmniejszała się według kolejności: Glu>Asp>Leu>Arg>Val>Ala>Gly>Lys>Thr>Ser>Pro>Phe>Ile>Tyr>His>Cys>Met>Trp. Natomiast skład aminokwasów u *Cladophora glomerata* (L.) Kützing kształtował się w następujący sposób: Glu>Asp>Leu>Arg>Val>Ala>Gly>Lys>Thr>Pro>Ser>Phe>Ile>Tyr>His>Cys>Met>Trp. Poziom aminokwasów od największego do najmniejszego u *Rhizoclonium* sp. to: Glu>Asp>Leu>Arg>Val>Ala>Gly>Lys>Ser>Thr>Pro>Phe>Ile>Tyr>His>Cys>Met>Trp. Układ składu aminokwasów u poszczególnych zielenic był bardzo zbliżony, inna była kolejność Thr (treonina – poprawia rozwój generatywny roślin), Ser (seryna - niezbędna do syntezy chlorofilu) i Pro (prolina – poprawia rozwój generatywny roślin i reguluje gospodarkę wodną w komórce). Ponadto wśród badanych zielenic w komórkach *Cladophora glomerata* (L.) Kützing odnotowano najwyższe zawartość barwników i związków fenolowych. Zawartość chlorofilu *a*, chlorofilu *b* i karotenoidów w biomacie *Cladophora glomerata* (L.) Kützing była prawie dwa razy większa niż u pozostałych

zielenic. Następnie na bazie przeprowadzonej hodowli zbadano wpływ wydzielin jednego gatunku na zmiany w składzie aminokwasów drugiego taksonu. Odpowiedź *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing i *Rhizoclonium* sp. była widoczna już przy najniższym stężeniu wydzielin *Cladophora glomerata* (L.) Kützing, w szczególności zmianie uległa zawartość proliny w komórkach. W odpowiedzi na obecność wydzielin *Cladophora glomerata* (L.) Kützing zawartość proliny wzrosła z 4,49 aż do 6,53 g·100 g<sup>-1</sup> u *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing i z 4,58 do 5,12 g·100 g<sup>-1</sup> u *Rhizoclonium* sp. Wzrost produkcji proliny, która jest odpowiedzialna za osmotyczną regulację uwodnienia komórek, było odpowiedzią zielenic nitkowatych na stres środowiskowy, co wcześniej sygnalizowali w swoich badaniach Kaur i Asthir (2015). Potwierdza to koncepcję sugerującą możliwość uruchomienia przez plechy zielenic (podobnie do roślin) fizjologiczno-biochemicznych mechanizmów przeciwstawiania się wpływowi czynnika stresowego (Chapin 1991, Jones 1978). Przy niedużym natężeniu stresu prolina może pełnić rolę ochraniającą, ze względu na możliwość wykorzystania jej do syntezy białek i chlorofilu. Zakładając, że prolina jest wskaźnikiem doznanego przez plechy *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kützing i *Rhizoclonium* sp. stresu na wydzieliny *Cladophora glomerata* (L.) Kützing w pożywce, to szybki jej wzrost wystąpi u taksonów bardziej wrażliwych. Zauważono, iż istotne zmiany w składzie aminokwasów w komórkach *Cladophora glomerata* (L.) Kützing, która dominuje i najliczniej występuje w ekosystemach wodnych, nastąpiły dopiero pod wpływem największych stężeń wydzielin *Cladophora fracta* (O.F.Müller ex Vahl) i *Rhizoclonium* sp., jednakże reakcja *Cladophora glomerata* (L.) Kützing była na niższym poziomie, nie porównywalnym do zmian, które zanotowano u pozostałych taksonów. **Reakcja biochemiczna *Cladophora glomerata* (L.) Kützing ukazuje strategię tego gatunku (bardziej odporny na działanie stresu), która polega na przejściu dominacji w zbiorowisku lub monopolizacji powierzchni lustra wody.** Prowadzone badania wykazały szeroki zakres reakcji biochemicznych *Cladophora glomerata* (L.) Kützing w środowisku stresowym. Konieczne jest podjęcie dalszych badań zmian biochemicznych w komórkach tych glonów, co pozwoli na ustalenie specyficznych wskaźników metabolicznych, których zmiany pozwolą na ocenę wpływu czynników stresowych w kształtowaniu tolerancji zielenic nitkowatych i tworzeniu mat makroglonów (jedno- lub wielogatunkowych).

## 9. PODSUMOWANIE

Wyniki zawarte w zbiorze pięciu publikacji (I-V) wiążą elementy ekologii makroglonów, struktury i charakterystyki mat oraz interakcji między zielenicami nitkowatymi. W pracach zastosowano różnorodne metody badawcze, aby w sposób spójny i dokładny przedstawić relacje między zielenicami nitkowatymi, a czynnikami abiotycznymi. Odpowiedź komórkowa zielenic nitkowatych na zmiany parametrów siedliskowych badana była za pomocą mikroskopii świetlnej, transmisyjnej oraz skaningowej, jak i przeprowadzono szereg szczegółowych analiz chemicznych.

Przed wszystkim należy podkreślić, że w ramach powyższej rozprawy doktorskiej przeprowadzone badania umożliwiły wyznaczenie taksonów zielenic nitkowatych związanych z warunkami wód silnie eutroficznych. Pomimo licznie prowadzonych działań mających na celu poprawę jakości wód, nadal istnieje tendencja utrzymywania się wysokiego poziomu trofii w wielu ekosystemach wodnych. Do najczęściej występujących zielenic nitkowatych, które tworzą charakterystyczne zbiorowiska w formie mat należą przedstawiciele z rodzaju *Cladophora*, *Oedogonium*, *Rhizoclonium* i *Spirogyra*.

Istotnym etapem badań było wskazanie wzorców wzrostu makroskopowych glonów, tworzących sezonowe maty w wodach słodkich. Między innymi opisano wymagania siedliskowe i optima rozwojowe, jak się okazało odmienne, dla gatunków należących do pospolicie notowanego rodzaju *Cladophora*. **Parametry siedliskowe uwidoczniły, że wzór rozmieszczenia taksonów zielenic nitkowatych określony jest dwoma różnymi gradientami: (i) głębokości (temperatura, dostęp światła, stężenie tlenu) oraz (ii) trofii (stężenie azotanów i ortofosforanów).** Określono, iż gatunki z rodzaju *Tribonema* i *Ulothrix* to organizmy wczesnowiosenne. Podczas badań zidentyfikowano i scharakteryzowano nowe miejsce występowania *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn, zielenicy nitkowatej, która na Czerwonej Liście Glonów w Polsce posiada status gatunku potencjalnie zagrożonego. Na przykładzie modelowego układu, jaki stanowi jednogatunkowa (homogeniczna), zwarta mata, która występowała w jeziorze Oporzyńskim, wykazano zmienność przestrzenną w profilu pionowym warunków siedliskowych oraz zaobserwowano istotne różnice na poziomie komórkowym. Wraz z pogorszeniem warunków świetlnych nastąpiły zmiany wewnątrzkomórkowe (np. zwiększenie średnicy pirenoidów). Ponadto weryfikacja przedstawionych w pracy hipotez przyczyniła się do poszerzenia nielicznych

i niewystarczających danych literaturowych, dotyczących przyczyn i skutków tworzenia się mat makroglonowych w ekosystemach wodnych. Bardzo istotna okazała się charakterystyka struktury mat, która pozwoliła określić nowe zbiorowiska makrozielenic i oddziaływań pomiędzy glonami wchodzącymi w ich skład.

Opisano zmiany w fizjologii i składzie podstawowych aminokwasów białkowych w plechach makroglonów, spowodowanych ekspozycją na potencjalne wydzieliny konkurencyjnych zielenic nitkowatych. W biomacie *Cladophora glomerata* (L.) Kützing wykryto 18 aminokwasów białkowych. W największej ilości oznaczono kwas glutaminowy i asparaginowy. W najmniejszej: cysteinę i metioninę. Po raz pierwszy wykazano, że na skutek interakcji między zielenicami nitkowatymi zachodzą zmiany biochemiczne w postaci zmian składu aminokwasów obecnych w plechach makroglonów z uwzględnieniem cech fenotypowych badanych taksonów. Wyniki były omawiane w kontekście dominacji ekologicznej taksonów zielenic nitkowatych i ich współwystępowania w matach glonowych. Dyskutowana była rola interakcji międzygatunkowych i konkurencji, w której pośredniczą wydzieliny z plech glonów.

Znajomość czynników kształtujących zbiorowisko zielenic nitkowatych mogą mieć duże znaczenie w zarządzaniu zbiornikami z problemem masowego pojawu mat glonowych. Szczególnie w zróżnicowanych pod względem hydromorfologicznym rzekach nizinnych ma bardzo ważne znaczenie użytkowe, np. w przypadku ujęć wodociągowych. Wiedzę dotyczącą tego zagadnienia można dodatkowo wykorzystać w ujęciu aplikacyjnym, dotyczącym: (i) możliwości ograniczenia masowych pojawów zielenic nitkowatych w warunkach silnej eutrofizacji poprzez wykorzystanie ich biologii i schematu ich funkcjonowania oraz (ii) możliwości wykorzystywania biomasy zielenic do celów gospodarczych.

## **10. LITERATURA**

Borja A., Bricker S.B., Dauer D.M., Demetriades N.T., Ferreira J.G., Forbes A.T., Hutchings P., Jia X., Kenchington R., Marques J.C., Zhu C.B. 2008. Overview of integrative tools and methods in assessing ecological integrity in estuarine and coastal systems worldwide. *Mar. Pollut. Bull.* 56: 1519-1537.

- Bricker S.B., Longstaff B., Dennison W., Jones A., Boicourt K., Wicks C., Woerner J., 2008. Effects of nutrient enrichment in the Nation's estuaries: a decade of change. *Harmful Algae*, 8: 21-32.
- Cambra J., Aboal M. 1992. Filamentous green algae of Spain: distribution and ecology. *Limnética*. 8: 213-220.
- Chapin F.S. 1991. Integrated response of plant to stress. *BioScience*. 41:29-36.
- Chojnacka K., Saeid A., Michalak I. 2012. Możliwości zastosowania biomasy alg w rolnictwie. *Chemik*. 66: 1235-1248.
- Chudyba, H. 1965. *Cladophora glomerata* and accompanying algae in the Skawa River. *Acta Hydrobiol.* 7(1): 93-126.
- Dere S., Günes T., Sivaci R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll-a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turk. J. Bot.* 22: 13-17.
- Fairchild G.W., Sherman J.W., Acker F.W. 1989. Effect of nutrient (N, P, C) enrichment, grazing and depth upon littoral periphyton of a softwater lake. *Hydrobiologia* 173: 69-83.
- Gołdyn R., Jankowska B., Kowalczak P., Pułyk M., Tybiszewska E., Wiśniewski J. 1996. *Wody powierzchniowe Poznania*, W: Środowisko naturalne miasta Poznania. Część I, Urząd Miejski w Poznaniu, Poznań, ss.45-69.
- Graham J.M., Lembi C.A., Adrian H.L, Spencer D.F. 1995. Physiological responses to temperature and irradiance in *Spirogyra* (Zygnematales, Charophyceae). *Journal of Physiology* 31: 531-540.
- Halicki W., Warężak T., Pniewska J. 2004. Program ochrony środowiska dla gminy Kamieniec na lata 2004 –2007 z uwzględnieniem perspektywy na lata 2008-2011.
- Higgins S.N., Malkin S.Y., Howell T.E., Guildford S.J., Campbell L., Hiriart-Baer V., Hecky R.E., 2008. An ecological review of *Cladophora glomerata* (Chlorophyta) in the Laurentian Great Lakes. *J. Phycol.* 44 (4), 839-854.
- Hilse W. 1860. Beitrage zur Algen – und Diatomeen-Kunde Schlesiens, insbesondere Strehlens. *Jahresber. Schles. Ges. vaterl. Cult.* 38: 75-86.
- Irfanullah H. Md., Moss B. 2005. A filamentous green algae- dominated temperature shallow lake: Variations on the theme of clear-water stable states? *Arch. Hydrobiol.* 163(1): 25-47.
- Jones H.G. 1978. How plants respond to stress. *Nature*.271:610.

- Kaur G., Asthir B. 2015. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. *Biologia Plantarum* 59(4): 609-619.
- Khanum A. 1982. An ecological study of freshwater algal mats. *Bot. Bull. Academia Sinica* 23:89-104.
- Lichtenthaler H. K., Wellburn A. R. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extract in different solvents, *Biochem.Soc. Trans.*, 11: 591-592.
- Messyasz B., Pikosz M., Treska E. 2018. Biology of freshwater macroalgae and their distribution. Chojnacka K., Wieczorek P., Schroeder G., Michalak I. (Red.) *Algae Biomass: Characteristics and Applications. Developments in Applied Phycology*, vol 8. Springer, Cham. 17-31.
- Messyasz B., Pikosz M., Schroeder G., Łęska B., Fabrowska J. 2015. Identification and Ecology of Macroalgae Species Existing in Poland. Chapter 2, In: Kim S.K., Chojnacka K. (Eds.), *Marine Algae Extracts: Processes, Products and Applications*, First Edition, (17-39). Wiley -VCH, ISBN: 978-3-527-33708-8.
- Messyasz B., Rybak A. 2011. Abiotic factors affecting the development of *Ulva* sp. (Ulvophyceae; Chlorophyta) in freshwater ecosystems. *Aquatic Ecology*, 45(1): 75-87.
- Mikuła K. 1996. Historia budowy Zbiornika Malta a problemy bieżące. [W:] Mastyński J. (red.). *Zbiornik Malta w Poznaniu. Funkcja sportowo – rekreacyjna a rybactwo*. Polskie Towarzystwo Rybackie, Poznań, ss. 9-12.
- Ożgo M. 2010. The role of small water bodies in the conservation of biodiversity. *Par. Nar. Rez. Przy.* 29(3):117-124.
- Pieczynska E. 1988. Rola makrofitów w kształtowaniu trofii jezior. *Wiadomości Ekologiczne*. 34 (4): 375-404.
- Scheffer M., Van Geest G.J., Zimmer K., Jeppesen E., Søndergaard M., Butler M.G., Hanson M.A., Declerck S., De Meester L. 2006. Small habitat size and isolation can promote species richness: second-order effects on biodiversity in shallow lakes and ponds. *Oikos*, 112: 227–231.
- Schroeder G., Messyasz B., Łęska B., Fabrowska J., Pikosz M., Rybak A. 2013. Biomasa alg słodkowodnych surowcem dla przemysłu i rolnictwa [Biomass of freshwater algae as raw material for the industry and agriculture]. *Przem. Chem.* 92 (7): 1380-1384.

- Schroeder G.M., Łęska B., Messyasz B., Pikosz M., Fabrowska J. 2015. Extraction of macroalgal biomass for cosmetics industry. *Przemysł Chemiczny* 94(3): 405-407.
- Sieminiak D. 1979. Kilka interesujących gatunków Oedogonium (Chlorophyta) z Górnego Śląska – Some interesting Species of Oedogonium (Chlorophyta) from Upper Silesia. *Fragm. Flor. et Geobot.* 25 (3): 449-457.
- Siemińska J., Bąk M., Dziedzic J., Gąbka M., Gregorowicz P., Mrozińska T., Pełechaty M., Owsiany P.M., Pliński M., Witkowski A. 2006. Red list the alga In Poland. In: Z. Mirekm K. Zarzycki, W. Wojewoda, Z. Szeląg (Eds.) Red list of plants and fungi In Poland. pp. 35-52. W. Szefer Institute of Botany, Polish Academy of Science, Kraków.
- Smith V. H., Joye S. B., Howarth R.W. 2006. Eutrophication of freshwater and marine ecosystems. *Limnol. Oceanog.* 51:351-355.
- Solon J., Borzyszkowski J., Bidłasik M., i in. 2018. Physico-geographical mesoregions of Poland: Verification and adjustment of boundaries on the basis of contemporary spatial data. *Geographia Polonica*, 91(2):143-170.
- Sarmach K. 1972. Filamentous green algae: Ulotrichales, Ulvales, Prasiolales, Sphawraleales, Cladophorales, Chaetophorales, Trentepohliaales, Siphonales, Dichotomosiphonales. *Flora słodkowodna Polski. Tom 10.* PWN, Warszawa – Kraków.
- Sundbäck, K., McGlathery, K. 2005. Interactions between benthic macroalgal and microalgal mats. In *Interactions Between Macro- and Microorganisms in Marine Sediments. Coastal and Estuarine Studies 60*, Ed. E. Kristensen, R. R. Haese, J. E. Kostka. Washington DC: American Geophysical Union, pp. 7–29 .
- Van Den Hoek C. 1963. Revision of the European species of *Cladophora*. E.J. Brill, Leiden.
- Van Den Hoek C., Mann D.G., Jahns H.M. 1995. *Algae. An introduction to phycology.* First edition (623). Cambridge, University Press.
- Yoshii, Y., Hanyuda T., Wakana I., Miyaji K., Arai S., Ueda K., Inouye I. 2004. Carotenoid compositions of *Cladophora* balls (*Aegagropila linnaei*) and some members of the Cladophorales (Ulvophyceae, Chlorophyta): Their taxonomic and evolutionary implication”, *J. Phycol.* 40: 1170-1177.

## **11. OŚWIADCZENIA WSPÓLAUTORÓW**

- mgr Marta Pikosz
- prof. UAM dr hab. Beata Messyasz
- dr hab. Joanna Czerwik – Marcinkowska, prof. UJK
- prof. UAM dr hab. Maciej Gąbka

Poznań, 07 maj 2019 r.

**mgr Marta Pikosz**

## OŚWIADCZENIE O UDZIALE W PUBLIKACJACH

### *STATEMENTS OF CONTRIBUTION*

Oświadczam, że mój udział w wymienionych poniżej pracach polegał na:

*Hereby I declare that my contribution to the below mentioned paper is as follows:*

- **Pikosz M.**, Messyasz B. 2015. New data on distribution, morphology and ecology of *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn (Oedogoniales, Chlorophyta) in Poland. *Biodiversity Research and Conservation*, 40:21-26

**udział własny/contribution:** 90%; opracowanie koncepcji pracy, zbiór i identyfikacja glonów wykorzystanych w pracy, wykonanie badań fizycznych i chemicznych wody, wykonanie analiz morfometrycznych plech i komórek, sporządzenie dokumentacji fotograficznej, opracowanie danych (w tym przygotowanie rycin i zestawień tabelarycznych), napisanie manuskryptu i naniesienie uwag recenzentów / development of the research concept, collection and identification of macroalgae used in a study, performing physical and chemical analyzes of water, performing morphometric analyzes of thalli and cells, preparation of the photographic documentation, data processing (including preparation of figures and tables), writing the manuscript and making corrections according to reviewers' comments.

- **Pikosz M.**, Messyasz B. 2015. Composition and seasonal changes in filamentous algae in floating mats. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 44(2):273-281

**udział własny/contribution:** 80%; opracowanie koncepcji pracy, zbiór i identyfikacja glonów wykorzystanych w pracy, wykonanie badań fizycznych i chemicznych wody, wykonanie analiz morfometrycznych plech i komórek, opracowanie danych (w tym przygotowanie rycin i zestawień tabelarycznych), napisanie manuskryptu i naniesienie uwag recenzentów / development of the research concept, collection and identification

of macroalgae used in a study, performing physical and chemical analyzes of water, performing morphometric analyzes of thalli and cells, data processing (including preparation of figures and tables), writing the manuscript and making corrections according to reviewers' comments.

• **Pikosz M.**, Messyasz B. 2016. Characteristic of *Cladophora* and coexisting filamentous algae in relation to environmental factors in freshwater ecosystems in Poland. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 45(2):202-215

**udział własny/contribution:** 80%; opracowanie koncepcji pracy, zbiór zielenic nitkowatych, identyfikacja glonów wykorzystanych w pracy, wykonanie badań fizycznych i chemicznych wody, wykonanie analiz morfometrycznych plech i komórek, utworzenie bazy danych, przygotowanie rycin i tabel, napisanie manuskryptu i naniesienie uwag recenzentów / development of the research concept, filamentous green algae collection, identification of macroalgae used in a study, performing physical and chemical analyzes of water, performing morphometric analyzes of thalli and cells, creation of a database, data processing (including preparation of figures and tables), writing the manuscript and making corrections according to reviewers' comments.

• **Pikosz M.**, Messyasz B., Gąbka M. 2017. Functional structure of algal mat (*Cladophora glomerata*) in a freshwater western Poland. *Ecological Indicator*, 74:1-9

**udział własny/contribution:** 70%; opracowanie koncepcji pracy, częściowy zbiór zielenic nitkowatych, identyfikacja glonów wykorzystanych w pracy, wykonanie badań fizycznych i chemicznych wody, wykonanie analiz morfometrycznych plech i komórek, utworzenie bazy danych, przygotowanie rycin i tabel, napisanie manuskryptu i naniesienie uwag recenzentów / development of the research concept, fragmentary filamentous green algae collection, identification of macroalgae used in a study, performing physical and chemical analyzes of water, performing morphometric analyzes of thalli and cells, creation of a database, data processing (including preparation of figures and tables), writing the manuscript and making corrections according to reviewers' comments.

• **Pikosz M.**, Czerwik-Marcinkowska J., Messyasz B. 2019. The effect of *Cladophora glomerata* exudates on the amino acid composition of *Cladophora fracta* and *Rhizoclonium* sp. *Open Chemistry*, 17:313-324

**udział własny/contribution:** 70%; opracowanie koncepcji pracy, zbiór zielenic nitkowatych, identyfikacja glonów wykorzystanych w pracy, zaplanowanie i przeprowadzenie hodowli, wykonanie analiz morfometrycznych plech i komórek, utworzenie bazy danych, opracowanie danych (w tym przygotowanie rycin 1,2,4 i zestawień tabelarycznych), napisanie manuskryptu i naniesienie uwag recenzentów / development of the research concept, collection and identification of the filamentous green algae, planning and conducting a culture, performing morphometric analyzes of thalli and cells, creation of the data base, data processing (including preparation of figures 1,2,4 and tables), writing the manuscript and making corrections according to reviewers' comments.

Pikosz Marta

Prof. UAM dr hab. Beata Messyasz

## OŚWIADCZENIE O UDZIALE W PUBLIKACJI

### STATEMENT OF CONTRIBUTION

Oświadczam, że byłam bezpośrednim opiekunem naukowym i promotorem mgr Marty Pikosz, a mój udział w wymienionych poniżej pracach polegał na:  
*Hereby I declare that I was a scientific supervisor and promoter of MSc Marta Pikosz and my contribution to the below mentioned papers is as follows:*

1) Pikosz M., Messyasz B. 2015. New data on distribution, morphology and ecology of *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn (Oedogoniales, Chlorophyta) in Poland. *Biodiversity Research and Conservation*, 40:21-26

udział własny/contribution: 10%; polegał na konsultacjach podczas współtworzenia koncepcji badań, współudział w interpretacji i analizie uzyskanych danych oraz w przygotowaniu manuskryptu / consisted in consultation while contributing of the research concept, participation in the interpretation and analysis of the obtained data and in the preparation of the manuscript

2) Pikosz M., Messyasz B. 2015. Composition and seasonal changes in filamentous algae in floating mats. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 44(2):273-281

udział własny/contribution: 20%; polegał na konsultacjach podczas współtworzenia koncepcji badań, współudział w interpretacji i analizie uzyskanych danych oraz w przygotowaniu manuskryptu / consisted in consultation while contributing of the research concept, participation in the interpretation and analysis of the obtained data and in the preparation of the manuscript

3) Pikosz M., Messyasz B. 2016. Characteristic of *Cladophora* and coexisting filamentous algae in relation to environmental factors in freshwater ecosystems in Poland. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 45(2):202-215

udział własny/contribution: 20%; polegał na konsultacjach podczas współtworzenia koncepcji badań, współudział w interpretacji i analizie uzyskanych danych oraz w przygotowaniu manuskryptu / consisted in consultation while contributing of the research concept, participation in the interpretation and analysis of the obtained data and in the preparation of the manuscript

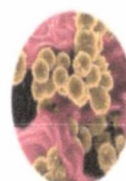
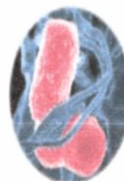
4) Pikosz M., Messyasz B., Gąbka M. 2017. Functional structure of algal mat (*Cladophora glomerata*) in a freshwater western Poland. *Ecological Indicator*, 74:1-9

udział własny/contribution: 20%; polegał na konsultacjach podczas współtworzenia koncepcji badań, współudział w zbiorze zielenic nitkowatych, w interpretacji i analizie uzyskanych danych oraz w przygotowaniu manuskryptu / consisted in consultation while contributing of the research concept, participation in the filamentous green algae collection, participation in interpretation and analysis of the obtained data and in the preparation of the manuscript

5) Pikosz M., Czerwik-Marcinkowska J., Messyasz B. 2019. The effect of *Cladophora glomerata* exudates on the amino acid composition of *Cladophora fracta* and *Rhizoclonium* sp. *Open Chemistry*, 17:313-324; DOI: <http://doi.org/10.1515/chem-2019-0032>

udział własny/contribution: 25%; polegał na konsultacjach podczas współtworzenia koncepcji badań, współudział w interpretacji i analizie uzyskanych danych, w przygotowaniu manuskryptu oraz korespondencji z edytorem i recenzentami / consisted in consultation while contributing of the research concept, participation in the interpretation and analysis of the obtained data, in the preparation of the manuscript and correspondence with the editor and reviewers

Beata Messyasz



Kielce, dn. 06.05.2019 r.

dr hab. Joanna Czerwik-Marcinkowska prof. UJK

OŚWIADCZENIE O UDZIALE W PUBLIKACJI  
*STATEMENT OF CONTRIBUTION*

Oświadczam, że mój udział w wymienionej poniżej pracy polegał na:

*Hereby I declare that my contribution to the below mentioned paper is as follows:*

Pikosz M., Czerwik-Marcinkowska J., Messyasz B. (2019) The effect of *Cladophora glomerata* exudates on the amino acid composition of *Caldophora fracta* and *Rhizoclonium* sp. *Open Chemistry*, 17: 313-324. DOI: <http://doi.org/10.1515/chem-2019-0032>

udział własny/contribution: 5 %; utrwalenie i przygotowanie materiału algologicznego do elektronowego mikroskopu transmisyjnego (TESLA BS 500); wykonanie dokumentacji fotograficznej zielenicy *Cladophora glomerata*; interpretacja fotogramów.

WICEDYREKTOR  
INSTYTUTU BIOLOGII

*Joanna Czerwik-Marcinkowska*  
dr hab. Joanna Czerwik-Marcinkowska, prof. UJK

OŚWIADCZENIE O UDZIALE W PUBLIKACJI  
*STATEMENT OF CONTRIBUTION*

Oświadczam, że mój udział w wymienionej poniżej pracy polegał na:

*Hereby I declare that my contribution to the below mentioned paper is as follows:*

Pikosz M., Messyasz B., Gabka M., (2017) Functional structure of algal mat (*Cladophora glomerata*) in a freshwater in western Poland. *Ecological Indicators*, 74: 1-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.09.041>

udział własny/contribution: 10%: przygotowanie analiz statystycznych i udział w interpretacji wyników (statistical analyses and interpretation of results).

Maciej Gąbka

**12. KOPIE CYKLU PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE, O KTÓRYM MOWA W ART. 13 UST. 2 USTAWY O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI**

**(I) Pikosz M.,** Messyasz B. 2015. New data on distribution, morphology and ecology of *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn (Oedogoniales, Chlorophyta) in Poland. *Biodiversity Research and Conservation*, 40:21-26.

**(II) Pikosz M.,** Messyasz B. 2015. Composition and seasonal changes in filamentous algae in floating mats. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 44(2):273-281.

**(III) Pikosz M.,** Messyasz B. 2016. Characteristic of *Cladophora* and coexisting filamentous algae in relation to environmental factors in freshwater ecosystems in Poland. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 45(2):202-215.

**(IV) Pikosz M.,** Messyasz B., Gąbka M. 2017. Functional structure of algal mat (*Cladophora glomerata*) in a freshwater western Poland. *Ecological Indicators*, 74:1-9.

**(V) Pikosz M.,** Czerwik-Marcinkowska J., Messyasz B. 2019. The effect of *Cladophora glomerata* exudates on the amino acid composition of *Cladophora fracta* and *Rhizoclonium* sp. *Open Chemistry*, 17:313-324.

# Publikacja I

**Pikosz M.,** Messyasz B. 2015. New data on distribution, morphology and ecology of *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn (Oedogoniales, Chlorophyta) in Poland. *Biodiversity Research and Conservation*, 40:21-26.

# New data on distribution, morphology and ecology of *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn (Oedogoniales, Chlorophyta) in Poland

Pikosz Marta\* & Messyasz Beata

Department of Hydrobiology, Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University, Umultowska 89, 61-614 Poznań, Poland

\* corresponding author (e-mail: pikosz@amu.edu.pl)

**Abstract:** Algological investigations were focused on taxonomy, chorology and ecology of threatened filamentous green alga species in Poland. Studies on *Oedogonium capillare* Kützing ex Hirn growing in large quantities in association with *Cladophora rivularis* (Linnaeus) Hoek in pond were conducted. The aim of these studies was to describe the distribution, ecology and morphology of *O. capillare* as part of a more comprehensive study of this filamentous green alga. It is the eighth record in Poland for *O. capillare*. Filaments of *O. capillare* were grown over a wide pH range (7.3-9.6) and in high variability of nutrients. Vegetative cells, oogonia and antheridia were observed, which allowed taxonomic identification. *O. capillare* occurs in eutrophic waters which requires protection of its habitat.

**Key words:** *Oedogonium capillare*, Poland, pond, filamentous green algae

## 1. Introduction

Macroscopic filamentous algae, including Chlorophyta, may form patches (mats) on the water surface (free-floating thalli) and in the benthos (thalli attached to the bottom or macrophytes) in lakes and rivers. These algae play an important role in functioning of aquatic ecosystems. *Oedogonium* species belong to Chlorophyta, include 534 species (Mahato 1999) and are classified as filamentous green algae. These species are cosmopolitan in freshwater ecosystems and prefer stagnant waters, such as small ponds, pools, roadside ditches, marshes, oxbows, lakes, reservoirs, rivers (Mrozińska-Weeb 1976; Burchardt 1977; Sieminiak 1979; Kuczyńska-Kippen 2009; Pikosz & Messyasz 2015). However, most *Oedogonium* taxa were found in small water bodies (Szymańska *et al.* 2015). *Oedogonium* species may grow throughout the year, but maximum reproductive development in the lowlands was observed in June and less in August (Mrozińska-Webb 1976). Young thalli are attached to macrophytes (mainly on the *Glyceria maxima* (Hartm.) Holmh., *Equisetum fluviatile* L. and *Phragmites australis* (Cov.) Trin. ex

Steud.) by a basal holdfast and, as mature organisms, may form mats on the surface of water. *Oedogonium* mostly form multispecies mats and might be associated with *Spirogyra*, *Rhizoclonium*, *Cladophora* (Khanum 1982; Messyasz *et al.* 2015).

The first records of *Oedogonium* species in freshwater habitats from Poland were reported in the late 19<sup>th</sup> century by Hilse (1860), Gołwin (1964), Kirchner (1878), Kozłowski (1895) and Gutwiński (1897). Mrozińska was the first Polish phycologist examining this group in details (in terms of morphology, phenology, ecology and distribution) and described more than 400 species (including varieties and forms), mainly from southern Poland (Mrozińska 1958, 1981, 1984). According to Mrozińska (1991), there are 20 groups of *Oedogonium* based on phylogenetic analysis. Szymańska *et al.* (2015) presented species of Oedogoniales from north-eastern Poland and described two species of *Oedogonium*, namely *Oedogonium fremyi* and *Oedogonium irregular*, new for the algal flora of Poland. The first and detailed information of rare *Oedogonium capillare* was produced by Mrozińska (1984) and Sieminiak (1979), who described two forms of this

species: *O. capillare* f. *stagnale* Hirn and *O. capillare* f. *capillare* Kützing ex Hirn.

The main aim of the study was to review distribution and morphology of the *O. capillare*, mainly in Poland and to provide new information about this taxon. In our research, *O. capillare* is characterized by a slightly oval oogonium (not visible typical, cylindrical shape) and grows in ponds. *O. capillare* was found only in a few places in Poland, so the information on its distribution and ecological requirements is important. Because of its rarity, this species is considered as threatened in Poland and is placed in the Red List of Algae in the category: vulnerable (VU) (Siemińska *et al.* 2006).

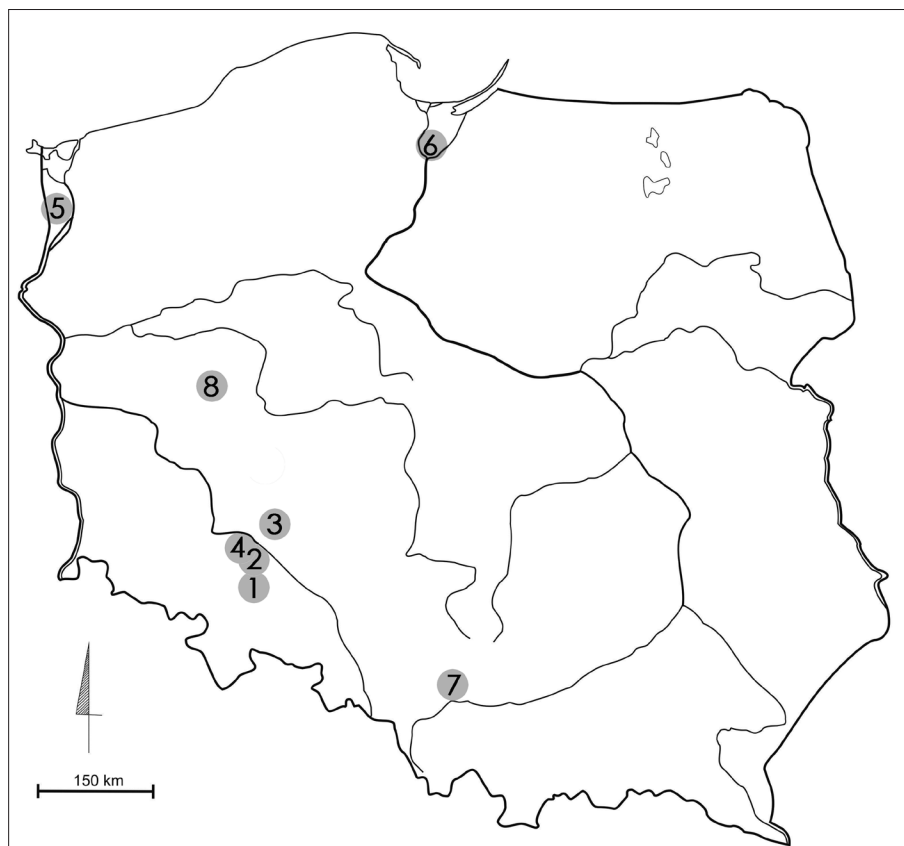
## 2. Material and methods

Studies on *O. capillare* were carried out during summer (July-August) in 2014 in a small (area 29.48 a; length 81.86 m; width 47.29 m), shallow (depth 1 m), agricultural pond in Konojad in Wielkopolska Voivodeship, Poland (N52°10'14.17", E16°31'24.51"). During the study period, water depth ranged from 50 up to 70 cm. Based on literature data and our own research, sites of the *O. capillare* occurrence in Poland were marked on the map (Fig. 1).

Terminology of recorded macrophytes follows Mirek *et al.* (2002).

Filaments appeared concentrated, tightly covering a significant surface of water, which reached up to 70% of the pond. The filaments of free-floating green algae (like mats) were taken from the surface by hand, placed in a plastic container and transported to the laboratory. Next, the filaments were rinsed repeatedly with distilled water in order to remove any biotic and abiotic particles attached to them. The specimens were examined with the LM and the ProCap program. The length, width and shape of cells, and number of pyrenoids were measured. Distinctive features were compared with morphometric data for *O. capillare* recorded in Poland and Europe, included in the Mrozińska key (1984), Sieminiak (1979), Tiffany (1937), Novis (2003) and Venkataraman & Natarajan (1959).

Physico-chemical parameters of water: temperature (°C), electrolytic conductivity ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ), oxygen saturation ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), TDS ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and pH at the examined sites were measured by YSI Professional Plus handheld multiparameter gauge. Water samples were also taken for detailed laboratory analyses to measure the content of nitrogen, phosphorus and sulphates with HACH DR 2800 spectrophotometer (Hach Lange 2006).



**Fig. 1.** The location of *Oedogonium capillare* in Poland

Explanations: 1 – Strzelin, 2 – Ołtaszyn, 3 – Domaszczyn, 4 – Sołtysowice, 5 – Szczecin, 6 – Koniecwałd, 7 – Przeczyce, 8 – Konojad

**Table 1.** Physical and chemical parameters of water for *Oedogonium capillare* in midfield pond in 2014 (n=5)

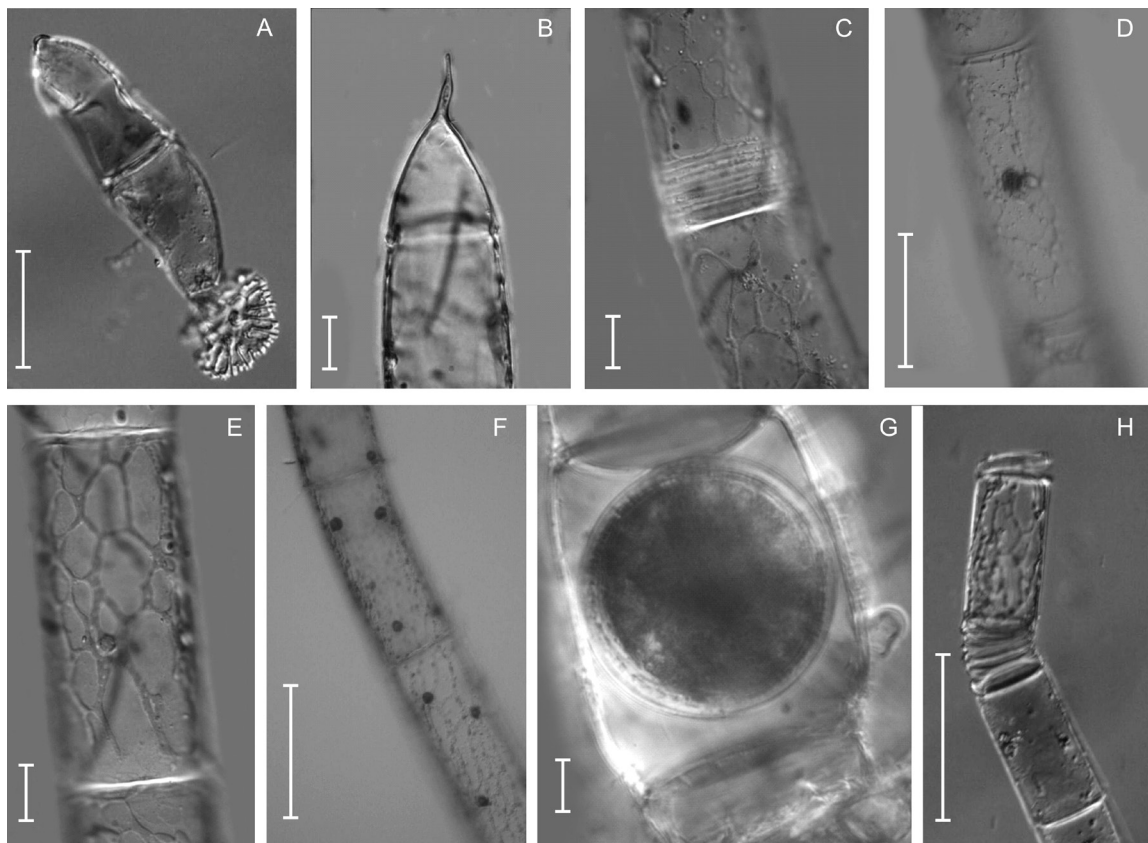
Parameter	Unit	Minimum	Maximum	Mean	SD
Temperature	°C	20.1	22.3	21.5	0.86
EC	$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	875	963	925	37.70
pH	-	7.3	9.6	8.3	1.00
OS	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	9.6	22.5	16.3	6.10
TDS	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	532	642	600	43.50
$\text{NO}_3^-$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.1	0.4	0.26	0.11
$\text{NH}_3$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.05	0.2	0.14	0.06
$\text{NH}_4$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.06	0.23	0.17	0.07
$\text{PO}_4$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.07	0.25	0.11	0.08
$\text{SO}_4$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	90	115	101	11.26
$\text{Cl}^-$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	86	122	101	16.03

Explanations: SD – Standard Deviation, EC – Electrolytic Conductivity, OS – Oxygen Saturation, TDS – Total Dissolved Substance

### 3. Results

The polyalgal mats in the pond in Konojad were formed by representatives of green algae: *O. capillare* Kützing ex Hirn and *Cladophora rivularis* (Linnaeus) Hoek. It was the eighth described site of occurrence of *O. capillare* in Poland (Fig. 1). *Oedogonium* filaments appeared at the end of June, and in July-August were found dominant in a macroalgal mat. *O. capillare* grew over a broad pH range (7.3-9.6) and presented wide

tolerance to the content of nutrients in water (Table 1). Significant changes were observed in the content of nitrates, ammonia nitrogen, phosphates and rather stable values of sulphates and chlorides were also recorded. Other values of physicochemical habitat parameters (electrolytic conductivity, total dissolved substance, water temperature, oxygen saturation) also achieved large values and amounted to 875-963  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , 600  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 20-22°C, 9.6-22.5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  respectively (Table 1).



**Fig. 2.** *Oedogonium capillare* from the pond in Konojad (photograph by M. Pikosz, 2014)

Explanations: A – young thalli, B – apical cell, C – apical cap, D – nucleus, E – vegetative cell with reticulate chloroplast, F – pyrenoids in the cell, G – oogonium – generative cell, H – antheridial cells; scale, A, D, F – 50  $\mu\text{m}$ , B, E – 15  $\mu\text{m}$ , C, G – 10  $\mu\text{m}$ ; H – 100  $\mu\text{m}$

**Table 2.** Comparison of morphometric features (minimum-maximum) of *Oedogonium capillare* from different site in USA, New Zeland, India and Poland

Features	Unit	Lake Erie USA <sup>1</sup>	Chatham Island New Zeland <sup>2</sup>	Kerala India <sup>3</sup>	Przemsza Poland <sup>4</sup>	Konojad Poland <sup>5</sup>
width of veg. cells	[µm]	35-56	33-40	34-46	35-60	37-56
length of veg. cells	[µm]	36-120	31-55	46-76	35-120	30-102
width of oogonium	[µm]	40-60	45-55	42-46	35-65	30-52
length of oogonium	[µm]	35-75	39-54	34-57	45-75	30-55
width of oospory	[µm]	30-50	43-49	36	30-52	n.d.
length of oospory	[µm]	35-65	32-48	30-38	35-65	n.d.
width of internal antheridium	[µm]	30-48	22-26	34-38	30-48	28-38
width of external antheridium	[µm]	5-10	4-6	7-11	5-10	n.d.
number of pyrenoids	No.	n.d.	5-12	n.d.	n.d.	6-10
diameter of pyrenoids	[µm]	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3-5
shape of pyrenoids	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	discoid

Explanations: veg. cells – vegetative cells, n.d. – no data; <sup>1</sup> – Tiffany (1937), <sup>2</sup> – Novis (2003), <sup>3</sup> – Venkataraman & Natarajan (1959), <sup>4</sup> – Sieminiak (1979), <sup>5</sup> – own research

*O. capillare* filaments and their cells were subjected to morphometric analysis. Filaments of *O. capillare* were multicellular, unbranched and composed of basal, tapered apical and vegetative cells (Fig. 2A-B). Vegetative cells had characteristic cap cells with rings (Fig. 2C), one nucleus (Fig. 2D) and reticulate multipyrenoid chloroplasts (Fig. 2E-F). Cylindrical cells of *O. capillare* were 37-56 µm wide and 30-102 µm long with 6, 8 or 10 discoid pyrenoids, 3-5µm in diameter and one nucleus in the central part of the cell (6-10 µm). Young organisms were attached to substrata such as macrophytes or stones by a holdfast – a specially adapted cell. In the later stage of development, free floating filaments were observed. Only single individuals of this species formed generative cells during research and, on this basis, it was possible to classify them to species as *O. capillare*. August was a reproductive season for solitary, spherical oogonia with ~30 µm in diameter to be attached to *female filaments* (Fig. 2G). Antheridia 28-38 µm wide, intercalary, 4-6 in series were noted in male filaments (Fig. 2H).

#### 4. Discussion

The genus *Oedogonium* (Oedogoniaceae, Chlorophyta) consists of species, which are present only in freshwater ecosystems. *Oedogonium* grows in different types of ecosystems from reservoirs, lakes, ponds to rivers and drainage ditches. More than 100 species occur in Poland (Central Europe), of which *O. intermedium* Wittrock and *O. undulatum* (Brébisson) Al. Braun are the most widespread (Mrozińska 1984). *O. capillare* is a cosmopolitan species in freshwater habitats. It was found in Europe, North America, Africa, Asia and New Zealand (Venkalaraman & Natarajan 1959; Day *et al.*

1995; Baba *et al.* 2011; Broady *et al.* 2012). Until 2015, *O. capillare* was found in freshwaters of Europe taking into consideration sites in Britain (Whitton *et al.* 1998; Huxley & Pentecost 2002), 6 records in Romania (Carauş 2012), 16 locations (14 for *O. capillare* and 2 for *O. capillare* f. *stagnale*) in Spain (Alvarez & Gallardo 1986; Cambra *et al.* 1998), 4 in Sweden, 1 (for *O. capillare* var. *fluitans*) in Germany and in such other countries as Denmark, Finland, France, Germany, Italy, Spain, Sweden (Venkalaraman & Natarajan 1959). In Poland, this taxon was recorded in 1860 (Hilse 1860) in a pool and a ditch in Strzelin (near Wrocław) where it appeared from June till October and in Domaszczyn (Hilse 1860) (Fig. 2). Mrozińska-Webb (unpublished) observed this taxon in a reservoir in Koniecwałd (Malbork) and in Upper Silesia in the Przemsza River in February 1978 in alkaline (8 pH) water at 6°C (Sieminiak 1979). A location of the *O. capillare* in Wielkopolska Voivodeship was recorded for the first time in 2012, in Konojad village (Pikosz 2012) where it also appeared in the following years forming mats, which occupied large area.

The occurrence of *Oedogonium* species in any particular location seems to be governed mainly by biotic and abiotic factors. Abundance of *Oedogonium* species depends on temperature, light intensity and type of habitats. Sieminiak (1979) observed a community of *O. capillare* at 6°C on a muddy river bottom. Sampling sites characterized by near neutral pH values were similar to measurements from lake Erie (Tiffany 1937), stream in New Zealand (Novis 2003) and from the Przemsza River (Sieminiak 1979), where *O. capillare* were also noted. However, it should be noted that *Oedogonium* rarely reproduces in flowing waters (Mrozińska 1984). Ponds, where water heats

up quickly, is a type of ecosystem, which is mostly inhabited by *Oedogonium* species (Mrozińska 1984). In the Konojad pond, abiotic parameters allowed large development of filaments, which later formed considerable floating mats on the pond surface. The obtained results showed that *O. capillare* occurred in water at 20°C and high nutrient and sulphate concentrations played an important factor in algae growth. In previous studies, sulphate content was not measured in waters where *O. capillare* developed. However, our studies indicate that filaments of this species were growing in the presence of high concentrations of this compound. *O. capillare* occurred with *C. rivularis* corroborating the assumption of Khanum (1982), that *Oedogonium* generally never formed independent mats, but co-existed with other species, such as *Spirogyra* and *Rhizoclonium*.

The specimens were slightly similar to those described previously (Table 2). Maximum vegetative cell lengths (more than 100 µm) were most similar to those of *O. capillare* from Lake Erie (Tiffany 1937) and from Poland (Mrozińska 1984). Oogonia, in these specimens, were spherical and more rounded than in the illustrations of Novis (2003) and Mrozińska (1984). In most specimens in our research, we observed mainly oval oogonia.

**Acknowledgments.** The study was supported, in part, by the National Centre for Science, grant No. 2014/13/B/NZ8/04690 and by a grant from the National Centre for Research and Development in Poland (No. PBS/1/A1/2/2012 – Innovative technology of seaweed extracts – omponents of fertilizers, feed and cosmetics). Marta Pikosz is a scholarship holder of Adam Mickiewicz University Foundation for the academic year 2015/2016.

## References

- ALVÁREZ C. M. & GALLARDO T. 1986. Catálogo de las algas continentales españolas. IV. Chlorophyceae Wille in Warming 1884. Prasinophyceae T. Christensen ex Silva 1980. Acta Bot. Malacitana, 11: 17-38.
- BABA A. I., SOFI A. H., BHAT S. U. & PANDIT A. K. 2011. Periphytic Algae of River Sindh in the Sonamarg Area of Kashmir Valley. Journal of Phytology 3(6): 01-12.
- BROADY P. A., FLINT E. A., NELSON W. A., CASSIE C. V., DE WINTON M. D. & NOVIS P. M. 2012. Phylum Chlorophyta and Charophyta: green algae. In: D. P. GORDON (eds.). New Zealand inventory of biodiversity. Volume Three. Kingdoms Bacteria, Protozoa, Chromista, Plantae, Fungi, pp. 347-381. Christchurch, Canterbury University Press
- BURCHARDT L. 1977. Zmiany w składzie fitoplanktonu jeziora Pątnowskiego odbiornika wód podgrzanych i ścieków z cukrowni (1972/73). Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Seria Biologia 8: 1-117.
- CAMBRA S. J., ÁLVAREZ C. M. & ABOAL S. M. 1998. Lista florística y bibliográfica de los clorófitos (Chlorophyta) de la Península Ibérica, Islas Baleares e Islas Canarias, Burgos: Asociación Española de Limnología 1-614.
- CARAU I. 2012. Algae of Romania. A distributional checklist of actual algae. Version 2.3 third revision. Bacau, Univ. Bacau.
- DAY S. A., WICKHAM R. P., ENTWISL T. J. & TYLER P. A. 1995. Bibliographic check-list of non-marine algae in Australia. Flora of Australia Supplementary Series 4(1-7): 1-276.
- GOŁOWIN S. 1964. Glony torfowisk Chlebowo (pow. Oborniki, woj. poznańskie). Fragm. Florist. Geobot. 10(1): 121-169.
- GUTWIŃSKI R. 1897. Wykaz glonów zebranych z okolic Wadowic-Makowa. Spraw. Komis. Fizjogr. AU 32: 97-217.
- HACH LANGE 2006. DR 2800 Spektrofotometr. Metodyki.
- HILSE W. 1860. Beitrage zur Algen – und Diatomeen-Kunde Schlesiens, insbesondere Strehlens. Jahresber. Schles. Ges. vaterl. Cult. 38: 75-86.
- HUXLEY R. & PENTECOST A. 2002. Order Oedogoniales. In: D. M. JOHN, B. A. WHITTON & A. J. BROOK (eds.). The Freshwater Algal Flora of the British Isles. An identification guide to freshwater and terrestrial algae, pp. 409-432. Cambridge, Cambridge University Press.
- KHANUM A. 1982. An ecological study of freshwater algal mats. Bot. Bull. Academia Sinica. 23: 89-104.
- KIRCHNER O. 1878. Kryptogamenflora von Schlesien. Jahresber. Schles. Ges. Vaterl. Cult. 2,1: 3-284.
- KOZŁOWSKI W. 1895. Przyczynek do flory wodorostów okolic Warszawy. Pamiętn. Fizjogr. 13:63-73.
- KUCZYŃSKA-KIPPEN N. 2009. Funkcjonowanie zbiorowisk planktonu z zróżnicowanych siedliskowo drobnych zbiornikach wodnych Wielkopolski. Ss. 504. BONAMI Wydawnictwo – Drukarnia, Poznań.
- MAHATO A. K. 1999. A new species of *Oedogonium* (Chlorophyceae, Oedogoniales) from Bihar, India. Feddes Repertorium 110 (34):173-176.
- MESSYASZ B., PIKOSZ M., SCHROEDER G., ŁĘSKA B. & FABROWSKA J. 2015. Identification and Ecology of Macroalgae Species Existing in Poland. Chapter 2, In: S. K. KIM & K. CHOJNACKA (eds.). Marine Algae Extracts: Processes, Products and Applications, First Edition, pp. 17-39. Wiley – VCH.
- MIREK Z., PIĘKOŚ-MIRKOWA H., ZAJĄC A. & ZAJĄC M. 2002. Flowering plants and pteridophytes of Poland.

- A checklist. In: Z. MIREK (ed.). Biodiversity of Poland, 1, 442 pp. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków.
- MROZIŃSKA T. 1958. Kilka nowych dla Polski i interesujących gatunków z rodzaju *Oedogonium*. *Fragm. Flor. Geobot.* 4(1-2): 247-259.
- MROZIŃSKA T. 1981. Some species of *Oedogonium* New to Poland. Supplement to "Flora Polska, Oedogoniales, Chlorophyta". *Fragm. Flor. Geobot.* 27(4): 677-680.
- MROZIŃSKA T. 1984. Flora Polski: Zielonice (Chlorophyta) Edogoniowce (Oedogoniales), PWN, Warszawa-Kraków.
- MROZIŃSKA T. 1991. A preliminary investigation of the taxonomic classification of the genus *Oedogonium* Link (Oedogoniales) based on the phylogenetic relationship. *Arch. Protistenk.* 139: 85-101.
- MROZIŃSKA-WEBB T. 1976. A study on epiphytic alga of the order Oedogoniales on the basis of materials from Southern Poland. *Fragm. Flor. Geobot.* 22 (1-2): 147-227.
- NOVIS P. M. 2003. A taxonomic survey of *Oedogonium* (Oedogoniales, Chlorophyta) In the South Island and Chatham Islands, New Zealand. *New Zealand Journal of Botany* 41: 335-358.
- PIKOSZ M. 2012. *Oedogonium capillare* (Chlorophyta, Oedogoniales) from the new site in Poland. In: M. KUCZERA (ed.). *Nowe Trendy w Naukach Przyrodniczych*, 3, pp. 148-156. Creative-Science-Monografia.
- PIKOSZ M. & MESSYASZ B. 2015. Composition and seasonal changes in filamentous algae in floating mats. *Oceanological and Hydrobiological Studies* 44 (2): 273-281.
- SIEMINIĄK D. 1979. Kilka interesujących gatunków *Oedogonium* (Chlorophyta) z Górnego Śląska. *Fragm. Flor. Geobot.* 25(3): 449-457.
- SIEMIŃSKA J., BĄK M., DZIEDZIC J., GĄBKA M., GREGOROWICZ P., MROZIŃSKA T., PELECHATY M., OWSIANNY P. M., PLIŃSKI M. & WITKOWSKI A. 2006. Red list the algae in Poland. In: Z. MIREK, K. ZARZYCKI, W. WOJEWODA & Z. SZELĄG (eds.). *Red list of plants and fungi in Poland*, pp. 35-52. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków.
- SZYMAŃSKA H., KRZYK A. & MIĘTRAK M. 2015. Some species of Oedogoniales (Chlorophyceae) from small astatic water bodies in the post-agricultural landscape (Masurian Landscape Park, NE Poland). *Phytotaxa* 192(3): 121-144. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.192.3.1>.
- TIFFANY L. H. 1937. The filamentous algae of the west end of Lake Erie. *The American Midland Naturalist* 18(6): 911-951.
- VENKATARAMAN G. S. & NATARAJAN K. V. 1959. Notes of some Oedogoniales from Kerala State India. *Algal Laboratory, Botany Division, Indiana Agriculture Research Institute* 26B(1): 7-18.
- WHITTON B. A., JOHN D. M., JOHNSON L. R., BOULTON P. N. G., KELLY M. G. & HAWORTH E. Y. 1998. A coded list of freshwater algae of the British Isles. *LOIS Publication* 222: 1-274. Wallingford, Institute of Hydrology & NERC.

## Publikacja II

**Pikosz M.,** Messyasz B. 2015. Composition and seasonal changes in filamentous algae in floating mats. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 44(2):273-281.

## Composition and seasonal changes in filamentous algae in floating mats

by

Marta Pikosz\*,  
Beata Messyasz

DOI: 10.1515/ohs-2015-0026

Category: Short communication

Received: January 8, 2015

Accepted: March 3, 2015

Department of Hydrobiology,  
Adam Mickiewicz University in Poznań,  
ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań, Poland

\* Corresponding author: [pikosz@amu.edu.pl](mailto:pikosz@amu.edu.pl)

### Abstract

The occurrence of algal-cyanobacterial metaphyton mats in field (Konojad village) and artificial ponds (Poznań city) was investigated in the Wielkopolska region. The surface area of algal mats ranged between ca. 45% (natural pond) and 10% (artificial pond) of the total water surface, and the mats occurred from the water surface to the bottom; the algal diversity was similar in both types of ponds, i.e. about 10 taxa. The most frequently recorded and dominant taxa in small water bodies were: *Spirogyra* spp., *Cladophora fracta* in the artificial pond and *Oedogonium* spp., *Cladophora rivularis* in the natural pond. The dynamics of macroalgae demonstrated a pattern comprising different phases of taxa dominance. For example, April regarded as the first phase was characterized by a small amount of metaphyton, represented by *Tribonema* and *Ulothrix* taxa. In May, these species disappeared and were replaced by: *Oedogonium* spp. and *Cladophora* spp. which formed large aggregations in the field pond, and *Spirogyra* spp. which abundantly proliferated in the artificial pond. From June, however, *Oedogonium* and/or *Cladophora* significantly dominated in the mat structure and at the same time covered a large area of the water surface. The algal community was dominated by common algal taxa, among which single filaments of other taxa could also occur.

**Key words:** macroalgae, filamentous algae, metaphyton mats, small water bodies, seasonal dynamics, *Cladophora*

## Introduction

Metaphyton is a community composed of filamentous forms of algae forming frequently floating mats, which include *Cladophora*, *Hydrodictyon*, *Rhizoclonium*, *Spirogyra*, *Mougeotia*, *Vaucheria*, *Ulva* (*Enteromorpha*) and *Oedogonium* species (Wetzel 2001, Pieczyńska 2008, Mareš et al. 2011). Cyanobacteria can also occur in the metaphyton community (Hillebrand 1983, Scheffer 2001, Zohary et al. 1998). The term “metaphyton” has several synonyms like flab, pseudoplankton or pond scum (Zohary et al. 1998). Mats of green macroalgae can be characteristically organized in terms of (i) the species composition and species diversity because they can be single- or multi-species, (ii) the structure – patches can be very sparse or dense, and (iii) the area covered (Saunders et al. 2012, Pikosz 2012). Metaphyton may have varied origin, such as: epiphyton, epipelon and epilithon (Stewenson 1996, Pouličková 2008). Filamentous green algae can co-exist with submerged macrophytes or occur alone (Pieczyńska 2008, Lembi 2000). Traits such as: a filament form, a wide ecological range of filamentous green algae causes that these algae grow rapidly and form massive blooms (Margalef 1983, Cambra & Aboal 1992). *Spirogyra* and *Cladophora* may triplicate their biomass in only three days (Cambra & Aboal 1992), while a high level of nutrients stimulate massive growth of *Ulva* (Messyasz et al. 2012). According to Hillebrand (1983), the dominance of filamentous algal species can change during a season as habitat conditions change; for example *Cladophora glomerata* (L.) Kütz. prefers high N and P concentration (Borchardt 1996), *Mougeotia* sp. tolerates a wide range of pH (Turner et al. 1987).

It is also important to mention the role of metaphyton mats in the functioning of aquatic ecosystems, including mainly shading which reduces the phytoplankton growth (Graham et al. 1995); filamentous species are food for grazers (Graham et al. 1996) as well as refuge for zooplankton (Scheffer 2001). Moreover, dead biomass of macroalgae can cause anaerobic conditions due to the use of oxygen during their decomposition near the bottom. In small and shallow ponds, there are right conditions for filamentous algae growth. Stagnant water, limited wave action and movement are the factor that favor algae development. High levels of nutrients,

especially phosphorus and nitrogen play a crucial role in the growth of algae. According to Scheffer et al. (2006), shallow ponds are characterized by high species richness and high biodiversity. The majority of scientific works documenting the flora of the littoral zone of different water bodies provide information on the presence of filamentous algae. Most often, however, the information refers only to the mere fact that smaller or larger patches consisted of filamentous algae without providing a description of the species composition. When it comes to the determination of the composition of macroalgae communities, usually the taxonomic identification is limited to genera and easily identifiable green algae, such as *Ulva* (*Enteromorpha*) and *Cladophora*. This state of affairs makes it difficult to study the geographical distribution of individual filamentous algae species in Poland and very often makes it impossible to describe their precise trophic and ecological characteristics. Although factors (e.g. nutrient status) responsible for macroscopic algae occurrence in aquatic ecosystems are rather well characterized, it is difficult to predict the annual recurrence of mats and the structure of their species. Therefore, it is of special interest to obtain data on the taxonomic and morphological diversity of metaphyton algae taking into account their seasonal pattern and distribution. For this study, small water bodies were selected as having a well-developed littoral zone where floating mats of macroalgae were observed.

The metaphyton in ponds is one of the richest and most heterogeneous areas regarding the filamentous Chlorophyta and Cyanobacteria (Pieczyńska 2008, Stewenson 1996), but there are still many gaps in our knowledge about particular algal species, especially in terms of their seasonal changes and phenology. Thus the main aim of this study was to present the seasonality of macroalgae which occurred in the form of dull green mats floating on the surface of two small ponds of different origin (< 1 ha). The examples were supplemented with basic physicochemical analyses of water.

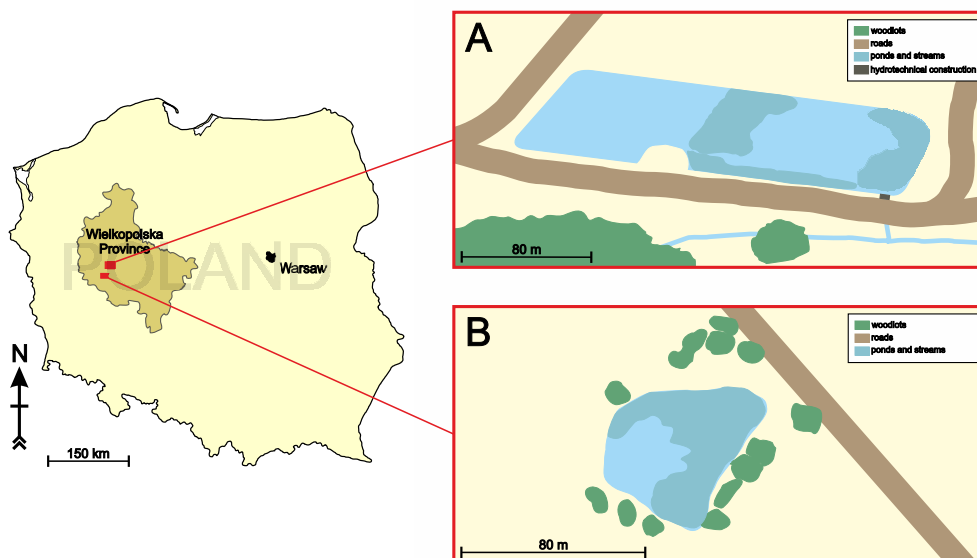
## Materials and methods

### Description of the study area

The research on metaphyton collected from

small water bodies (0.02-1.0 ha) in the Wielkopolska region was conducted in April-September 2013 in Konojad pond and May-September 2013 in Poznań pond (Table 1, Fig. 1). Sampling sites were located near the shoreline, overgrown with macrophytes in both ponds. During the fieldwork, submerged macrophytes covered approximately 70% of the bottom area of the ponds and emergent vegetation occurred along the entire shoreline. Samples of filaments were collected from a site overgrown with *Ceratophyllum demersum* L., *Phragmites communis* (Cav.) Trin. ex Steud., *Typha angustifolia* L., *Schoenoplectus* (Rchb.) Palla., *Potamogeton natans* L., *Lemna minor* L., *Alisma plantago-aquatica* L., *Sparganium emersum* L., *Rorippa amphibian* (L.) Besser and *Oenanthe aquatica* (L.) Poir.

about three times per month (17 samples of algae and water) and two time per month from the pond in Morasko-Poznań (10 samples of algae and water). The filamentous samples of free-floating green algae (like walt) were collected from the water surface and put into a plastic container with water coming from the same habitat in the ratio of 3:1, and transported to a laboratory. Next, the filaments were rinsed with distilled water to separate any abiotic particles attached to them. In addition to algae collection, measurements of basic physical and chemical properties of water, such as temperature (°C), pH, dissolved oxygen (%), electrolytic conductivity ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) and the total dissolved substance ( $\text{mg l}^{-1}$ ) were included in the habitat analysis. These parameters were measured using a YSI Professional Plus probe.



**Figure 1**

The location of sampling sites in the Wielkopolska region: A – the pond in Poznań; B – the pond in Konojad

**Sampling methods**

Macroscopic green algae filaments and water samples were collected from the pond in Konojad

Chemical analysis of water was completed with measurements of ammonium ( $\text{mg l}^{-1}$ ), nitrate ( $\text{mg l}^{-1}$ ) and phosphates ( $\text{mg l}^{-1}$ ) in a laboratory using a spectrophotometer HACH DR2800.

**Table 1**

Main information concerning locations and morphometric characteristics of research ponds

Type of pond	Location	Coordinates	Surface area	Max depth	Max length	Max width	Bottom
			ha				
midfield	village, Konojad	N52°10'14.17" E16°31'24.51"	-0.3	1.5	82	47	mud
artificial	city, Poznań	N52°27'52.8" E16°55'25.62"	-0.2	2.2	165	20	mainly concrete

## Microscope identification

Microscopic slides with fresh algal filaments for the identification of taxa were examined using a light microscope (200×, 400×) with a built-in camera, taking into account the shape and composition of cells including the number of pyrenoids (staining Lugol's solution) and nuclei (acetocarmine stain). Taxonomical analysis was also based on morphological features: the shape and the length of thalli, branching, the shape and the size of cells and thalli color. The obtained results related to characteristic features of macroalgae were then compared with morphometric data included in the identification keys of Starmach (1972), Mrozińska (1982), Kadłubowska (1972), Pliński and Hindák (2012).

## Proportion of taxa

Proportions of taxa were based on the determination of a percentage of filaments in the dry weight. First, portions of macroalgae were exposed to the drying process at 95°C for 3 hours. Next, 1 g of dry samples was weighed. These samples of filamentous algae have again been put in distilled water. A stereoscopic microscope was used to determine which types of filaments were dominant and which were rare in a sample. (This process was repeated 10 times). During the analysis of samples, the percentage of algae was qualitatively monitored according to a simple rank-scale: (0) none – 0%; (1) rare – 1-10%; (2) common – 11-30%; (3) abundant – 31-70%; (4) highly abundant – 71-100% provided by Schories (1995).

## Results

### Environmental characteristic of metaphyton habitats

The studied ponds greatly varied in terms of habitat characteristics. For example, the pH value varied in the range from 7.73 to 10.16 in the Konojad pond and from 8.1 to 8.75 in the pond in Poznań. The highest pH value was recorded in July and August. Whereas, values of conductivity ranged from 870 to 1414  $\mu\text{S cm}^{-1}$  in the natural pond and from 225 to 475  $\mu\text{S cm}^{-1}$  in the artificial pond. The obtained data

indicate that TDS and EC values were higher in the pond in Konojad than in the pond in Poznań. The water depth at the sampling sites in the ponds does not exceed 1 m. Filamentous algae were found in the water rich in biogenic compounds (Table 2).

### Taxonomic and morphological diversity of metaphyton algae

Metaphyton collected from two ponds (Fig. 1) during the fieldwork was mostly multialgal, dense and was present in the water from spring thawing till autumn. During that time, a minimum of two and a maximum of 8 taxa were observed in the mat structure. In the field pond, macroalgal mats covered a larger part of water surface (~45%) than in the artificial water body (up to 2 m from the shoreline). Some of the metaphyton algae, especially *Oedogonium* taxa with a basal cell came from epiphyton, whereas *Cladophora* spp. was floating on the water surface after detachment from the bottom. Metaphyton was characterized by the dominance of filamentous green algae rather than cyanobacteria. Macroalgal mats in the natural pond consisted mainly of Cladophorales and Oedogoniales, while in the artificial pond – Cladophorales and Zygnematales.

Twelve genera of metaphyton belonging to the phyla: Cyanobacteria (*Lyngbya*, *Spirulina*), Chlorophyta (*Cladophora*, *Oedogonium*, *Chaetophora*, *Cylindrocapsa*), Charophyta (*Ulothrix*, *Spirogyra*, *Sirogonium*, *Zygnema*, *Mougeotia*) and Ochrophyta (*Tribonema*) were identified in all samples from the two small ponds in the Wielkopolska region (Table 3). Out of the identified taxa, five occurred in both ponds: *Ulothrix variabilis*, *Tribonema aequale*, *Oedogonium* spp., *Spirogyra* spp. and *Mougeotia* sp. However, *Lyngbya hieronymusii*, *Tribonema vulgare*, *Cylindrocapsa geminella*, *Chaetophora* sp., *Cladophora rivularis* and *Cladophora globulina* were recorded only in the small field pond. Taxa such as *Spirulina* sp., *Zygnema* sp., *Sirogonium* sp. and *Cladophora fracta* were found only in the artificial pond.

Metaphyton algae were also subjected to morphological analysis based on features such as: life form, thalli color, shape and width of filaments and cells, shape and number of pyrenoids, the presence of nucleus, characteristics of chloroplasts and cell wall. Metaphyton from the studied ponds consisted

Table 2

Seasonal variability of physical and chemical parameters [minimum-maximum (standard deviation)] at sampling sites in Konojad and Poznań ponds in 2013

	Temperature (°C)	pH	Oxygen Saturation (%)	Electrolytic Conductivity ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	Total Dissolved Substance ( $\text{mg l}^{-1}$ )	N-NO <sub>3</sub> ( $\text{mg l}^{-1}$ )	N-NH <sub>3</sub> ( $\text{mg l}^{-1}$ )	P-PO <sub>4</sub> ( $\text{mg l}^{-1}$ )
Konojad pond								
April (n=3)	16.1-18.4 (0.7)	8.00-9.10 (0.40)	70-120 (16)	940-1410 (218)	510-703 (74)	0.3-0.5 (0.08)	0.15-0.65 (0.16)	0.31-0.42 (0.04)
May (n=3)	14.8-22.4 (3.4)	8.10-8.60 (0.20)	103-148 (20)	870-1414 (243)	432-706 (122)	0.1-0.6 (0.20)	0.97-1.57 (0.27)	0.16-0.56 (0.17)
June (n=3)	18.9-23.3 (1.5)	8.58-9.77 (0.4)	90-148 (19)	916-1061 (47)	455-530 (24)	0.1-0.3 (0.06)	0.61-1.76 (0.48)	0.18-1.18 (0.33)
July (n=3)	20.9-29.4 (4.5)	8.88-10.16 (0.53)	53-132 (37)	795-1025 (116)	402-511 (57)	0.2-0.2 (0.00)	0.34-0.84 (0.25)	0.09-0.32 (0.09)
August (n=3)	23.4-27.2 (1.5)	8.92-10.05 (0.37)	48-140 (28)	942-985 (13)	478-598 (39)	0.1-0.2 (0.04)	0.24-1.31 (0.35)	0.14-0.28 (0.04)
September (n=2)	18.4-18.8 (0.3)	7.73-9.54 (1.28)	85-99 (10)	912-932 (14)	523-531 (6)	0.1-0.1 (0.00)	0.24-0.42 (0.14)	0.17-0.39 (0.15)
Poznań pond								
April	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
May (n=2)	23.2-23.6 (0.28)	8.45-8.59 (0.09)	102-109 (5)	286-323 (26)	143-161 (13)	0.2-0.3 (0.07)	0.06-0.16 (0.07)	0.19-0.35 (0.11)
June (n=2)	19.2-20.1 (0.63)	8.3-8.35 (0.03)	86-99 (9)	309-368 (41)	154-184 (21)	0.3-0.3 (0.00)	2.0-2.86 (0.60)	0.12-0.33 (0.15)
July (n=2)	19.5-26.0 (3.50)	8.42-8.61 (0.10)	65-91 (13)	225-475 (142)	112-241 (73)	0.4-0.7 (0.15)	0.08-0.16 (0.04)	0.06-1.02 (0.50)
August (n=2)	26.3-27.5 (0.84)	8.44-8.75 (0.21)	82-111 (20)	369-471 (72)	183-238 (39)	0.1-0.7 (0.42)	0.16-0.23 (0.04)	0.06-0.06 (0.00)
September (n=2)	27.5-28.5 (0.70)	8.1-8.6 (0.35)	58-103 (32)	364-435 (50)	186-217 (22)	0.3-0.4 (0.07)	0.07-0.11 (0.02)	0.13-1.18 (0.74)

n.d. - no data

mainly of filamentous blue-green and green algae. Some of them were branched such as *Cladophora* spp. and *Chaetophora* sp. (Table 4). However, different filament color plays an important role because *Oedogonium* were bright green contrary to usually mat dark-green *Cladophora*.

### Seasonal pattern of metaphyton

According to our data, the filamentous algae population in the examined aquatic ecosystems is characterized by seasonal changes. The pattern of macroalgae dynamics consisted of phases. The first phase with low abundance of metaphyton was

Table 3

Composition of metaphyton communities appearing in ponds (Wielkopolska region) during the samples collection

Taxon	Taxonomic Composition	
	Konojad pond	Poznań pond
<i>Lyngbya hieronymusii</i> Lemm.	+	-
<i>Spirulina</i> sp. Turpin ex Gomont	-	+
<i>Ulothrix variabilis</i> Kütz. 1849	+	+
<i>Tribonema aequale</i> Pascher 1925	+	+
<i>Tribonema vulgare</i> Pascher 1923	+	-
<i>Cylindrocapsa geminella</i> Wolle 1887	+	-
<i>Chaetophora</i> sp. Schrank 1798	+	-
<i>Oedogonium</i> spp. Link 1820	+	+
<i>Cladophora rivularis</i> (L.) Van Hoek 1963	+	-
<i>Cladophora globulina</i> (Kütz.) Kütz. 1845	+	-
<i>Cladophora fracta</i> (Müller ex Vahl) Kütz. 1843	-	+
<i>Mougeotia</i> sp. Agardh 1824	+	+
<i>Zygnema</i> sp. Agardh 1824	-	+
<i>Spirogyra</i> spp. Link 1820	+	+
<i>Sirogonium</i> sp. Kütz. 1843	-	+

Table 4

## Morphological characteristic of metaphyton taxa found in mats in both ponds

Morphological Composition							
Cyanobacteria							
Taxon	No. nucleus	life form	mean width (µm)	reproduction	other		
<i>Lyngbya hieronymusii</i>	0	simple filament	13	hormogonia	n.d.		
<i>Spirulina</i> sp.	0	spiral filament	1-2	no akinetes	n.d.		
Chlorophyta							
Taxon	type of filament	shape of chloroplast	pyrenoids (µm)	nucleus (µm)	cell width (µm)	cell shape	other
<i>Cylindrocapsa geminella</i>	unbranched, 25 µm long	1, star-shape	1	n.d.	13-17	elliptic	thick layered membrane, basal holdfast
<i>Chaetophora</i> sp.	branched, tapering	parietal	2-3	n.d.	6-7	circular	one pyrenoids
<i>Oedogonium</i> spp.	unbranched	reticulated	3-7	5-6	19-42	cylindrical	one nucleus in the central part of cell
<i>Cladophora rivularis</i>	branched	parietal	5-8, discoid	5-6	38-120	cylindrical	many nuclei in the cell, dark green
<i>Cladophora globulina</i>	branched	parietal	2-3	2-5	18-26	cylindrical	many nuclei in the cell
<i>Cladophora fracta</i>	branched	parietal	3-6	2-4	20-31	cylindrical	many nuclei in the cell, light green
Charophyta							
Taxon	nucleus	shape of chloroplast	cell width (µm)	pyrenoids (µm)	apical cell	other	
<i>Mougeotia</i> sp.	1, in the central part	plate-like	25-36		rounded	pyrenoids in one row	
<i>Zygnema</i> sp.	1, in the central part	two star-shape	65-68	3-4	rounded	one pyrenoids in the centre	
<i>Spirogyra</i> spp.	1, in the central part	ribbon-like, spiral	28-76	4-6	rounded	spiral chromatophor with pyrenoids	
<i>Sirogonium</i> sp.	1, in the central part	ribbon-like, simple	60-70	3-5	rounded	spiral chromatophor with pyrenoids	
<i>Ulothrix variabilis</i>	1, in the central part	quadratic plate, parietal	2.5-4-6	1-2	rounded	cylindrical cells, one pyrenoid	
Ochrophyta							
Taxon	nucleus	shape of chloroplast	cell width (µm)	pyrenoids	other		
<i>Tribonema vulgare</i>	n.d.	parietal	7-13	absence	H-shape cell, note empty cell on the end, cylindrical cell		
<i>Tribonema aequale</i>	n.d.	3-4, tear-like	6-8	absence			

n.d. - no data

dominated by *Tribonema* and *Ulothrix* species in April, which co-existed with species from the order Zygnematales (Table 5). In the next phase, from May to August, these species almost disappeared and were replaced by *Cladophora* spp. and *Oedogonium* sp. which formed large blooms in the field pond. Subsequently, from August, *Cladophora rivularis* and *Oedogonium* sp. dominated and covered a large area of the water surface.

In the artificial pond (Poznań-Morasko), the metaphyton community was represented by Zygnematales (*Spirogyra* sp. *Mougeotia* sp. and *Zygnema* sp.) which were common in May and June. *Spirogyra* taxa were most common in this pond during the research and were represented by four taxa. *Oedogonium* sp. and *Cladophora fracta* dominated from July (Table 5).

## DISCUSSION

### Environmental characteristics of metaphyton habitats

The range and characteristics of metaphyton in Poland are poorly investigated, but our knowledge about the distribution and ecology of macroalgae mats advances every year. Metaphyton, more often than planktonic algae, contributes to the high biomass concentration, which reduces light penetration through the water column in shallow aquatic ecosystems like lakes or ponds. It is very common that filamentous green algae occurred with communities of macrophytes in the littoral zone in lakes and in small water bodies (Pieczyńska 2008). According to Pieczyńska (2008), floating

**Table 5**

Time changes in the filamentous algae distribution in ponds in Konojad village and Poznań city in 2013

	April	May	June	July	August	September
Konojad pond						
<i>Lyngbya birconymusii</i>	1	1	0	1	1	1
<i>Ulothrix variabilis</i>	3	1	0	0	0	0
<i>Tribonema aequale</i>	2	0	0	0	0	0
<i>Tribonema vulgare</i>	2	0	0	0	0	0
<i>Cylindrocapsa geminella</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Chaetophora</i> sp.	1	0	0	0	0	0
<i>Oedogonium</i> spp.	0	3	2	2	3	3
<i>Cladophora rivularis</i>	0	3	4	4	3	3
<i>Cladophora globulina</i>	0	1	1	1	0	0
<i>Mougeotia</i> sp.	1	0	0	0	0	0
<i>Spirogyra</i> spp.	1	1	0	1	0	0
Poznań pond						
<i>Spirulina</i> sp.	n.d.	1	0	0	0	0
<i>Ulothrix variabilis</i>	n.d.	1	0	0	0	0
<i>Tribonema aequale</i>	n.d.	1	0	0	0	0
<i>Oedogonium</i> spp.	n.d.	0	0	1	2	2
<i>Cladophora fracta</i>	n.d.	0	0	2	3	4
<i>Mougeotia</i> sp.	n.d.	2	2	1	0	0
<i>Zygnema</i> sp.	n.d.	2	2	1	0	0
<i>Spirogyra</i> spp.	n.d.	4	3	1	1	1
<i>Sirogonium</i> sp.	n.d.	1	0	0	0	0

- n.d. - no data.

- Darker background –dominant and sub-dominant taxon in metaphyton community;

- The percentage of algae were qualitatively monitored according to a scale: (0) 0%; (1) 1–10%; (2) 11–30%; (3) 31–70%; (4) 71–100%.

mats may replace macrophytes, however, during our study, the occurrence of vascular plants in ponds did not change significantly. The massive blooms of filamentous green algae were observed in alkaline ponds, although *Zygnematales* and *Oedogonium* prefer pH >7 (eg. *Spirogyra* 8.4–8.6) but *Cladophora* become more dominant in neutral pH (Fairchild et al. 1989). Our study indicates that a more frequent occurrence of *Zygnematales* in the artificial pond compared to the field pond may be associated with the water alkalinity which was in the range of 8.1–8.7. Furthermore, Khanum (1982) considers that *Oedogonium* occurred in waters rich in dissolved O<sub>2</sub> (from 8.0 to 10.0 mg l<sup>-1</sup>). As it follows from the obtained data, oxygen conditions for the *Oedogonium* development were more optimal in the natural pond (6.5–12.5 mgO<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>). The studied ponds were considerably different from each other in terms of the total dissolved substance – significantly higher values of TDS were recorded in Konojad pond.

According to Khanum (1982), *Cladophora* formed mats consisting of one species in water with high dissolved organic matter.

### Taxonomic and morphological diversity of metaphyton algae

The knowledge of filamentous algae from Poland, particularly the genera of *Oedogonium* (104 taxa), *Spirogyra* (321 taxa), *Mougeotia* (117 taxa), *Zygnema* (120 taxa) and *Cladophora* (22 taxa and 4 varieties), comes from a few sources (Scheffer et al. 2006, Mrozińska 1982, 1991). In Poland we know only 16 taxa of *Sirogonium* (Mrozińska 1982). In these small ponds, we observed five different filaments of *Spirogyra*, two filaments of *Oedogonium* and three taxa of *Cladophora*. Among the remaining genera of algae, only one representative was recorded. Although filamentous algae are common and macroscopically visible, they are poorly researched and the presence of these species in aquatic ecosystems is only mentioned in the literature. This is a problem resulting from difficulties with taxonomic identification, because the systematics is based on morphological features, mainly the shape and the size of oogonium and antheridium (generative cells). Similarly as in the case of *Oedogonium* where only in a few cases the name of species may be determined based on features of vegetative cells (Starmach 1972). In the samples collected from the studied habitat, only vegetative cells were observed. During the microscopic examination, it was possible to observe differences in the shape and size of pyrenoids, nuclei and chloroplasts. According to Power et al. (2009), different colors of macroalgae depend on: (i) the dominant taxa, (ii) temporal changes in their physiological states, and (iii) ecological succession and the environment.

The main structural part of the examined mats is *Cladophora rivularis* in the natural pond and *Cladophora fracta* in the artificial pond. Other types of green and blue-green algae, except *Oedogonium*, were tangled with *Cladophora* filaments. This fact confirms the literature data, which indicate the occurrence of primarily monospecies algal mats (formed by *Cladophora*) or a few patches consisting of several species such as *Oedogonium* sp. and *Spirogyra* sp. (Khanum 1982). According to literature, *Spirogyra* rarely occurs with *Oscillatoria*

and *Cladophora* (Khanum 1982). The results presented above indicate that *Spirogyra* co-occurs with *Cladophora* in both ponds. In the artificial pond in Poznań, *Sirogonium* occurred in the community with *Zygnema* like in a perennial lake (Khanum 1982). Up to eight taxa co-occurred with *Oedogonium* filaments in a mat observed in Konojad pond. This phenomenon confirms the fact that *Oedogonium* mostly forms multialgal mats consisting of several species and might be associated with *Spirogyra* and *Rhizoclonium* (Khanum 1982).

### Seasonal pattern of metaphyton

Only a few studies focused on the spatial patterns of metaphyton (Wu & Mitsch 1998). First, the authors observed a small mat of *Hydrodictyon* in a wetland, the cover of which increased during one month to 70% of the total water surface (up to 86%), followed by a decrease to 61%. However, metaphyton later recovered with a new dominant taxon – *Rhizoclonium*, which persisted for a month. The presented study shows that the researched ponds are characterized by a more dynamic taxa replacement. *Ulothrix*, *Tribonema* and *Mougeotia*, *Spirogyra* occurred first. Then, filaments of *Cladophora* and *Oedogonium* appeared and dominated from May to September.

Variability in the composition of metaphyton results in many changes and usually does not repeat from year to year (Kelehr & Rader 2008). In Konojad pond, in August and September 2012, the dominance of *Lyngbya hieronymusii* and *Oedogonium capillare* over *Cladophora globulina* was observed (Pikosz 2012). At the same time in 2013, metaphyton in the studied field pond consisted of *Cladophora* spp. and *Oedogonium* spp. in equal proportions. The *Oedogonium* species may grow throughout the year, but the maximum reproductive development in the lowlands was observed in June and, to a smaller extent, in August (Mrozińska-Weeb 1976).

### Conclusions

A seasonal survey of macroalgal abundance and species composition of metaphyton in two different ponds were carried out.

Metaphyton in two small ponds in the Wielkopolska region contain taxa from the

following genera: *Lyngbya*, *Spirulina*, *Ulothrix*, *Tribonema*, *Cylindrocapsa*, *Spirogyra*, *Sirogonium*, *Mougeotia*, *Zygnema*, *Oedogonium*, *Chaetophora* and *Cladophora*.

The dominant macroalgal population consists mainly of filamentous genera of *Cladophora*, *Oedogonium*, *Spirogyra* and *Zygnema*.

Floating mats of metaphyton show three phases of the spatial pattern among algal populations: (i) the phase of a small abundance of metaphyton, dominated by *Tribonema* and *Ulothrix* species in April. Next, (ii) in May, these species disappeared and were replaced by *Oedogonium* spp. which formed intense blooms in the field pond and by *Spirogyra* spp. in the artificial pond. But from August (iii), monoalgal mats occurred mainly, covering a large area of the water surface.

The results also demonstrated that more data are required on filamentous green macroalgal species growing in small water bodies to more accurately assess their role and seasonal dynamics in the development of littoral communities.

### Acknowledgments

This work was partly supported by a grant from the National Centre for Research and Development in Poland (No. PBS/1/A1/2/2012 – Innovative technology of seaweed extracts – components of fertilizers, feed and cosmetics).

### References

- Borchardt, M.A. (1996). Nutrients, In R.J. Stevenson, M.K. Bothwell & R.L. Lowe (eds.), *Algal ecology: Freshwater benthic ecosystems*. (pp. 184-218). Elsevier, Academic Press.
- Cambra, J., Aboal, M. (1992). Filamentous green algae of Spain: distribution and ecology. *Limnética* (8): 213-220.
- Fairchild, G.W., Sherman, J.W., Acker F.W. (1989). Effects of nutrient (N, P, C) enrichment, grazing and depth upon littoral periphyton of a softwater lake. *Hydrobiologia* 173: 69-83.
- Graham, J.M., Arancibia-Avila, P., Graham, L.E. (1996). Physiological ecology of a species of the filamentous green alga *Mougeotia* under acidic conditions: light and temperature effects on photosynthesis and respiration. *Limnology and Oceanography* 41: 253-262.
- Graham, J.M., Lembi, C.A., Adrian, H.L., Spencer, D.F. (1995). Physiological responses to temperature and irradiance in *Spirogyra* (Zygnematales, Charophyceae). *Journal of*

- Physiology* 31: 531-540.
- Hillebrand, H. (1983). Development and dynamics of floating clusters of filamentous algae. In R.G. Wetzel (ed.), *Periphyton of Freshwater Ecosystems* (pp.31-39). Springer Netherlands, DOI: 10.1007/978-94-009-7293-3\_7.
- Kadłubowska, Z.J. (1972). *Chlorophyta V. Conjugales Zygnemaceae*. Flora Słdkowodna Polski, Kraków, PWN.
- Kelehr, M. J., Rader, R.B. (2008). Dispersal limitations and history explain community composition of metaphyton in desert springs of the Bonneville Basin, Utah: A multiscale analysis. *Limnol. Oceanogr.* 53(4): 1604–1613.
- Khanum, A. (1982). An ecological study of freshwater algal mats. *Bot. Bull. Academia Sinica* 23: 89-104.
- Lembi, C.A. (2000). Relative Tolerance of Mat-forming Algae to Copper. *J. Aquat. Plant Manage.*38: 68-70.
- Mareš, J., Leskinen, E., Sitkowska, M., Skácelová, O., Blomster, J. (2011). True identity of the European freshwater *Ulva* (Chlorophyta, Ulvophyceae) revealed by a combined molecular and morphological approach. *J. Phycol.* 47: 1177-1192. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2011.01048.x.
- Margalef, R. (1983). *Limnología* (pp. 1010). Editorial Omega, Barcelona, Spain.
- Messyas, B., Rybak, A., Pikosz, M., Szendzina, L. (2012). Fertility effects on *Ulva* thalli mass development in inland waters of Poland. *Biologie Animală* 69-83.
- Mrozińska, T. (1982). *Zielenice (Chlorophyta) Edogoniowce (Oedogoniales)*, Flora Polski, PWN, Warszawa-Kraków.
- Mrozińska, T. (1991). A preliminary investigation of the taxonomic classification of the genus *Oedogonium* Link (Oedogoniales) based on the phylogenetic relationship. *Arch. Protistenk.* 139: 85-101.
- Mrozińska-Weeb, T. (1976). A study on epiphytic alga of the order Oedogoniales on the basis of materials from Southern Poland. *Fragm. Flor. et Geobot.* 22 (1-2): 147-227.
- Pieczynska, E. (2008). Eutrophication of shallow lakes – importance of macrophytes. *Wiadomości Ekologiczne* 54 :1.
- Pikosz, M. (2012). *Oedogonium capillare* (Chlorophyta, Oedogoniales) from the new site in Poland. *Creative Science-Monografia*, Tom III, CreativeTime, ISBN 978-83-63058-25-8.
- Pliński, M., Hindák, F. (2012). *Zielenice-Chlorophyta: Filamentous green algae*. Gdańsk: Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego.
- Pouličková, A., Hašler, P., Lysáková, M., Spears, B. (2008). The ecology of freshwater epipelagic algae: an update. *Phycologia* 47: 437-450. DOI: 10.2216/07-59.1.
- Power, M., Lowe, R., Furey, P., Welter, J., Limm, M., Finlay, J., Bode, C., Chang, S., Goodrich, M. & Scully, J. (2009). Algal mats and insect emergence in rivers under Mediterranean climates: towards photogrammetric surveillance. *Freshwater Biology*, 54: 2101-2115. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2008.02163.x.
- Saunders, L.L., Kilham S.S., Fairchild G.W., Verb R. (2012). Effects of small-scale environmental variation on metaphyton condition and community composition. *Freshwater Biology*, 57: 1884-1895. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2012.02851.x.
- Scheffer, M. (2001). *Ecology of shallow lakes*. Kluwer Academic Pub. Dordrecht.
- Scheffer, M., Van Geest, G.J., Zimmer, K., Jeppesen, E., Søndergaard, M., Butler, M.G., Hanson, M.A., Declerck, S. & De Meester, L. (2006). Small habitat size and isolation can promote species richness: second-order effects on biodiversity in shallow lakes and ponds. *Oikos*, 112: 227–231. DOI:10.1111/j.0030-1299.2006.14145.x.
- Schories, D. (1995). Populationsökologie und Massenentwicklung von *Enteromorpha* spp. (Chlorophyta) im Sylter Wattenmeer. Bericht aus dem Institut für Meereskunde an der Christian-Albrechts-Universität Kiel 271, 145 pp.
- Starmach, K. (1972). *Zielenice nitkowate*, Flora Słdkowodna Polski, PWN, Warszawa- Kraków.
- Stewenson, R.J. (1996). *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecology*. California: Elsevier.
- Turner, M.A., Jackson, M.B., Findlay, D.L., Graham, R.W., EdBruyn, E.R. & Vandermeer, E. M. (1987). Early responses of periphyton to experimental lake acidification. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*; 44(S1):s135-s149.
- Wetzel, R.G. (2001). *Limnology. Lake and River ecosystems*. 3rd ed. Academic Press.
- Wu, X. & Mitsch, W.J. (1998). Spatial and temporal patterns of algae in newly constructed freshwater wetlands. *Wetlands*, 18(1): 9-20.
- Zohary, T., Fishbein, T., Kaplan, B. & Pollinger, U. (1998). Phytoplankton-metaphyton seasonal dynamics in a newly-created subtropical wetland lake. *Wetlands Ecology and Management* 6:133-142.

## Publikacja III

**Pikosz M.,** Messyasz B. 2016. Characteristic of *Cladophora* and coexisting filamentous algae in relation to environmental factors in freshwater ecosystems in Poland. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 45(2):202-215.

## Characteristics of *Cladophora* and coexisting filamentous algae in relation to environmental factors in freshwater ecosystems in Poland

by

Marta Pikosz\*, Beata Messyasz

DOI: 10.1515/ohs-2016-0019

Category: Original research paper

Received: August 17, 2015

Accepted: September 21, 2015

Department of Hydrobiology, Institute of Environmental Biology, Adam Mickiewicz University in Poznań, ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań, Poland

\* Corresponding author: [pikosz@amu.edu.pl](mailto:pikosz@amu.edu.pl)

### Abstract

Potential factors affecting the occurrence of filamentous algae include the morphometry of water bodies, the type of substrate and physicochemical conditions of the habitat. This study attempts to describe the individual filamentous algae species recorded in Poland, taking into account the trophic and ecological characteristics based on our own research and available literature data. Filamentous algae attached to the substrate as well as those forming free-floating patches (loose or dense mats) and crusts occur in all types of water bodies. Among the representatives of filamentous algae species, *Cladophora* have the greatest time-spatial range for they grow abundantly in all types of water bodies. In other parts of Poland, *Cladophora* species are most common in rivers and shallow lakes. In the typical filamentous algae community, *Cladophora*, *Spirogyra* and *Oedogonium* occur with the highest frequency; *Zygnema*, *Mougeotia*, *Microspora* and *Rhizoclonium* are also present, but with smaller frequency. According to our studies, distribution of filamentous algae species is correlated with the eutrophic index ( $PO_4^{3-}$ ,  $N-NO_3^-$ , Chl *a*), chlorides of anthropogenic origin and TDS.

**Key words:** filamentous algae, free-floating mat, *Cladophora*, *Oedogonium*, *Spirogyra*

## Introduction

Both (i) Chlorophyta – *Oedogonium*, *Cladophora* and (ii) Charophyta – *Spirogyra*, *Zygnema* as well as some taxa from (iii) Ochrophyta – *Vaucheria*, *Tribonema* are classified as macroscopic filamentous algae. Although filamentous algae have a simple structure, they are a very diverse group in terms of taxonomy and ecology (Van den Hoek et al. 1995; De Clerck et al. 2012). Taxonomic identification of filamentous algae is difficult and they grow in various habitats and environments. This group of algae is mostly cosmopolitan and occurs both in oligotrophic and eutrophic water ecosystems, from lentic to fast flowing water (Whitton 1970; Sheath & Cole 1992; Dodds & Gudder 1992). Traditional systematics of macroalgae is based on features such as morphology, cell biology, life history and reproductive strategies. There are many factors that affect the morphometric features, including the stage of development, seasonality, the content of nutrients in the water and the presence of all types of biotic/abiotic particles on the surface. Due to the morphological and phenotypical plasticity, many of the filamentous algae are difficult to identify.

Of the above-mentioned phylum, Chlorophyta (green algae) are most common in freshwater ecosystems, especially species from the *Cladophora* Kützing genus, which are primarily limited by phosphorus availability (Higgins et al. 2008; Malkin et al. 2010; Young et al. 2010; Messyasz et al. 2015a). *Cladophora* thalli may be attached to the aquatic plants or rocks, or they may float on the water surface. The thirty eight *Cladophora* taxa are represented by the following freshwater species: *Cladophora basiramosa* Schimdle, *C. pachyderma* (Kjellm.) Brand, *C. glomerata* var. *glomerata* (L.) Kütz., *C. glomerata* var. *crassior* (L.) Kütz., *C. rivularis* (L.) v.d. Hoek, *C. fracta* var. *fracta* (Mull. Ex.Vahl) Kütz., *C. fracta* var. *intricate* (Mull. Ex.Vahl) Kütz., *C. aegagropila* (L.) Rabenh. (= *Aegagropila linnaei*), *C. cornuta* Brand, *C. surera* Brand, *C. kosterae* Hoffm. & Tild.

They were classified into the genus of *Cladophora* by van den Hoek (1963), who reviewed in detail the history of this algal group in Europe. Much of the knowledge about *Cladophora* species in Poland comes from the reports of Starmach (1972), Chudyba (1965) and Pliński & Hindák (2012).

According to Leliaert & Coppejans (2003), *Cladophora* are characterized by a simple, siphonocladous thallus structure: branched, uniseriate filaments with multinucleate cells. Starmach (1972) described six taxonomic criteria

for the identification of these genera, which include: thalli color, branching types, structure and dimensions of cells, the general structure of a plant, basal cells and the shape of zoospores. *Cladophora* are often the main components in the structure of the “mat” (patch), while other types of filamentous algae are only detached fragments, tangled into *Cladophora* filaments. This is consistent with the literature data according to which mainly monoalgal mats occur (created by the *Cladophora* genus) or a small number of patches, consisting of several coexisting species (Khanum 1982; Pikosz & Messyasz 2015).

The most common species from this genus described in the available literature is *Cladophora glomerata*. Morphometric variability of *Cladophora glomerata* thalli from the mountain regions of the Skawa river in Poland, where the strong water flow has a positive effect on the development of *Cladophora*, was described in detail by Chudyba (1965). Furthermore, during her research on Oedogoniales, Mrozińska (1984) most frequently noted the occurrence of *Oedogonium intermedicum* and *Oedogonium undulatum*. Taxonomic identification of this algae group is based on generative cells (Mrozińska 1984). Likewise, *Spirogyra* spp., *Mougeotia* spp. and *Zygnema* spp. are the most popular filamentous algae in water ecosystems from Zygnemataceae (Kadłubowska 1972). However, the *Spirogyra* species identification has to be based on the process of conjugation and zygospores. Typical features of *Spirogyra* vegetative growth are: the type of cross walls, the cell width, and the number of chloroplasts (Berry & Lembi 2000; Hainz et al. 2009).

The previous studies of *Cladophora* in freshwaters have related to problems arising from nuisance blooms and food web interactions in water ecosystems, primarily in rivers (Whitton 1970; Graham et al. 1982; Dodds & Gudder 1992; Higgins et al. 2008; Power et al. 2008). However, filamentous algae are still poorly researched. This article deals with the role of individual species of filamentous algae in relation to habitat parameters. The objectives of this study were to determine (i) the diversity of filamentous algae and (ii) intraspecific differences within *Cladophora glomerata*, *C. rivularis* and *C. fracta*, and to describe (iii) the abiotic conditions, in which filamentous algae occur. The information about genera of filamentous algae and their preferred water ecosystems was obtained from the available literature.

## Materials and methods

### Study area

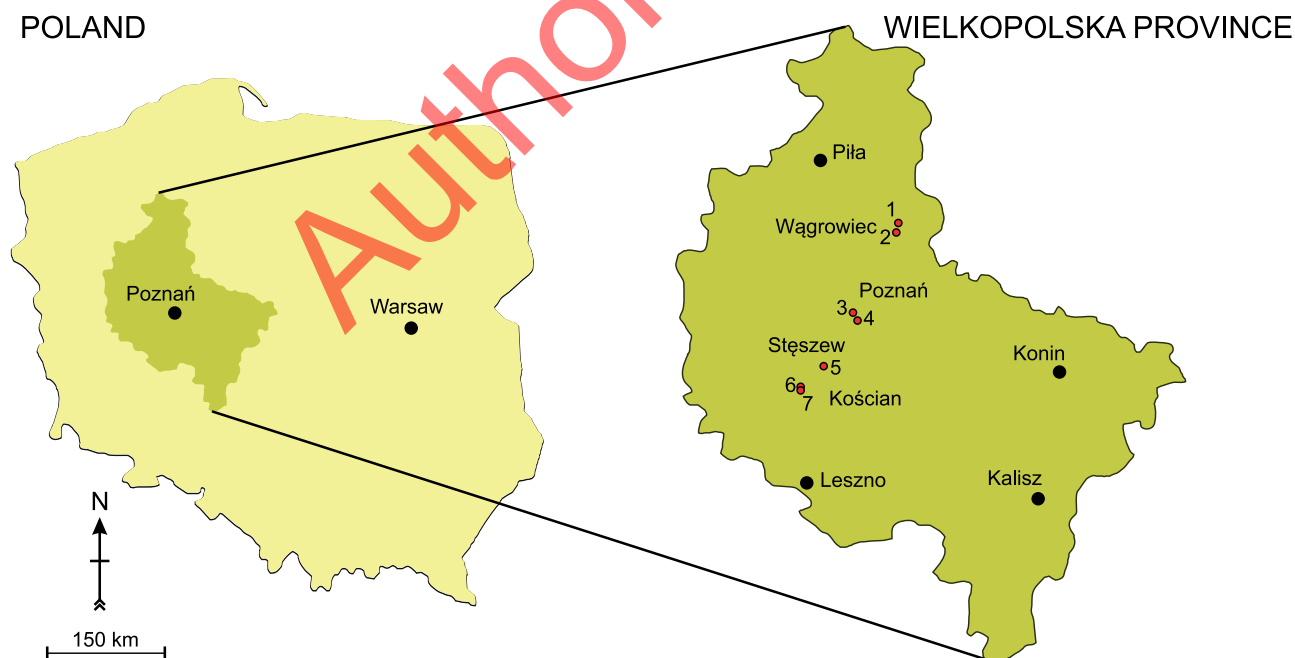
Samples of filamentous green algae were collected in summer of 2012, 2013, 2014 in different ecosystems, such as 3 rivers, 2 ponds, 1 lake and 1 water reservoir in the Wielkopolska Province. Sites of the filamentous algae distribution were marked on the map of the Wielkopolska Province (Fig. 1). Macroscopic filamentous algae with the dominance of *Cladophora glomerata* were sampled in Oporzyńskie Lake (52°55'N, 17°9'E) and in the lowland rivers: Nielba (52°48'N, 17°12'E; near Wągrowiec, ca. 50 km from Poznań), Samica Stęszewska (52°16'N, 16°41'E; Stęszew) and Mogilnica (52°9'N, 16°31'E; near Kamieniec), *C. rivularis* in a pond located in the village of Konojad (52°10'N, 16°31'E), *C. fracta* in the Malta reservoir (52°24'N, 16°58'E) and in a small, artificial pond (52°27'N, 16°55'E; Poznań).

### Field sampling and laboratory analyses

The color of thalli as well as the presence or absence and the type of branching were observed during the sampling. Purified thalli were stored

in plastic containers and their small portions were preserved in 4% formalin solution. Morphometric measurements to identify the species were carried out on the living and preserved material. Microscopic observations of the collected material were performed using a light microscope (Zeiss Axioskop 2 MOT), measurements of the length and width of cells from the main axes of filamentous algae were taken at  $\times 200$  and  $\times 400$  magnification. To determine the number of pyrenoids, the samples were stained with Lugol's solution. To determine the number of nuclei, the staining method with acetocarmine was used. The results were compared with morphometric data on filamentous algae from Poland included in the identification keys by Starmach (1972), Mrozińska (1984), Kadłubowska (1972), Pliński & Hindák (2012) and papers by Zulkifly et al. (2013), Malkin et al. (2008).

During the sampling, physicochemical parameters of water were measured: temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ), pH, dissolved oxygen (DO%), electrolytic conductivity ( $\text{EC } \mu\text{S cm}^{-1}$ ), and the Total Dissolved Solids (TDS  $\text{mg l}^{-1}$ ) using a YSI Professional Plus multifunctional probe. For a detailed analysis of the chemical parameters, water samples (500 ml) were collected and preserved with chloroform ( $\text{CHCl}_3$ ) and stored at  $-10^{\circ}\text{C}$  for further analysis. Using a spectrophotometer HACH DR 2800, the



**Figure 1**

Location of the study sites: 1 – Lake Oporzyńskie, 2 – Nielba river, 3 – Pond in Poznań, 4 – Malta Reservoir, 5 – Samica Stęszewska river, 6 – Pond in Konojad, 7 – Mogilnica river

color, the water turbidity and the concentration of orthophosphates, nitrates, ammonium nitrogen and sulfates were determined. Chlorophyll *a* (Chl *a*  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) concentration was determined by a spectrophotometer using ethanol as an extraction solvent. Water samples (1.5 l) for pigment analysis were filtered onto Whatman GF/F filters according to the ISO 10260 standard method.

### Determination of frequency

Frequency of filamentous algae (belonging to 15 genera) was estimated as the number of observations on the basis of the total number of samples from own samplings and those from the literature data – 70 sites (Czerwik-Marcinkowska 1997; Maciejczak & Czerwik-Marcinkowska 2010; Czerwik-Marcinkowska & Ziętarski 2011; Czerwik-Marcinkowska & Vončina 2012; Chudyba 1968; Krzyk 2001; Szymańska et al. 2015; Pieczyńska & Tarmanowska 1996; Starmach 1969; Endler et al. 2011; Pieczyńska 2008; Celewicz-Gołdyn & Kuczyńska-Kippen 2008; Celewicz-Gołdyn & Klimko 2008; Kuczyńska-Kippen et al. 2004; Messyasz & Rybak 2011; Messyasz et al. 2015a; Pikosz & Messyasz 2015; Jakubas et al. 2014; Ozimek 1990; 1992; Wołowski & Kowalska 2009; Żelazna-Wieczorek 2002; Jekatierynczuk-Rudczyk et al. 2012; Szoszkiewicz et al. 2010; Staniszewski et al. 2012; Grabowska 2006; Owsiany & Gąbka 2006; Hutorowicz 2006; Lenarczyk 2012; Dondajewska & Budzyńska 2009; Piątek & Piątek 2005).

### Numerical analyses

All the statistical analyses were performed using the CANOCO ver. 4.5 software (ter Braak & Šmilauer 2002). The Canonical Correspondence Analysis (CCA) to determine the relations between the species distribution and environmental variables was used. The Monte Carlo permutation test shows that chlorides, orthophosphates, total dissolved solids, nitrates and chlorophyll *a* were statistically significant ( $P < 0.05$ ).

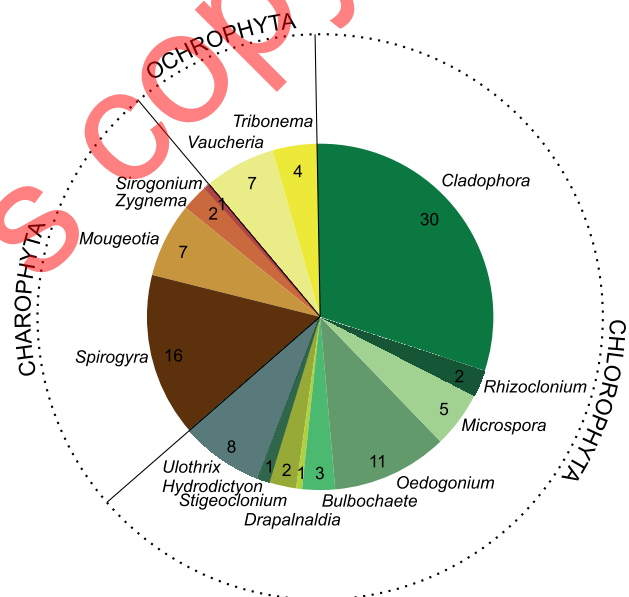
## Results

### Floristic diversity of filamentous algae in Poland

Based on the literature data (70 sites) and our own research (7 sites), the most frequently recorded

filamentous algae in freshwater ecosystems of Poland belong to 15 genera: *Cladophora*, *Rhizoclonium*, *Microspora*, *Oedogonium*, *Bulbochaete*, *Draparnaldia*, *Stigeoclonium*, *Hydrodictyon* and *Ulothrix* classified into the phylum Chlorophyta, *Spirogyra*, *Mougeotia*, *Zygnema*, *Sirogonium* classified into the phylum Charophyta, *Vaucheria* and *Tribonema* classified into the phylum Ochrophyta. The dominant (>10% of all genera) genus was *Cladophora* – about 30%, followed by *Spirogyra* – 16% and *Oedogonium* – 11% (Fig. 2).

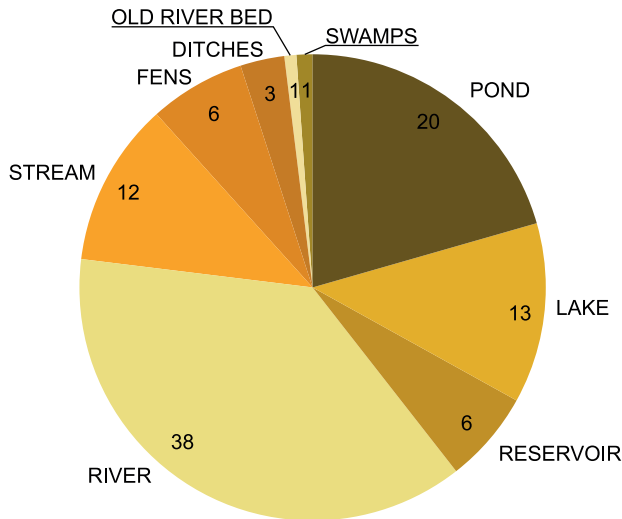
Based on the data, the most common habitats of filamentous algae were flowing (lotic) waters such as rivers and streams (50%), and standing (lentic) waters: ponds and lakes (Fig. 3). Only *Cladophora* occurred in all types of ecosystems. *Cladophora* and *Ulothrix* were usually found in lotic waters. *Cladophora* and *Spirogyra* were common in ponds and lakes.



**Figure 2**  
Floristic diversity of filamentous algae in freshwater ecosystems in Poland (numbers indicate the percentage contribution)

### Characteristics of filamentous algae

*Cladophora glomerata* (L.) Kützing (Fig. 4) was observed in rivers with comparable water velocity ( $0.15\text{--}1.85\text{ m s}^{-1}$ ) and a water depth ranging from 0.5 to 1.5 m. Long, dark green filaments of *Cladophora glomerata* occurred alone in the Samica Stęszewska river. Representatives of macroscopic filamentous



**Figure 3**

Types of ecosystems, in which filamentous algae were noted (numbers indicate the percentage contribution)

algae belonging to the genera: *Cladophora*, *Rhizoclonium*, *Oedogonium*, *Stigeoclonium* and *Vaucheria* were observed in the Mogilnica river (Table 1). There were 2 types of substrate: sand and hard substrate. Up to 2 m long filaments of *C. glomerata* with a small number of branching occurred on the former, and less than 20 cm long filaments with numerous branches dominated on the latter. Single filaments of *Stigeoclonium nanum* (Dillwyn) Kützing, *Rhizoclonium* sp. Kütz. and

*Oedogonium* sp. Kütz. ex Hirn occurred and tangled together. In the Nielba river, young filaments of *C. glomerata* were attached to the stones and mature filaments were free-floating on the water surface between macroscopic tubular forms of *Ulva* thalli. *Cladophora glomerata* occurred also in Oporzyńskie Lake, where it formed a dense, mostly monoalgal mat. *Cladophora rivularis* (L.) Hoek was often observed as filaments coexisting with *Oedogonium capillare* in a small agriculture pond. *C. rivularis* exhibits a great morphological variation due to the fact that cells of a varying width occur in the same filament (Fig. 5). Moreover, taxa from the genera *Tribonema*, *Ulothrix*, *Microspora*, *Spirogyra* and *Mougeotia* were observed, but only in early spring and only a few filaments. *Cladophora fracta* (Müller ex Vahl) Kütz. is the most characteristic taxon of the studied *Cladophora* species; its first, delicate and slender filaments are followed by yellow-green filaments, which do not reach a significant dominance in a mat. Species from Zygnemataceae (*Spirogyra* sp., *Zygnema* sp., *Mougeotia* sp.) often occurred as accompanying algae in the examined water ecosystems – the artificial pond in Poznań and the Malta Reservoir.

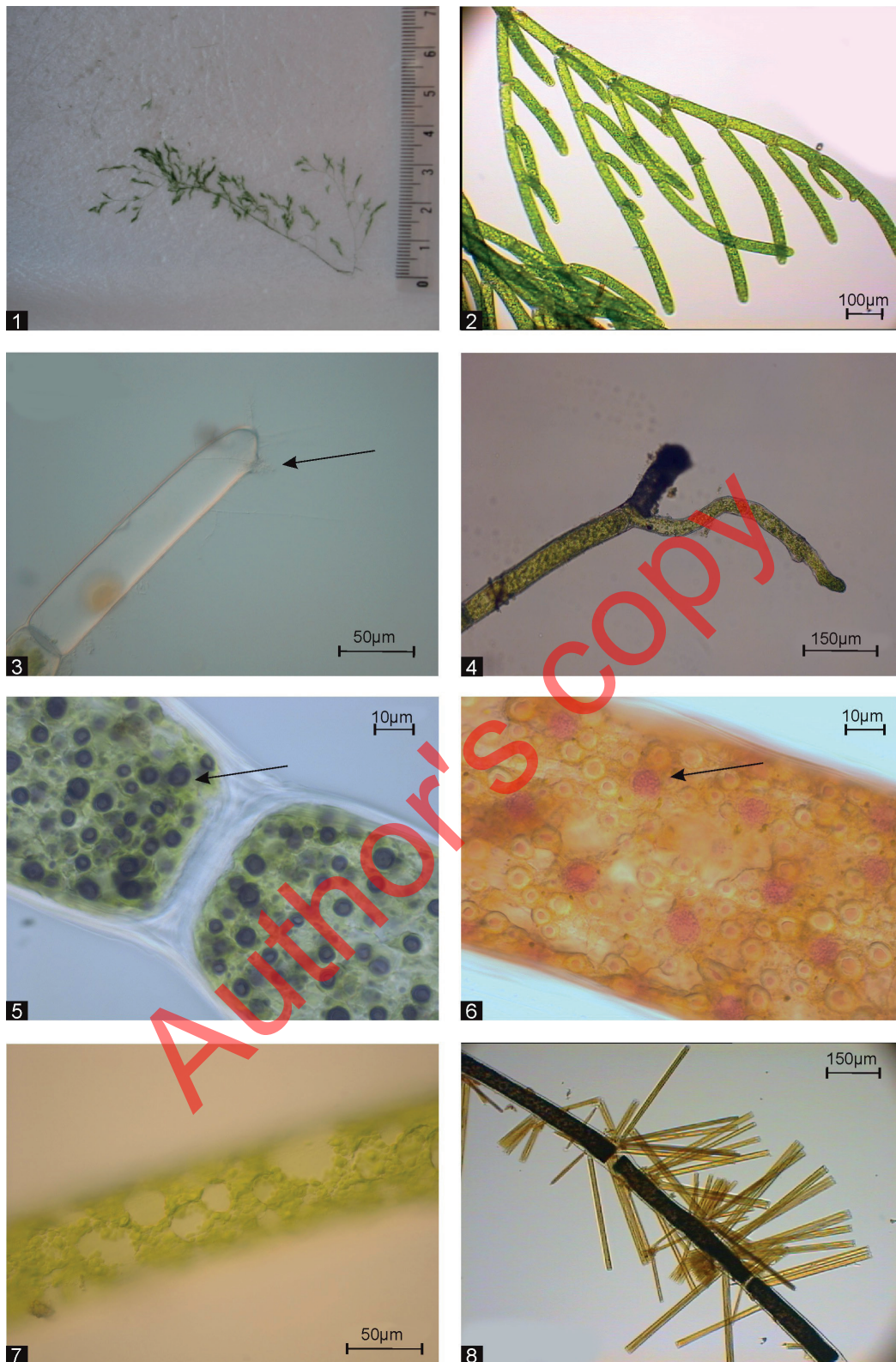
### Environmental gradients

The water temperature in the studied ecosystems was similar – about 20°C. Concentrations of ammonium nitrogen, nitrates and phosphates in

**Table 1**

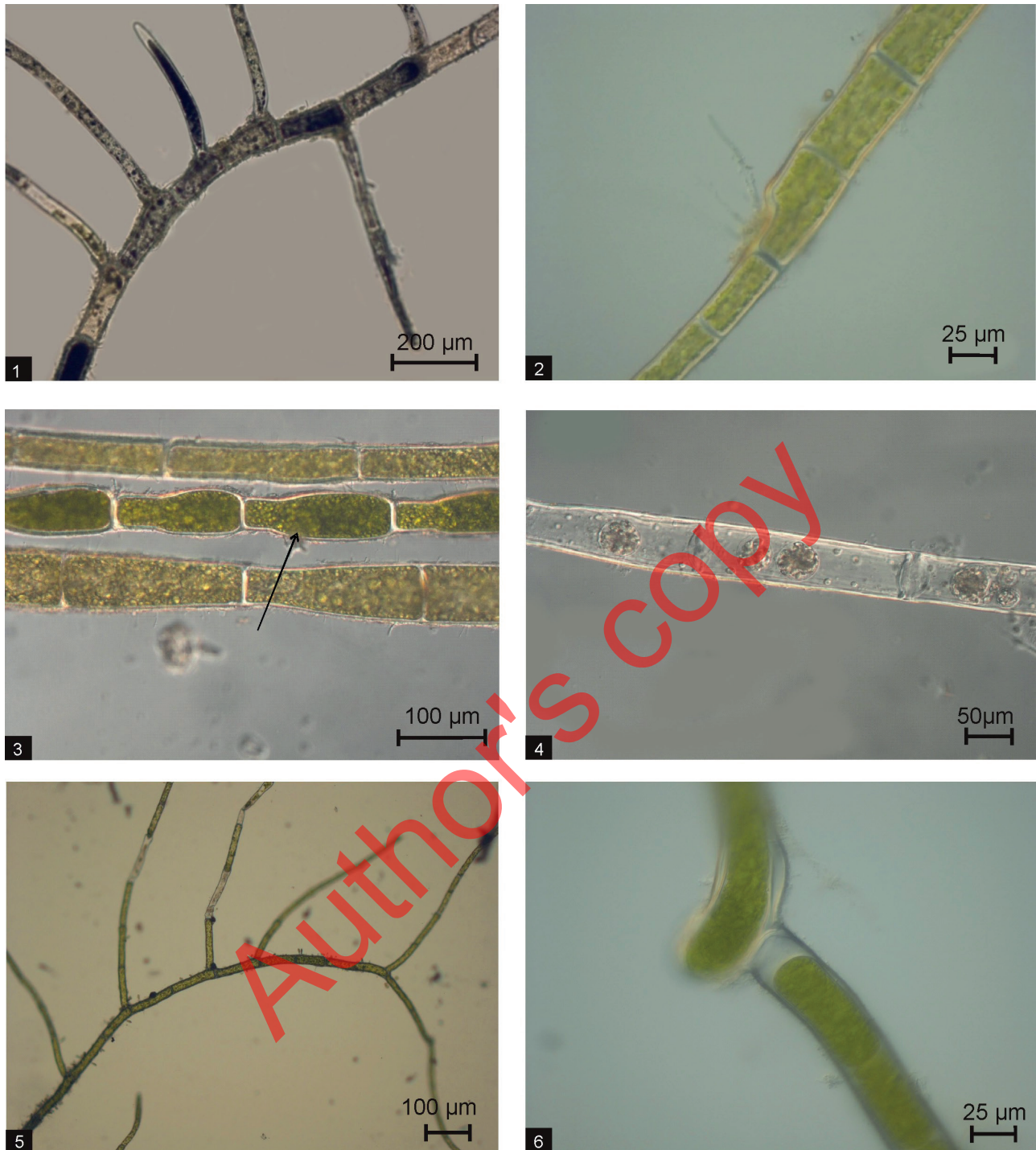
Characteristics of various filamentous algae patches at the study sites

dominant taxon	length and width of cells in $\mu\text{m}$ (min-max)	shape of chloroplast	diameter of pyrenoids ( $\mu\text{m}$ )	accompanying filamentous algae	forms	color	sites
<i>Cladophora glomerata</i>	223-634 47-131	reticulate	3-12	<i>Rhizoclonium</i> sp. <i>Vaucheria</i> sp.	attached to the bottom and stones	dark green	Nielba river
<i>Cladophora glomerata</i>	84-388 27-82	reticulate	4-10	absent	long filaments, attached to the bottom	dark green	Samica Sęszewska river
<i>Cladophora glomerata</i>	116-756 28-133	reticulate	3-6	<i>Rhizoclonium</i> sp. <i>Stigeoclonium nanum</i> <i>Oedogonium</i> spp. <i>Vaucheria</i> sp.	attached, free-floating	dark green	Mogilnica river
<i>Cladophora glomerata</i>	132-225 26-50	reticulate	5-7	<i>Oedogonium</i> sp. <i>Tribonema vulgare</i>	free-floating, dense mat	bright green	Lake Oporzyńskie
<i>Cladophora rivularis</i>	97-301 36-130	parietal	4-9	<i>Cladophora</i> sp. <i>Oedogonium capillare</i> <i>Ulothrix variabilis</i> <i>Tribonema aequale</i> <i>Tribonema vulgare</i> <i>Spirogyra</i> spp., <i>Mougeotia</i> sp. <i>Microspora</i> sp.	cotton-wool-like thick mat	bright green	Pond in Konojad (agriculture)
<i>Cladophora fracta</i>	50-135 17-25	parietal	3-7	<i>Cladophora glomerata</i> <i>Spirogyra</i> spp. <i>Mougeotia</i> sp.	dense mat in littoral zone (4 m from the shore), soft to the touch	yellow green	Malta Reservoir
<i>Cladophora fracta</i>	48-146 21-30	parietal	3-6	<i>Spirogyra</i> spp. <i>Mougeotia</i> spp. <i>Zygnema</i> sp. <i>Sirogonium</i> sp. <i>Cladophora</i> sp.	mat mainly slippery to the touch	yellow green	Pond in Poznań (artificial)



**Figure 4**

Photos of *Cladophora glomerata*: 1 – the overall view of young thalli; 2 – the number of thalli branched in the apical part; 3 – apical cell with a hole; 4 – basal cell; 5 – stained pyrenoids; 6 – stained nuclei; 7 – reticulate chloroplast; 8 – diatoms on the surface of cell wall



**Figure 5**

Photos of *Cladophora rivularis* (1-4): 1 – branches diverge at right angles; 2 – morphometric variability; 3 – akinete; 4 – zoospores; and *Cladophora fracta* (5-6): 5 – slender filaments with branches at an obtuse angle; 6 – fragmentation of the thallus

the water at the studied sites reflect high levels of fertility (Table 2). The highest content of  $\text{NH}_4^+$  was determined in the Konojad pond and in the Nielba river,  $\text{N-NO}_3^-$  – in the Mogilnica and Nielba

ivers, and the content of  $\text{P-PO}_4^{3-}$  above  $1 \text{ mg l}^{-1}$  was recorded in the Mogilnica river. At the other sites, the amount of orthophosphate was at a similar level. The lowest value of  $\text{N-NO}_3^-$  was determined in the

**Table 2**

Mean values of physicochemical factors of water for the surveyed sites (L.O. – Lake Oporzyńskie, M.R. – Malta Reservoir, P.P. – pond in Poznań, P.K. – pond in Konojad, N.R. – Nielba river, S.S.R. – Samica Stęszewska river, M.R. – Mogilnica river

Parameters	Unit	L.O. n=46	M.Res. n=12	P.P. n=17	P.K. n=59	N.R. n=10	S.S.R. n=10	M.R. n=33
Temp.	°C	19.3	23.7	22.1	21.4	21.0	18.9	20.4
pH		8.4	8.6	8.3	8.8	7.9	7.5	7.9
Depth	cm	120	41.5	35	51	94	44	43
Color	PtCo	74	21	12.8	18.8	22	28	38
Turb.	FAU	3.5	4.2	3.3	5.2	4.5	0.3	5.4
EC	μS cm <sup>-1</sup>	551	658	387	946	779	532	838
TDS		259	442	198	532	538	516	491
N-NO <sub>3</sub>		0.50	0.20	0.36	0.26	0.82	0.16	0.85
NH <sub>4</sub>		0.57	0.25	0.59	0.81	0.82	0.28	0.73
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	mg l <sup>-1</sup>	69	81	46	109	140	67	63
NaCl		114	121	59	309	101	86	116
Cl <sup>-</sup>		63	73	36	105	61	52	70
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>		0.23	0.22	0.27	0.27	<b>0.23</b>	0.24	1.13
DO	%	111	93	99	100	87	91	73
Chl <i>a</i>	μg l <sup>-1</sup>	25.2	7.2	4.95	1.86	3.2	6.4	8.25

Samica Stęszewska river (0.16 mg l<sup>-1</sup>). Filamentous algae were observed in a wide range of electrolytic conductivity (EC) and the Total Dissolved Solids (TDS) – from 387 to 946 (μS cm<sup>-1</sup>) and 198-538 (mg l<sup>-1</sup>), respectively. The pH of water in all ecosystems was alkaline (9 > pH ≥ 7.5).

The relationships between 16 environmental factors and the filamentous algae distribution in water ecosystems were investigated. The Monte Carlo permutation test was used with 999 permutations to reduce the number of ecological variables and revealed that the water depth and concentration of chlorides, orthophosphates, nitrates, total dissolved solids and chlorophyll *a* are independent environmental gradients, significantly related to the composition of filamentous algae assemblages

( $p < 0.05$ , Table 3). The content of chlorophyll *a*, nitrates, orthophosphates, sulfates and water pH, dissolved oxygen, color and water turbidity were also correlated with the first CCA axis, while the second CCA axis was associated with the water depth, electrolytic conductivity, total dissolved solids and concentration of chlorides and sulfates (Table 4).

**Table 3**

Results of the forward selection of environmental parameters (Monte Carlo permutation test in CCA,  $P < 0.005$  are statistically significant)

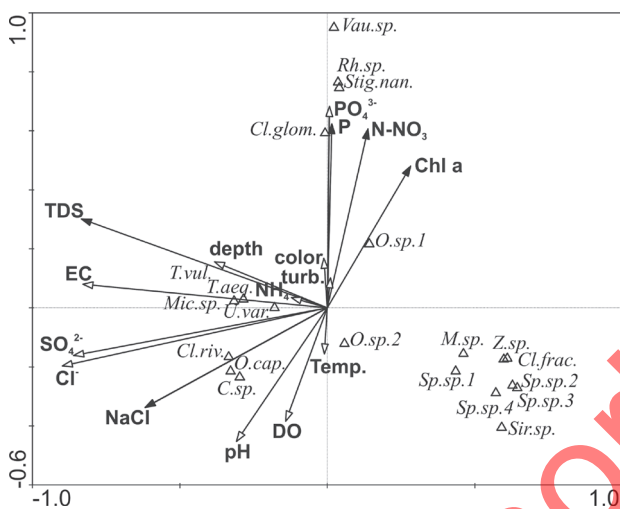
Parameter	λ	P	F
Cl <sup>-</sup>	0.67	0.001	18.41
P-PO <sub>4</sub>	0.36	0.001	10.41
TDS	0.25	0.001	7.71
N-NO <sub>3</sub>	0.17	0.001	5.28
Chl <i>a</i>	0.15	0.001	5.09
Depth	0.15	0.001	4.98

**Table 4**

Pearson's correlation coefficients between CCA ordination scores (the first three axes) for filamentous algae and environmental factors ( $n = 187$ ;  $p < 0.05$  are statistically significant and given in bold)

	CCA AXIS 1 Eigenvalue: 0.79	CCA AXIS 2 Eigenvalue: 0.66	CCA AXIS 3 Eigenvalue: 0.23
AXIS 1	-	0.03	<b>-0.51</b>
AXIS 2	0.03	-	0.04
AXIS 3	<b>-0.51</b>	0.04	-
Depth	-0.10	<b>-0.49</b>	0.00
Chl <i>a</i>	<b>0.61</b>	0.20	<b>-0.44</b>
Temp.	-0.01	0.21	0.18
pH	<b>-0.50</b>	-0.19	<b>0.57</b>
DO	<b>-0.30</b>	-0.27	<b>0.38</b>
EC	-0.11	<b>-0.78</b>	-0.01
TDS	0.20	<b>-0.74</b>	-0.20
N-NO <sub>3</sub>	<b>0.33</b>	0.14	<b>-0.33</b>
P-PO <sub>4</sub>	<b>0.54</b>	0.04	<b>-0.66</b>
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	<b>-0.36</b>	<b>-0.85</b>	0.19
Color	<b>0.40</b>	-0.14	<b>-0.54</b>
Turb.	<b>0.39</b>	-0.13	-0.25
Cl <sup>-</sup>	-0.25	<b>-0.86</b>	0.05

The occurrence of *Cladophora glomerata*, which was the most common species of all filamentous algae, and the accompanying taxa (*Rhizoclonium* sp., *Vaucheria* sp. and *Stigeoclonium nanum*) was strongly correlated with water fertility (high values of chlorophyll *a*, nitrates and orthophosphate). The occurrence of *C. rivularis*, *Oedogonium capillare* and *Cladophora* sp. was correlated with high concentrations of chlorides and sulfates in shallow water ecosystems. At the same time, the occurrence of *Cladophora fracta* and Zygnemataceae was associated with inconspicuous TDS and electrolytic conductivity (Fig. 6).



**Figure 6**

Canonical correspondence analysis (CCA) diagram showing the correlation between species distribution and environmental variables. All axes were found to be highly significant ( $p < 0.005$ ; Monte Carlo Simulation). Vau. sp. – *Vaucheria* sp., Rh. sp. – *Rhizoclonium* sp., Stig. nan. – *Stigeoclonium nanum*, Cl. glom. – *Cladophora glomerata*, O. sp.1 – *Oedogonium* sp. 1, Cl. glob. – *Cladophora globulina*, O. sp. 2 – *Oedogonium* sp. 2, M. sp. – *Mougeotia* sp., Z. sp. – *Zygnema* sp., Cl. frac. – *Cladophora fracta*, Sp.sp.1. *Spirogyra* sp. 1, Sp.sp.2 – *Spirogyra* sp. 2, Sp.sp.3. – *Spirogyra* sp. 3, Sp.sp.4. – *Spirogyra* sp. 4, Sir. sp. – *Sirogonium* sp., C. sp. – *Cladophora* sp., O.cap. – *Oedogonium capillare*, Cl.riv. – *Cladophora rivularis*, Mic. sp. – *Microspora* sp., U. var. – *Ulothrix variabilis*, T. vul. – *Tribonema vulgare*, T. aeg. – *Tribonema aequale*

## Discussion

### Floristic diversity of filamentous algae

Our study and the review of the literature data relate to *Cladophora* species and the accompanying filamentous algae in Poland. According to Whitton (1970), *Cladophora glomerata*, *C. rivularis* and *C. fracta* are the most common species of the genus *Cladophora* occurring in eutrophic freshwater ecosystems. Our research confirms this finding, because we found all three species within a short distance between the studied sites in the Wielkopolska Province. Most of the aquatic ecosystems in Poland are characterized by moderate or highly trophic conditions (Gołdyn et al. 2013; Messyasz et al. 2015b) and therefore, they are potential habitats of filamentous algae. Additionally, small lakes (1-5 ha) dominate in Poland and account for 44% of the total number of lakes (Choiński 1991), where filamentous algae, i.e. Oedogoniales and Zygnematales occur and may form dense mats. As reported in the literature, however, the largest numbers of the taxon *Oedogonium* were observed in small water bodies, such as small ponds, pools, roadside ditches, marshes, oxbow lakes, lakes, reservoirs, rivers (Mrozińska-Weeb 1976; Burchardt 1977; Siemiński 1979; Kuczyńska-Kippen 2009; Pikosz & Messyasz 2015). The large-scale occurrence of *Cladophora* was previously observed in the Great Lakes of North America (Erie, Michigan, Ontario) in the 1950s and 1980s (Higgins et al. 2008). The extensive development of *C. glomerata* was also observed in the lake surveyed during our research (Oporzyńskie Lake) – the species densely covered the water column (Messyasz et al. 2015c). The maximum development of *Cladophora glomerata* in the Skawa river was determined by a few factors, such as the type of substrate, temperature (optimum growth in 15-20°C) and in pH of water (optimum 8.8) (Chudyba 1968). We also noticed that *Stigeoclonium nanum* occurred in small numbers in the Mogilnica river – only a few filaments entangled with *Cladophora glomerata*. Similar observations were made in the Jalala river in spring, where *S. nanum* was found attached to other algae growing in slow flowing waters (Akhtar & Rehman 2009). Species belonging to the genus *Stigeoclonium* show a wide range of ecological tolerance and high morphological plasticity, and may be found in different ecosystems, e.g. rivers, lakes, canals and ponds (Francke 1982). Only free-floating forms of *Spirogyra* species were observed during our research, which confirms the

previous studies that the genus is represented mostly by free-floating (rarely attached) filamentous algae (Chalotra et al. 2013).

Our study demonstrates that representatives of filamentous algae may occur in all types of water ecosystems, such as lakes or rivers, despite the fact that these habitats are significantly different in term of their physicochemical parameters. Their occurrence is, among others, a result of a high tolerance to changes in temperature and light conditions.

### Characteristics of filamentous algae

Numerous floristic data confirm the occurrence of filamentous algae in lowland lakes and rivers, but the studies usually do not take the structure of species and ecological characteristics into account (South & Whittick 1987; Pieczyńska 2008). Knowledge of filamentous algae from Poland, particularly of the genera *Oedogonium*, *Spirogyra* and *Cladophora* (most commonly recorded), comes from a few sources. The filamentous algae are an important component of the littoral communities in aquatic ecosystems, because they are one of the main primary oxygen producers. Nonetheless, studies of the vegetation in the littoral zone generally relate to macrophytes (Cambra & Aboal 1992). In Spain, the most common filamentous algae belonged to 7 genera, including the most frequent *Oedogonium*, *Spirogyra* and *Mougeotia* (Cambra & Aboal 1992). In Poland, Chudyba (1968) divided *Cladophora glomerata* from the Skawa river into two groups based on the morphological variation. Samples collected from the fast flowing water were referred to as *C. glomerata rheobenthicum* and from the slow flowing water – as *C. glomerata limnobenthicum*. We also observed intraspecific variability between *C. glomerata* from the surveyed rivers and from the lake. Thalli of *C. glomerata* in the lentic waters were fruticose and relatively short (up to 20 cm), while in the river waters – long and characterized by a small number of branches. Significant changes at the cellular level (length, width, the number of pyrenoids and cell nuclei) were observed in the filaments of *C. glomerata* collected from the lowland rivers (Nielba, Mogilnica, Samica Stęszewska). These changes could result mainly from hydrodynamic (diverse water flow) and thermal differences in the surveyed habitats. Morphological plasticity is characteristic of filamentous algae, which frequently causes problems during taxonomic identification (van den Hoek 1963; Starmach 1972). Even the degree of branching

in each individual plant can affect the cell size (Ross 2006). Some information on the cell structure, morphological variation and biology of *Cladophora* genera are provided by van den Hoek (1963) and Whitton (1970).

### Environmental gradients

According to van den Hoek (1963) and Robinson & Hawkes (1986), physiological requirements of most freshwater filamentous algal species restrict their distribution to eutrophic conditions (high nutrient concentrations and alkaline conditions). In addition, *Cladophora* species grow well at temperatures ranging from 15 and 25°C, in hard and alkaline waters (Wong et al. 1978, Whitton 1970). A similar trend was observed in the case of other filamentous green algae, i.e. *Cladophora glomerata*, *C. rivularis* and *C. fracta* – relatively high values of nutrients were determined in our study when analyzing the chemical composition of their habitats. Although all these species occurred in shallow waters, the optimum for *Cladophora glomerata* development was in the conditions of high concentrations of nitrate and orthophosphate and *Cladophora rivularis* requires a high content of chlorides and sulfates. There are other macroscopic green algae species such as representatives of *Ulva*, which occur mostly in eutrophic waters with high concentration of NaCl of anthropogenic origin (Messyasz & Rybak 2011; Messyasz et al. 2015a).

On the other hand, small values of TDS and electrolytic conductivity characteristic of slightly eutrophic waters (e.g. the pond in Poznań) were clearly favored by *Cladophora fracta*. Moreover, the accompanying Zygnemataceae taxa occur mainly in waters rich in dissolved oxygen and often form a filamentous mass overgrowing aquatic plants (Worobiec & Worobiec 2008). From environmental factors, both nitrogen depletion and light intensity have been regarded as key factors inducing the conjugation of *Spirogyra* (Zwirn et al. 2013). Additionally, the low level of nutrients determines the development and growth of *Spirogyra* filaments, rather than water temperature (Wongsawad & Peerapornpisal 2015). The obtained data show that individual species of filamentous algae occurred in specific environmental conditions.

### Conclusions

1. Despite the common occurrence of filamentous

- algae in Poland, they have been studied very superficially.
2. Large-scale development of filamentous algae corresponds to eutrophic water conditions.
  3. The following environmental factors (Cl<sup>-</sup>, TDS, water depth, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, Chl *a*) were statistically significant for the occurrence of filamentous algae.
  4. Species from *Cladophora*, *Oedogonium* and *Spirogyra* are most frequent in water ecosystems in Poland.
  5. The results also demonstrated that more data are required on the growth of filamentous algae species in small water bodies, lakes and rivers to more accurately assess their role in the entire littoral community.

## Acknowledgements

The study was supported by the National Science Center grant No. 2014/13/B/NZ8/04690. Special thanks to Dr. Maciej Gąbka and Dr. Emilia Jakubas for their help in statistical analyses. Marta Pikosz is a scholarship holder of Adam Mickiewicz University Foundation for the academic year 2015/2016.

## References

- Akhtar, N., Rehman, S.R. (2009). Some members of ulotrichales from Jalala, District Mardan, Pakistan. *Pakistan Journal of Plant Sciences* 15(1): 19-30.
- Berry, H.A., Lembi, C.A. (2000). Effect of temperature and irradiance on the seasonal variation of a *Spirogyra* (Chlorophyta) population in a Midwestern Lake (U.S.A.). *Journal of Phycology* 36: 841-851. DOI: 10.1046/j.1529-8817.2000.99138.x.
- Burchardt, L. (1977). Zmiany w składzie fitoplanktonu jeziora Pątnowskiego odbiornika wód podgrzanych i ścieków z cukrowni (1972/73). *Seria Biologia* 8: 88.
- Cambra, J., Aboal, M. (1992). Filamentous green algae of Spain: distribution and ecology. *Limnética* 8: 213-220.
- Celewicz-Góldyn, S., Klimko, M. (2008). Algal flora of the ecological area "Jezioro Umultowskie" (Lake Umultowskie). In R. Góldyn, P. Klimaszuk, N. Kuczyńska-Kippen, R. Piotrowicz (Eds), *The Functioning and Protection of Water Ecosystems* (pp. 17-20). Poznań.
- Celewicz-Góldyn, S., Kuczyńska-Kippen, N. (2008). Spatial distribution of phytoplankton communities in a small water body. *Rocz. AR Pozn. 387, Botanica Steciana* 12: 15-21.
- Chalotra, P., Gaiand, M., Anand, V.K. (2013). Morpho-Taxonomic Studies on the Genus *Spirogyra* Link (Chlorophyta) Occuring in Fresh Water Bodies of Jammu, Jammu And Kashmir. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science* 2(5): 01-10.
- Choiński, A. (1991). *Katalog jezior Polski - Pojezierze Pomorskie*. Poznań. Wyd. UAM.
- Chudyba, H. (1965). *Cladophora glomerata* and accompanying algae in the Skawa River. *Acta Hydrobiologica* 7(1): 93-126.
- Chudyba, H. (1968). *Cladophora glomerata* and concomitant algae in the River Skawa. Distribution and conditions of appearance. *Acta Hydrobiologica* 10: 39-84.
- Czerwik-Marcinkowska, J. (1997). *Studium systematyczno-ekologiczne glonów i sinic występujących w biotopach wodnych na terenie Świętokrzyskiego Parku Narodowego*. Unpublished doctoral dissertation, Zakład Botaniki, WSP Kielce.
- Czerwik-Marcinkowska, J., Vončina, G. (2012). Algoflora and vascular flora in the eutrophic fens of the Pieniny National Park (South Poland). *Rocz. AR Pozn. 391, Botanica Steciana* 16: 55-66.
- Czerwik-Marcinkowska, J., Ziętarski, M. (2011). Algae as bioindicators of water quality in the Chańcza water reservoir. *Rocz. AR Pozn. 390, Botanica Steciana* 15: 81-89.
- De Clerck, O., Bogaert, K.A., Leliaert, F. (2012). Diversity and Evolution of Algae. *Advances in Botanical Research* 64: 55-86.
- Dodds, W.K., Gudder, D.A. (1992). The ecology of *Cladophora*. *Journal of Phycology* 28(4): 415-427.
- Dondajewska, R., Budzyńska, A. (2009). The influence of filamentous green algae on chlorococcal algae (*Desmodesmus* spp.). *Oceanological and Hydrobiological Studies* 38(2): 21-25.
- Endler, Z.W., Rychter, A., Juśkiewicz-Swaczyna, B. (2011). Zachowanie wartości przyrodniczych Mierzei Wiślanej i Zalewu Wiślanego w kontekście przemian cywilizacyjnych. In J. Łabanowski (Ed.), *Rozprawy naukowe i zawodowe Państwowej Wyższej Szkoły Zawodowej w Elblągu* 13: 5-20. Elbląg. PWSZ.
- Francke, J.A. (1982). Morphological plasticity and ecological range in three *Stigeoclonium* species (Chlorophyceae, Chaetophorales). *British Phycological Journal* 17(2): 117-133.
- Góldyn, R., Messyasz, B., Domek, P., Windhorst, W., Hugenschmidt, C. et al. (2013). The response of Lake Durowskie ecosystem to restoration measures. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*, 8(3): 43-48.
- Grabowska, M. (2006). Plankton roślinny zbiornika Siemianówka. In A. Górniak (Ed.), *Ekosystem zbiornika Siemianówka w latach 1990-2004 i jego rekultywacja*.

- Białystok. Wydawnictwo Uniwersytetu w Białymstoku.
- Graham, J.M., Auer, M.T., Canale, R.P., Hoffmann, J.P. (1982). Ecological studies and mathematical modeling of *Cladophora* in Lake Huron. 4. Photosynthesis and respiration as functions of light and temperature. *Journal of Great Lakes Research* 8: 100-111.
- Guiry, M.D., Guiry, G.M. (2015). *AlgaeBase. World-wide electronic publication*. National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 05 May 2015.
- Hainz, R., Wöber, C., Schagerl, M. (2009). The relationship between Spirogyra (Zygnematophyceae, Streptophyta) filament type groups and environmental conditions in Central Europe. *Aquatic Botany* 91: 173-180. DOI:10.1016/j.aquabot.2009.05.004.
- Higgins, S.N., Malkin, S.Y., Howell, T.E., Guildford, S.J., Campbell, L. et al. (2008). An ecological review of *Cladophora glomerata* (Chlorophyta) in the Laurentian Great Lakes. *Journal of Phycology* 44(4): 839-854. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2008.00538.x.
- Hutorowicz, A. (2006). *Vallisneria spiralis* L. (Hydrocharitaceae) in Lakes in the Vicinity of Konin (Kujawy Lakeland). *Biodiversity Research and Conservation* 1(2): 154-158.
- Jakubas, E., Gąbka, M., Joniak, T. (2014). Factors determining the distribution of reophil and protected *Hildenbrandia rivularis* (Liebmann) J. Agardh 1851, the Rhodophyta freshwater species, in lowland river ecosystems. *Polish Journal of Ecology* 62: 679-693. DOI: 10.3161/104.062.0412.
- Jekatierynczuk-Rudczyk, E., Grabowska, M., Ejsmont-Karabin, J., Karpowicz, M. (2012). Assessment of trophic state of four lakes in the Suwałki Landscape Park (NE Poland) based on the summer phyto- and zooplankton in comparison with some physicochemical parameters. In K. Wołowski, I. Kaczmarska, J. Ehrman, A.Z. Wojtal (Eds). *Phycological Reports: Current advances in algal taxonomy and its applications: phylogenetic, ecological and applied perspective. A volume dedicated to Professor J. Siemińska on the 90th anniversary of her birthday* (pp. 205-225). Institute of Botany Polish Academy of Sciences, Kraków.
- Kadłubowska, J.Z. (1972). *Flora Polski: Zygnemaceae (Chlorophyta V. Conjugales)*. *Flora Ślaskowa* Polski, Tom 12A, PWN, Kraków.
- Khanum, A. (1982). An ecological study of freshwater algal mats. *Bot. Bull. Academia Sinica* 23: 89-104.
- Krzyk, A. (2001). New localities of several species of Vaucheria (Xanthophyceae) in Poland. *Polish Botanical Journal* 46(2): 169-174.
- Kuczyńska-Kippen, N. (2009). *Funkcjonowanie zbiorowisk planktonu z zróżnicowanych siedliskowo drobnych zbiornikach wodnych Wielkopolski*. 5-504. BONAMI Wydawnictwo - Drukarnia, Poznań.
- Kuczyńska-Kippen, N., Messyasz, B., Nagengast, B. (2004). Struktura ugrupowan peryfitonowych Jeziora Wielkowiejskiego. *Rocz. AR Pozn. 363, Botanica Steciana* 7: 175-191.
- Leliaert, F., Coppejans, E. (2003). The marine species of *Cladophora* (Chlorophyta) from the South African East Coast. *Nova Hedwigia* 76(1-2): 45-82.
- Lenarczyk, J. (2012). Różnorodność taksonomiczna zielenicy (Chlorophyta) w sześciu wysokogórskich jeziorach polskiej części Tatr. *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica* 19(2): 503-523.
- Maciejczak, B., Czerwik-Marcinkowska, J. (2010). Macrophytes, cyanobacteria and algae of the "Brodzkie Lake" in the Małopolska Upland (southern Poland) – preliminary study. *Rocz. AR. Pozn., 389, Botanica Steciana*, 14: 67-76.
- Malkin, S.Y., Dove, A., Depew, D., Smith, R.E., Guildford, S.J. et al. (2010). Spatiotemporal patterns of water quality in Lake Ontario and their implications for nuisance growth of *Cladophora*. *Journal of Great Lakes Research* 36(3): 477-489.
- Messyasz, B., Pikosz, M., Schroeder, G., Łęska, B., Fabrowska, J. (2015a). Identification and Ecology of Macroalgae Species Existing in Poland. Chapter 2, In S.K. Kim, K. Chojnacka (Eds.), *Marine Algae Extracts: Processes, Products and Applications*, First Edition. 17-39. Wiley -VCH, ISBN: 978-3-527-33708-8.
- Messyasz, B., Gąbka, M., Barylski, J., Nowicki, G., Lamentowicz, Ł. et al. (2015b). Phytoplankton, culturable bacteria and their relationships along environmental gradients in a stratified eutrophic lake. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences* 10(1): 41-52.
- Messyasz, B., Łęska, B., Fabrowska, J., Pikosz, M., Rój, E. et al. (2015c). Biomass of freshwater *Cladophora* as a raw material for agriculture and the cosmetic industry. *Open Chemistry* 13: 1108-1118. DOI: 10.1515/chem-2015-0124.
- Messyasz, B., Rybak, A. (2011). Abiotic factors affecting the development of *Ulva* sp. (Ulvophyceae; Chlorophyta) in freshwater ecosystems. *Aquatic Ecology* 45(1): 75-87. DOI: 10.1007/s10452-010-9333-9.
- Mrozińska, T. (1984). *Zielenice (Chlorophyta) Edogoniowce (Oedogoniales)*, *Flora Polski*, PWN, Warszawa-Kraków.
- Mrozińska-Weeb, T. (1976). A study on epiphytic alga of the order Oedogoniales on the basis of materials from Southern Poland. *Fragmenta Floristica et Geobotanica* 22(1-2): 147-227.
- Owsianny, P.M., Gąbka, M. (2006). Spatial heterogeneity of biotic and abiotic habitat conditions of the lake-bog ecosystem Kuźniczek (NW Poland). *Limnological Review* 6: 223-231.
- Ozimek, T. (1990). Aspects of ecology of a filamentous alga in a

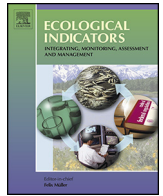
- eutrophic lake. *Hydrobiologia* 191: 23-27.
- Ozimek, T. (1992). Makrofity zanurzone i ich relacje z glonami w jeziorach o wysokiej trofii. *Wiadomości Ekologiczne* 38: 13-34.
- Piątek, J., Piątek, M. (2005). *Vaucheria dichotoma* and bacteria in the sulphuric saline habitats of the Owczary Reserve (Central Poland). *Polish Botanical Journal* 50(2): 213-219.
- Pieczynska, E. (2008). Eutrophication of shallow lakes – importance of macrophytes. *Wiadomości Ekologiczne* 54(1): 3-28.
- Pieczynska, E., Tarmanowska, A. (1996). Effect of decomposing filamentous algae on the growth of *Elodea canadensis* Michx. (a laboratory experiment). *Aquatic Botany* 54: 313-319.
- Pikosz, M., Messyasz, B. (2015). Composition and seasonal changes in filamentous algae in floating mats. *Oceanological and Hydrobiological Studies* 44(2): 273-281.
- Pliński, M., Hindák, F. (2012). Flora Zatoki Gdańskiej i wód przyległych (Bałtyk Południowy). Zielonice - Chlorophyta (Green Algae). Part one: *Filamentous green algae* (7/2). Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, ISBN 978-83-7326-902-6.
- Power, M.E., Parker, M.S., Dietrich, W.E. (2008). Seasonal reassembly of river food webs under a Mediterranean hydrologic regime: floods, droughts, and impacts of fish. *Ecological Monographs* 78: 263-282.
- Robinson, P.K., Hawkes, H.A. (1986). Studies on the growth of *Cladophora glomerata* in laboratory continuous-flow culture. *British Phycological Journal* 21: 437-444.
- Ross, S. (2006). Molecular phylogeography and species discrimination of freshwater Cladophora (Cladophorales, Chlorophyta) in North America. Unpublished M.Sc. Thesis. University of Waterloo, Waterloo, Ontario, Canada.
- Sheath, R.G., Cole, K.M. (1992). Biogeography of stream macroalgae in North America. *Journal of Phycology* 28: 448-460.
- Sieminiak, D. (1979). Some interesting Species of Oedogonium (Chlorophyta) from Upper Silesia. *Fragmenta Floristica et Geobotanica* 25(3): 449-457.
- South, G.R., Whittick, A. (1987). *Introduction to Phycology*. (pp. 220-223). Blackwell Science, Oxford.
- Staniszewski, R., Jusik, S., Kupiec, J. (2012). Variability of taxonomic structure of aquatic macrophytes according to major modifications of lowland and upland rivers with different water trophy. *Nauka Przyroda i Technologie* 6(2): 22.
- Starmach, K. (1969). *Hildenbrandtia rivularis* and associating it algae in the stream Cedronka near Wejherowo (Gdańsk voivode). *Fragmenta Floristica et Geobotanica* 15(4): 487-501.
- Starmach, K. (1972). *Filamentous green algae: Ulotrichales, Ulvales, Prasiolales, Sphawroaleales, Cladophorales, Chaetophorales, Trentepohliales, Siphonales, Dichotomosiphonales*. Flora słodkowodna Polski, Tom 10, PWN, Warszawa-Kraków.
- Szoszkiewicz, K., Kayzer, D., Staniszewski, R., Dawson, F.H. (2010). Measures of tendency of aquatic habitat parameters: application to river macrophyte communities. *Polish Journal of Ecology* 58(4): 693-706.
- Szymańska, H., Krzyk, A., Mętrak, M. (2015). Some species of Oedogoniales (Chlorophyceae) from small astatic water bodies in the post-agricultural landscape (Masurian Landscape Park, NE Poland). *Phytotaxa* 192(3): 121-144. DOI: 10.11646/phytotaxa.192.3.1.
- ter Braak, C.J.F., Šmilauer P. (2002). CANOCO reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: software for canonical community ordination (version 4.5). Microcomputer Power, Ithaca, 500 pp.
- Van Den Hoek, C. (1963). *Revision of the European species of Cladophora*. E.J. Brill, Leiden.
- Van den Hoek, C., Mann, D.G., Jahns, H.M. (1995). *Algae. An introduction to phycology*. First edition, (623). Cambridge University Press.
- Whitton, B.A. (1970). Biology of freshwater Cladophora. *Water Research* 4: 457-476.
- Wołowski, K., Kowalska, J. (2009). Autumnal flora of euglenophytes and other algae in the pond of the Botanical Garden in Kraków. *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica* 16(1): 145-154. Kraków. PL ISSN 1640-629X.
- Wong, S.L., Clark, B., Kirby, M., Kosciuw, R.F. (1978). Water temperature fluctuations and seasonal periodicity of Cladophora and Potamogeton in shallow rivers. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 35: 866-870.
- Wongsawad, P., Peerapornpisal, Y. (2015). Morphological and molecular profiling of Spirogyra from northeastern and northern Thailand using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Saudi Journal of Biological Sciences* 22(4): 382-389.
- Worobiec, E., Worobiec, G. (2008). Kopalne zygospory glonów Zygnemataceae (Chlorophyta) z osadów górnego miocenu KWB Bełchatów. *Przegląd Geologiczny* 56(11): 1000-1004.
- Young, E.B., Tucker, R.C., Pansch, L. (2010). Alkaline phosphatase in freshwater Cladophora - epiphyte assemblages: Regulation in response to phosphorus supply and localization. *Journal of Phycology* 46: 93-101. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2009.00782.x.
- Żelazna-Wieczorek, J. (2002). *Vaucheria* species from selected regions in Poland. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 71(2): 129-139.
- Zulkifly S.B., Graham J.M., Young E.B., Mayer R.J., Piotrowski

- M.J. et al. (2013). The genus *Cladophora* Kützing (Ulvophyceae) as a globally distributed ecological engineer. *Journal of Phycology* 49: 1-17. DOI: 10.1111/jpy.12025.
- Zwirn, M., Chen, C., Uher, B., Schagerl, M. (2013). Induction of sexual reproduction in *Spirogyra* clones - does an universal trigger exist? *Fottea, Olomouc* 13(1): 77-85.

Author's copy

## Publikacja IV

**Pikosz M.,** Messyasz B., Gąbka M. 2017. Functional structure of algal mat (*Cladophora glomerata*) in a freshwater western Poland. *Ecological Indicators*, 74:1-9.



## Original Articles

# Functional structure of algal mat (*Cladophora glomerata*) in a freshwater in western Poland



Marta Pikosz\*, Beata Messyasz, Maciej Gąbka

Adam Mickiewicz University, Faculty of Biology, Institute of Environmental Biology, Department of Hydrobiology, Umultowska 89, 61-614 Poznań, Poland

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 2 February 2016

Received in revised form

15 September 2016

Accepted 26 September 2016

## Keywords:

Filamentous algae mats

GAMs

Mat heterogeneity

Freshwater *Cladophora*

Filamentous algae

Eutrophic indicator

## ABSTRACT

GAMs (Generalized Additive Models) present a growth pattern for the common filamentous algae (FA) taxa in freshwater ecosystems in Poland. *Tribonema*, *Ulothrix* taxa are an early spring species. In comparison with *Rhizoclonium*, *Cladophora* and *Oedogonium* taxa, the algae Zygnemataceae (e.g. *Zygnema*, *Spirogyra*) occurs in waters with lower levels of nutrients, total dissolved substances and electrical conductivity. *Cladophora glomerata* shows different responses to environmental gradients than *C. rivularis*, *C. fracta*. Furthermore, the algae *Cladophora glomerata* (Chlorophyta, Ulvophyceae) forms a thick monoalgal mat (from the surface to the bottom) in the shallow and eutrophic Lake Oporzynskie in Wielkopolska Region in Poland (Central Europe). Detailed algal mat characteristics, physical and chemical parameters of water, and pigments in thalli were measured vertically (surface, middle, bottom) and spatially (marginal and central part) in the stationary mat phase during maximal algal growth. Temperature, dissolved oxygen and PAR irradiation significantly declined as the depth of the mat increased. Water turbidity was greater in the surface layer than in deeper parts, in contrast to the concentrations of N-NO<sub>3</sub>, N-NH<sub>4</sub> and TDS. Pigment content in the cells of *C. glomerata*, cell lengths and diameters of pyrenoids changed throughout the mat, from top to bottom. The obtained data were used for statistical analyses. In conclusion: dense mats of *C. glomerata* show a vertical stratification while the mats remain spatially homogenous. Our data suggest that mat structure be considered a biological indicator of freshwater eutrophication.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

Macroscopic filamentous algae (FA) are the primary producer of organic matter in aquatic ecosystems. Due to human activity affecting aquatic ecosystems, the biomass of FA is drastically increasing (Khanum, 1982). Rapid growth of FA is difficult to predict even during one vegetation season. At the bottom, single filaments are tangled together into long filaments (hairlike strand) forming colonies, the growth of which is directed towards the water's surface. In midsummer, these colonies form a dense mat, which traps gases and enable algae to free-float on the water surface. However, usually only one species occupies all available water space until late summer.

FA can grow massively in eutrophic, shallow lakes, ponds and lowland rivers (Van den Hoek et al., 1995). Various species of filamentous algae prefer different conditions for a temporary increase during vegetation seasons. The presence and the growth intensity of the individual species are determined by their ecological

optimum, requirements of temperature, pH or nutrients (Mikulski, 1982). The understanding of FA ecology is important due to the role they play as indicators of environmental gradients, especially in relation to the nutrient content in freshwater ecosystems. Moreover, the knowledge about their within-the-range distribution and also on how to predict species' occurrences, can be used to avoid algae bloom.

In the ecological status assessment of water ecosystems, FA occurrence is related to high eutrophy of water ecosystems (Bricker et al., 2008; Borja et al., 2008). Filamentous algae can be used as biological indicators to assess the condition of the environment and water pollution by nutrients as well as by heavy metals (Chmielewska and Medved, 2001). These algae have features characterizing good indicators: wide distribution, significant tolerance to high concentrations of contamination, presence at eutrophic sites, easy identification, and longevity (Whitton, 1984; Philips, 1990). Due to the ability of forming dense mats and algal blooms, FA are often considered a nuisance algae in freshwaters (Dodds and Gudder, 1992). Excessive growth creates environmental and recreation problems in a reservoir. Dense mats can also significantly affect the ecology in many ways exerting positive and negative effects. Mats often cause shading, anoxic conditions, and disturbances in biogenic compounds cycles (Green and Fong, 2015). Mats

\* Corresponding author.

E-mail addresses: [pikosz@amu.edu.pl](mailto:pikosz@amu.edu.pl) (M. Pikosz), [messyasz@amu.edu.pl](mailto:messyasz@amu.edu.pl) (B. Messyasz), [gmaciej@amu.edu.pl](mailto:gmaciej@amu.edu.pl) (M. Gąbka).

absorb nutrients from the sediments and, therefore, reduce the availability of nutrients to phytoplankton and floating macrophytes (Ozimek, 1990).

The biomass of algae in mats has increased due to eutrophication but their effects on physico-chemical parameters have rarely been tested in field experiments. Light conditions is the most important factor for green algae in mats, so much so that algae in different layers have different light conditions: due to high light upper layers may suffer from oxidative stress and photoinhibition whereas bottom layers have to cope with very low light levels (Vergara et al., 1997). Laboratory studies on vertical heterogeneity in macroalgal mats have been carried out on *Ulva* spp. (Vergara et al., 1997; Malta et al., 1999), *Cladophora sericea* (Hudson) Kütz. (Thybo-Christesen and Blackburn, 1993) and *Chaetomorpha linum* (O.F. Müller) Kütz. (Krause-Jensen et al., 1996, 1999; McGlathery et al., 1997).

Although factors such as temperature, pH and nutrients have been proven to be significant, our study targeted still other ecological determinants which may influence the distribution and abundance of filamentous algae. Understanding the role and the functional structure of dense mats in water ecosystems and environmental gradients is important not only from the fundamental and practical perspectives but also for biological conservation.

Filamentous algae, especially the *Cladophora* species – the most common one in all types of water ecosystems are generally considered as the best bioindicators of aquatic ecosystem contamination (Chmielewska and Medved, 2001). *Cladophora glomerata* (L.) Kütz. is a worldwide, cosmopolitan, ubiquitous filamentous green macroalga, widely recognized as stress resistant, that grows rapidly and reproduces aggressively, and was classified as an “r strategist” opportunistic species (Littler and Littler, 1980). Moreover, *Cladophora glomerata*, is one of the most common species of macroalgae bloom (Duarte, 1995), which is potentially able to monopolize space (Hard, 1992) and achieve high biomass in a short time. *Cladophora glomerata* (Chlorophyta, Ulvophyceae) is characterized by a high variability of morphometric traits, multinucleated cells, a pseudodichotomus type of branching and a usual color of dark green. Its thalli can reach up to several meters in length (Whitton, 1970; Van den Hoek et al., 1995; Messyasz et al., 2015a). The aim of our study was to answer the following questions: what are the principal environmental parameters affecting the occurrence and quantitative response of filamentous algae, what is the niche specialization of either species in small water bodies, what is the biometrical, physical and chemical differences in vertical and spatial *Cladophora glomerata* mat profiles?

## 2. Material and methods

### 2.1. Models of ecological niches

#### 2.1.1. Database used

Ecological research of filamentous algae was carried out in aquatic ecosystems in Western Poland (Central Europe) during vegetative algae seasons 2012–2015. We used our database (~200 samples) of the occurrence and habitat of filamentous algae (see details in Pikosz and Messyasz, 2016). Special attention was given to filamentous algae belonging to the common genera *Cladophora* (L.) Kütz., *Oedogonium* Link ex Hirn, *Rhizoclonium* Kütz., *Stigeoclonium* Kütz., *Vaucheria* A.P. de Condolle, *Spirogyra* Link, *Zygnema* Agardh, *Mougeotia* Agardh, *Sirogonium* Kütz., *Tribonema* Derbès & Solier and *Ulothrix* Kütz. from 7 sites. Algae were collected from Lake Oporzynskie (N52°55', E17°9'), the Malta Reservoir (N52°24', E16°58'), a pond in Konojad (N52°10', E16°31'), a pond in Poznan (N52°27', E16°55'), the Mogilnica river (N52°9', E16°31'), Samica Steszewska (N52°16', E16°41'), and the Nielba river (N52°48', E17°12') (Pikosz and Messyasz, 2016).

#### 2.1.2. GAMs

Ordination methods were used to establish relationships between water quality and FA occurrence. Due to the skewed distributions of most variables, square root transformation was performed. To reduce the number of variables, a forward selection procedure using Monte Carlo test with 999 permutations was performed (variables were discarded until a significance threshold of  $p < 0.05$  was reached). Ordination was performed using the CANOCO software package (ter Braak and Šmilauer, 2002).

Changes of algal occurrence in response to major environmental factors were modelled using the GAMs (Hastie and Tibshirani, 1990). We used Poisson distribution while smooth term complexity was selected using the Akaike information criterion (Lepš and Šmilauer, 2003).

### 2.2. Mat heterogeneity

#### 2.2.1. Study area

The present study in the aspect of the structure of mats was carried out in the Lake Oporzynskie (52°55'N, 17°9'E), situated in the north-western part of Wielkopolska Region (West Poland), near Wagrowiec (Fig. 1A). It has an area of 15 ha, a mean depth of 1.2 m and maximum depth of 2.0 m; there is no permanent stratification (Messyasz et al., 2015b). The lake is surrounded by fields, and is fed with high nutrient loads by the streams, therefore the lake receives a high load of nutrients. The resulting eutrophic conditions give rise to a large *Cladophora glomerata* mats.

#### 2.2.2. Field sampling

The field experiment was conducted in June 2015 at *C. glomerata*'s stationary development phase. Studies were carried out after detailed study of the growth phase of the mat. Mat structures of green algae were examined with regard to spatial and vertical profiles (Fig. 1B). Samples of filamentous algae (about 100 g fresh weight) and water (1 L) were collected from the spatial profile from the central and marginal parts in the lake, however the vertical profile was divided into three zones: surface (0–50 cm), middle (50–150 cm) and bottom (150–200 cm). The surface zone of the lake was defined as the depth which light can penetrate – the euphotic zone.

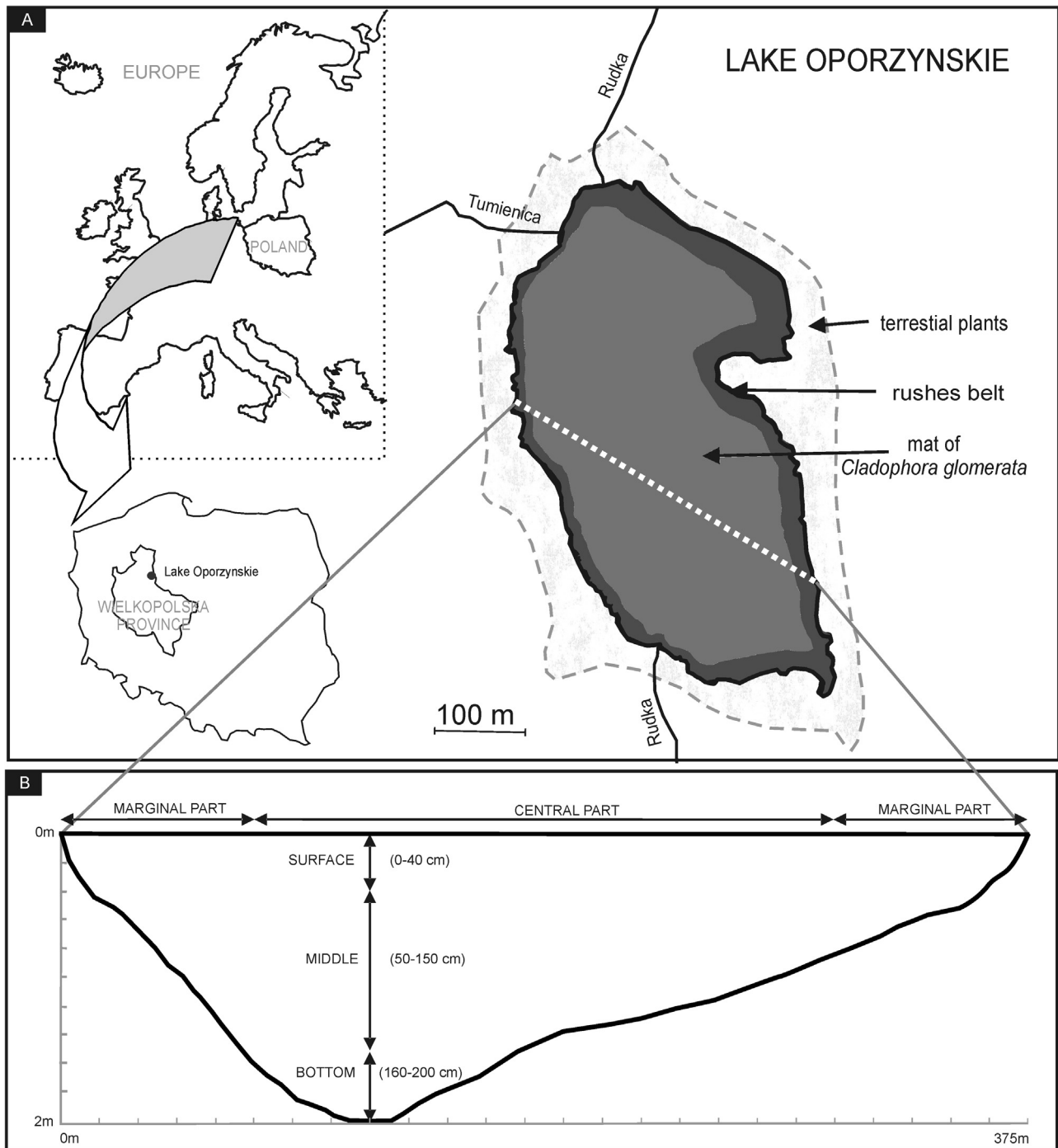
The cross-section through the lake was extrapolated by the ArcGIS 10.2. program. To assess the preferences of macroalgal mats we collected water samples from different depths with a customized sampler. Each algae sample was carefully picked and placed in a plastic bag and transported in cool storage conditions (12 °C) to the laboratory. Samples for phycollogical, chlorophyll-a and chemical analyses were extracted immediately using a centrifugal pump supplied by hoses (10 mm  $\varnothing$ ) adapted to bring up water from a particular sampling depth into a calibrated vessel.

#### 2.2.3. Field measurements

The following environmental variables were measured at each sampling site (20 vertically and 25 horizontally) in order to characterize the general nature of each habitat: water temperature (°C), electrical conductivity (EC, in  $\mu\text{S cm}^{-1}$ ), pH, total dissolved substance (TDS, in  $\text{mg L}^{-1}$ ), dissolved oxygen (DO, in  $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ ) and oxygen saturation (OS, in%). All of these variables were measured in the field using a YSI 560 professional plus multi-parameter probe. Underwater photosynthetically active radiation (PAR) light intensity was measured using a LI-1500 current meter and data logger combined with a spherical quantum sensor LI-193 SA and quantum sensor LI-192 SA (LI-COR, Lincoln, USA).

#### 2.2.4. Laboratory analysis and measurements

Water samples were collected in the field from each sampling site, one of them were immediately conserved with chloroform,



**Fig 1.** A – Location of Lake Oporzynskie in Western Poland (Central Europe) with marked cross-section; B – vertical and spatial profiles.

and next stored at  $-10^{\circ}\text{C}$  for future water chemistry analysis, following samples were not conserved. Laboratory analysis, with a view to measure turbidity (FAU), the content of nitrate ( $\text{mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$ ), ammonium ( $\text{mg N-NH}_4^+ \text{L}^{-1}$ ) sulphate ( $\text{mg SO}_4^{2-} \text{L}^{-1}$ ) and orthophosphate ( $\text{mg P-PO}_4^{3-} \text{L}^{-1}$ ) with a HACH DR 2800 spectrophotometer was made.

The collected algae samples were examined in the aspect of the morphology of cells (lengths, widths, dimensions of pyrenoids) using a light microscope ( $40\times$ ) with a camera (ProgRes® SpeedXT core 3, Jenoptik).

Photosynthetic pigments (chl a, chl b and carotene) in filaments (0.1 g fresh weight) were analyzed by modified methods (Yoshii

et al., 2004; Dere et al., 1998) and were determined spectrophotometrically by means of equations proposed by Lichtenthaler and Wellburn (1983).

Analyses of algae were performed no later than 24 h after the FA collection; some water analyses (like turbidity measurement) were performed immediately after the samples' arrival to the laboratory and others within the next 72 h.

#### 2.2.5. Data analysis

Differences in vertical profile were assessed through the Kendalls concordance coefficient (W), which is the normalization of the non-parametric Friedman  $\chi^2$  ANOVA statistics. Differences

in spatial profiles were tested by *t*-tests for dependent samples. The Mann-Whitney *U* test was also applied to ascertain whether any biometric characteristics of *C. glomerata* such as length and width of cells, and diameter of pyrenoids of FA differed significantly between the vertical and depth sites. The Shapiro-Wilk test was used to assess the equality of variance in comparable groups. To normalise the distribution of the analyzed variables, the outliers were removed in justified cases, though not exceeding one per particular group. These statistical analyses were performed using the R 3.0.1 statistical package (R Development Core Team 2013, using the *vegan* package; Oksanen, 2011).

### 3. Results

#### 3.1. GAMs

Monte Carlo tests revealed that temperature ( $p=0.01$ ), electrical conductivity ( $p=0.03$ ), and concentration of total dissolved substance ( $p=0.02$ ), chloride ( $p=0.001$ ), nitrate ( $p=0.01$ ) and orthophosphates ( $p=0.04$ ) are the only independent environmental gradients significantly related to the composition of FA assemblages ( $p<0.05$ ). The response of FA to the most important environmental factors was studied using GAM modelling. Significant differences were demonstrated between the responses of species to individual factors. The FA common in freshwater ecosystems presented different quantitative response curves to physico-chemical changes of water quality (a monotonic decreasing, a unimodal with optimum around the centre, and a monotonic increasing) (Fig. 2).

The same response curves (unimodal with optimum around centre) to temperature changes were observed in *Tribonema vulgare* Pascher, *T. aequale* Pascher and *Ulothrix variabilis* Kütz. and have their optimum of occurrence in water below 20 °C. However, *Oedogonium capillare* Kütz. ex Hirn dominates at higher temperatures (20–25 °C). The GAMs show that *Cladophora glomerata* has a stronger response to colder water (monotonic decreasing curves), in contrast to *C. fracta* (O.F.Müller ex Vahl) Kütz. and *C. rivularis* (L.) Hoek (Fig. 2A). The sensitivity of other algae to temperature change is low. Chlorides of anthropogenic origin have a significant impact on the occurrence of filamentous algae in freshwater ecosystems because Zygnemataceae taxa (*Mougeotia*, *Zygnema*, *Spirogyra*, *Sirogonium*) prefer water with up to 40 mg L<sup>-1</sup> of chloride, whereas at a chloride concentration of 60 mg L<sup>-1</sup> their concentrations are near zero. *Cladophora glomerata* has its highest concentration between 40 and 80 mg L<sup>-1</sup> Cl<sup>-</sup> (Fig. 2B) whereas *O. capillare* and *C. rivularis* occur in water with high ionic chloride content. Zygnemataceae do not occur in water with higher electrical conductivity than 600 μS cm<sup>-1</sup> (Fig. 2C). Out of all the *Cladophora* species *C. glomerata* exhibits the strongest response to TDS changes and prefers occurring in water with 200–400 mg L<sup>-1</sup> TDS. *Oedogonium capillare*, *C. rivularis*, *Ulothrix variabilis* and *Tribonema* taxa occur in water with the highest electrolytic conductivity (EC) and concentration of total dissolved substance (TDS) (Fig. 2C,D). Moreover, the response of *C. glomerata* to biogenic compounds (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) indicates that the algae prefer water with higher nutrient concentrations (Fig. 2E,F). Taking into regard all water parameters, *C. glomerata* occupies a distinct niche in the studied water ecosystems.

#### 3.2. Vertical and spatial profile in cladophora mat

##### 3.2.1. Water chemistry

Temperature in the surface layer (0–50 cm) varied from 21.4 to 19.0 °C, in the middle layer (50–150 cm) it decreased from 18.5 to 15.8 °C and at the bottom (150–200 cm) it decreased from 15.7 to

15.3 °C (Fig. 3B, Table 2A). The temperature difference between the surface (0 cm) and the bottom (200 cm) was 6 °C. Dissolved oxygen decreased from 17.0 to 0.23 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> from the surface to the bottom. (Fig. 3B). Nearly anoxic conditions (<2 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) appeared at the depth of 130 cm. In the surface layer (0–40 cm) light intensity ranged from 0.4 to 15.6 μmol quanta m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> depending on depth. The range of pH values gradually decreased (from 9.11 to 7.06) with depth. In the vertical profile, changes of physical and chemical parameters such as temperature, PAR (Photosynthetically Active Radiation) irradiance, OS, DO, pH, TDS, turbidity were of statistical significance (Table 1). Nutrient concentrations indicated the eutrophic character of the lake. The nutrient concentrations in the water column increased with depth but only the changes in nitrates and ammonium concentrations were statistically significant (Table 1A). In contrast to the vertical heterogeneity profile, the spatial profile was homogeneous (Fig. 3A), and showed no significant differences in physical, chemical and biological parameters, except for temperature, PAR irradiance and turbidity (Table 1B).

##### 3.2.2. Structure of cladophora mats

*Cladophora glomerata* in Lake Porzyskie extensively developed in the water column and covered 95% of the lake surface. Free-floating filaments were frequently arranged in very thick mats from the surface to the bottom, with the greatest biomass found in the surface layer.

No significant difference was observed in chlorophyll a content in *C. glomerata* between the layers ( $p<0.05$ ). The chlorophyll b and carotenoids content was significantly different only in the vertical profile (Table 2A). There was also significant differences in cell length, width and diameter of pyrenoids in filaments from surface to bottom (Table 3). Changes in all of the studied biometrical parameters between marginal and central areas were not statistically significant.

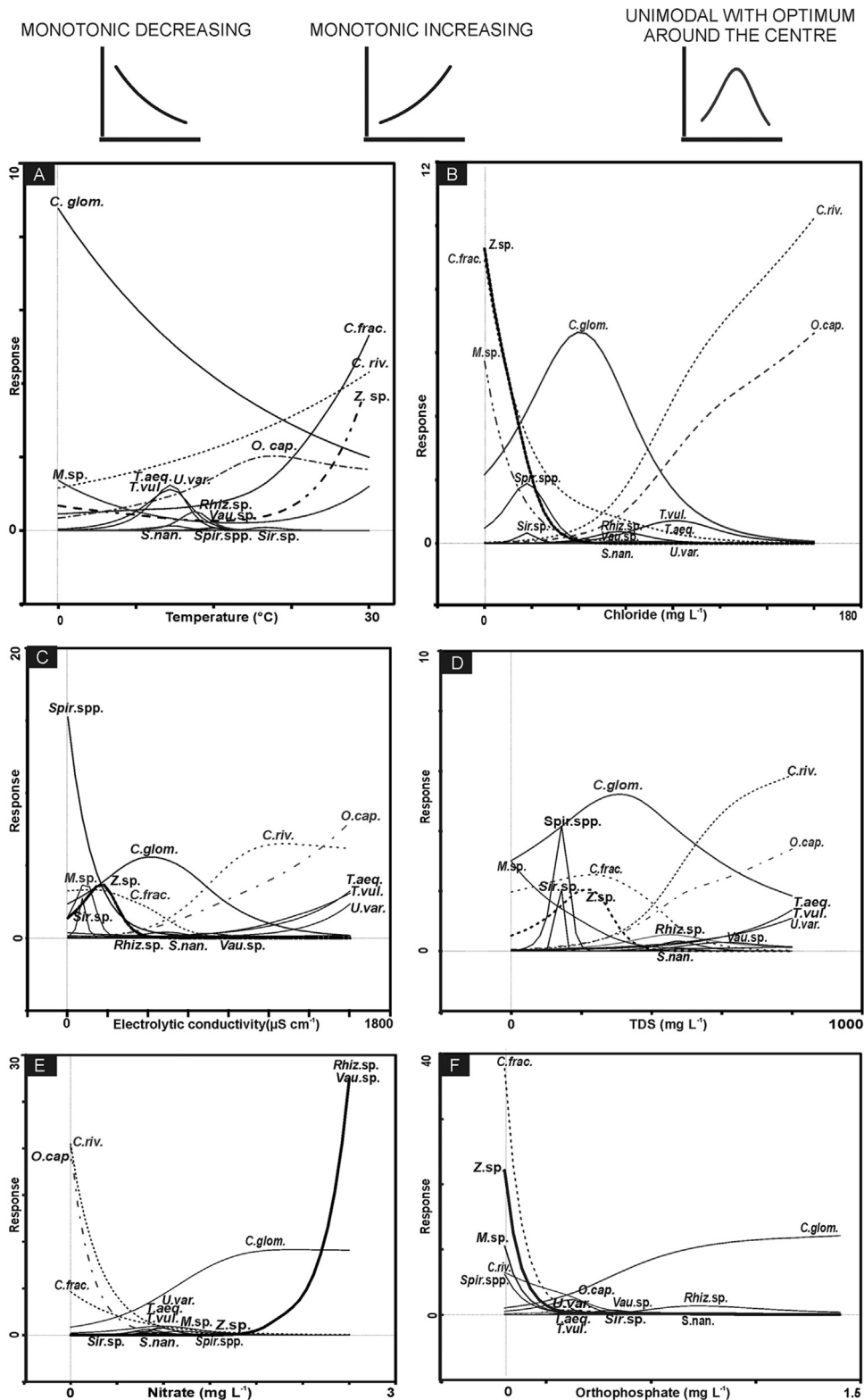
## 4. Discussion

#### 4.1. GAM profile

Earlier research shown that distribution of filamentous algae species is correlated with the orthophosphates, nitrates, chlorophyll a, chlorides of anthropogenic origin and TDS (Pikoš and Messyas, 2016). Moreover, our results have shown that also temperature and EC are responsible for filamentous algae development, it is temperature and chloride in particular that differentiate the ecological niche of FA. According to many authors the ecological tolerance and occurrence of *Cladophora* spp., *Spirogyra* spp. and *Oedogonium* spp. is broad (Dodds and Gudder, 1992; Garcia and Aboal, 2014; Hainz et al., 2009; Simons and van Beem, 1990). Especially *Spirogyra* was found at pH values between 6.2–9.1, at electrolytic conductivities between 75 and 1500 μS cm<sup>-1</sup>, indicating meso- to eu-trophic conditions as optimal growth ranges (Hainz et al., 2009). In contrast, *Oedogonium* sp. is a useful indicator of EC and sulphate concentration; it showed optimum conductivity lower than 100 μS cm<sup>-1</sup> in tropic nature (Montoya-Moreno and Aguirre-Ramírez, 2013). In our studies, *Spirogyra* prefers water with lower conductivity than 200 μS cm<sup>-1</sup>, but *O. capillare* in higher EC (>1000 μS cm<sup>-1</sup>).

In many previous studies, temperature was thought to be one of the most important variables responsible for *C. glomerata* abundance. The temperature tolerance of *C. glomerata* is different due to geographical regions (Hoffmann and Graham, 1984); in Sweden *C. glomerata* showed optimum photosynthetic activity between 7 and 15 °C (Herbst, 1969), in Poland Chudyba (1965) found *C. glomerata* when the water temperature was only 9 °C, in contrast to Lake Michigan (USA), where the same species could grow between

## TYPE OF SPECIES RESPONSE CURVES



**Fig. 2.** Type of species response curves (Horsák et al., 2007) and Generalized Additive Models – the response of filamentous algae taxa for six explanatory variables: A – Temperature; B – Chloride; C – Electrical Conductivity; D – Total Dissolved Substance; E – Nitrate; F – Orthophosphate. (*C.glom.* = *Cladophora glomerata*, *C.riv.* = *Cladophora rivularis*, *C.frac.* = *Cladophora fracta*, *O.cap.* = *Oedogonium capillare*, *Rhiz.sp.* = *Rhizoctonion sp.*, *Z.sp.* = *Zygnema sp.*, *M.sp.* = *Mougeotia sp.*, *Spir.spp.* = *Spirogyra spp.*, *Sir.sp.* = *Sirogonium sp.*, *S.nan.* = *Stigeoclonium nanum*, *U.var.* = *Ulothrix variabilis*, *T.aeq.* = *Tribonema aequale*, *T.vul.* = *Tribonema vulgare*).

28 and 31°C (Lester et al., 1988). Response curves of *C. glomerata* from freshwater ecosystems in Wielkopolska Region does not show a clear correlation with water temperature gradients (Fig. 2A)

but reveals a decreasing response to increasing temperature, while the response of other *Cladophora* species and filamentous algae are completely different. Rapid growth and development of *C. glom-*

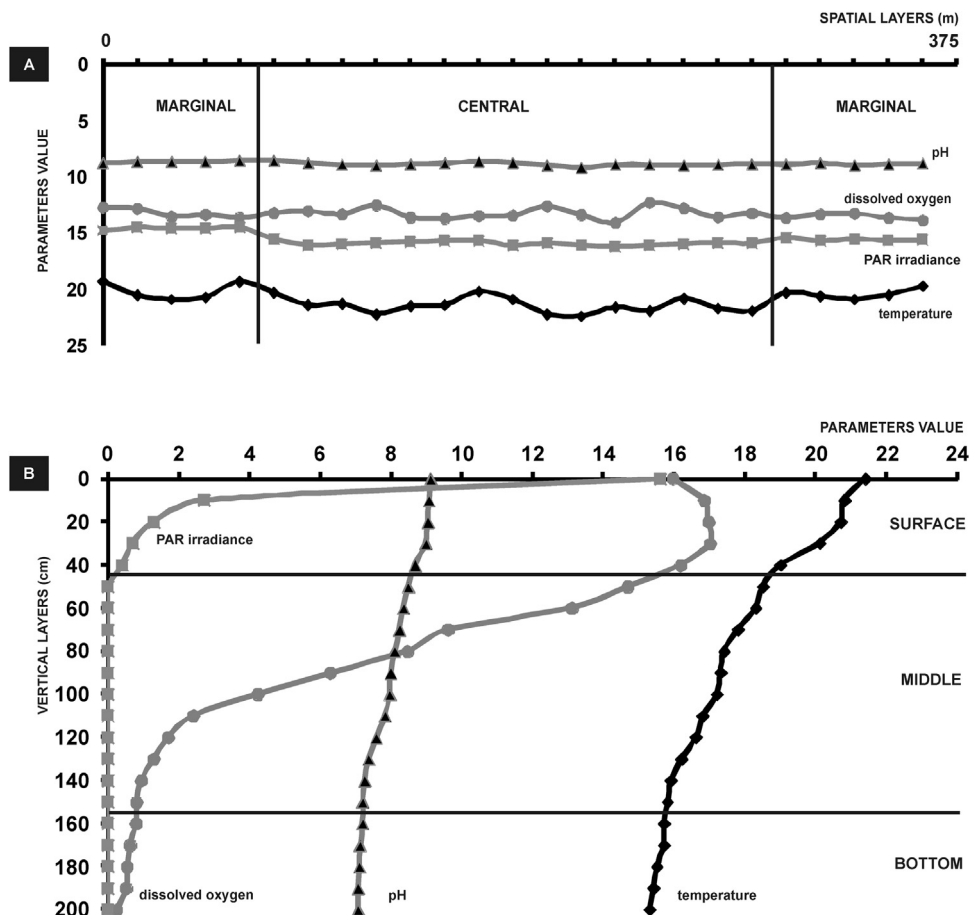


Fig. 3. The spatial (A) and vertical (B) changes of PAR irradiance ( $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), dissolved oxygen ( $\text{mg L}^{-1}$ ), pH and temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ) in Lake Oporzyńskie (n = 10 for marginal, n = 15 for central, n = 5 for surface, n = 11 for middle and n = 5 for bottom layer).

*erata* at low temperature is a strategy which allows it to achieve dominance over other FA and over macrophytes in water ecosystems. Strategies of *C. glomerata* provide success in variable habitats and form an extension of its ecological niche (Ensminger et al., 2001). Such behavior is similar to those of the cosmopolitan *Ulva* species, which appear in freshwaters with a high chloride concentration of anthropogenic origin (Messyasz and Rybak, 2011), and, also, of *C. rivularis* and *O. capillare*, which are found only in freshwater ecosystems and have a strong occurrence response in higher chloride concentrations. Many species have a preference for alkaline, eutrophic waters where they can appear as a large biomass (Messyasz et al., 2015a). On the other hand, massive development of filamentous algae does not occur in oligotrophic locations but commonly indicates an increasing trophic state. Freshwater ecosystems, in which filamentous algae form dense mats, are often characterized by high levels of nutrients such as nitrogen and/or phosphorus (Higgins et al., 2008). Among the analyzed FA, which commonly occurred in water ecosystems in Poland, *O. capillare*, *C. rivularis*, *C. fracta* show lower aqueous nitrate concentrations than *C. glomerata*, *Rhizoclonium* sp. and *Vaucheria* sp.

Macroalga *C. glomerata* characteristically dominate in eutrophic waters (Whitton, 1970) and our findings have confirmed this dependence. The fact that each species needs a specific set of environmental conditions for its development confirms the niche concept that yields a competitive advantage or persistence contingent on environmental conditions which provides trade-offs of species traits that favor coexistence (Hutchinson, 1957).

#### 4.2. Vertical and spatial profile in cladophora mat, water chemistry

Dense algal mat in Lake Oporzynskie occupied the whole water column in shallow basins such as in eutrophic non-tidal lagoons, where the mat thickness was 1.5 m (Lenzi et al., 2011). In high-density mats the upper layer causes shading of the lower layers and may lead to stratification of physical and chemical parameters and nutrients in the water column (Lenzi et al., 2013). In this study PAR irradiance drastically decreased after the first 10 cm, and formed a disphotic zone below 40 cm. Similar behavior was reported within dense mats of *Chaetomorpha linum* (Müller) Kütz, where the photic zone was only 8 cm deep (Krause-Jensen et al., 1996). In Strzeszynskie Lake, before and at the time of phytoplankton bloom, significant changes in vertical gradients of PAR and the availability of light in the water column were also observed, and the euphotic zone decreased from 7 to 5 m (Joniak et al., 2013). The presence of mats in zones with low light was interpreted as resulting from *C. glomerata*'s acclimation to different light environments and its link to *C. glomerata*'s development succession (Ensminger et al., 2000). In the marginal zone the level of light was lower than in the central zone, which was caused by shading of surrounding trees. According to Krause-Jensen et al. (1996), maximum dissolved oxygen concentrations occurred within the photic zone of the mats, and our results confirm those collected from the surface layer where PAR irradiance reached the concentrations of  $15.6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and DO was higher than  $15 \text{ mg L}^{-1}$ . However, in our studies, filaments of *Cladophora glomerata* occurred at all depths, from the surface to the bottom layer. Moreover, *Vaucheria*

**Table 1**

The chemical composition of water in Lake Oporzyńskie along: A – vertical profile and B – spatial profile (mean ± SD). Bold represents statistical significance,  $p < 0.05$ , degrees of freedom  $df=2$  for Friedman tests and  $df=13$  for  $t$ -tests.

A. Vertical profile						
	Surface 0–40 cm (n=5)	Middle 50–150 cm (n=11)	Bottom 160–200 cm (n=5)	Friedman's ANOVA $\chi^2$	Kendall's W	p
Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	20.4 ± 0.9	17.1 ± 0.9	15.5 ± 0.2	10.94	0.45	<b>0.0042</b>
EC ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	519.8 ± 7.8	564.0 ± 56.1	661.4 ± 2.3	5.89	0.25	0.0525
TDS ( $\text{mg L}^{-1}$ )	228.8 ± 2.9	281.1 ± 48.9	364.0 ± 0.1	10.94	0.45	<b>0.0042</b>
OS (%)	183.9 ± 6.2	58.89 ± 57.1	7.12 ± 1.35	37.84	0.57	<b>0.0000</b>
DO ( $\text{mg L}^{-1}$ )	16.58 ± 0.5	4.95 ± 5.1	0.53 ± 0.2	10.94	0.45	<b>0.0042</b>
pH	8.96 ± 0.17	7.84 ± 0.44	7.10 ± 0.05	15.07	0.28	<b>0.0005</b>
Turbidity (FAU)	5.19 ± 0.78	2.75 ± 1.25	1.85 ± 0.45	10.00	1.00	<b>0.0067</b>
N- $\text{NO}_3^-$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0.46 ± 0.15	0.70 ± 0.53	0.70 ± 0.55	11.84	0.54	<b>0.0027</b>
N- $\text{NH}_4^+$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0.31 ± 0.02	0.61 ± 0.26	0.74 ± 0.33	8.44	0.84	<b>0.0146</b>
P- $\text{PO}_4^{3-}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0.15 ± 0.05	0.28 ± 0.17	0.48 ± 0.48	5.20	0.52	0.7428
$\text{SO}_4^{2-}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	68.6 ± 2.96	69.0 ± 1.41	68.4 ± 1.14	0.13	0.13	0.9355
PAR irradiance ( $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	4.14 ± 6.46	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	9.50	0.95	<b>0.0086</b>
B. Spatial profile						
	Marginal (n=10)	Central (n=15)		t statistic		p
Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	20.49 ± 0.76	21.41 ± 0.67		−2.29		<b>0.0390</b>
EC ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	529.6 ± 2.31	529.6 ± 2.89		−1.86		0.0849
TDS ( $\text{mg L}^{-1}$ )	235.9 ± 3.11	232.8 ± 3.52		−1.74		0.1038
OS (%)	116.2 ± 63.1	146.9 ± 5.50		−1.89		0.0802
DO ( $\text{mg L}^{-1}$ )	13.29 ± 0.32	13.42 ± 1.13		−2.00		0.0665
pH	8.74 ± 0.13	8.84 ± 0.16		−1.95		0.0719
Turbidity (FAU)	2.27 ± 2.61	4.98 ± 3.08		−2.33		<b>0.0359</b>
N- $\text{NO}_3^-$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0.32 ± 0.12	0.34 ± 0.18		0.06		0.9460
N- $\text{NH}_4^+$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0.62 ± 0.24	0.54 ± 0.21		−0.37		0.7166
P- $\text{PO}_4^{3-}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0.18 ± 0.07	0.17 ± 0.01		−0.47		0.6436
$\text{SO}_4^{2-}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	68.9 ± 3.38	69.8 ± 2.51		−1.95		0.0720
PAR irradiance ( $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	15.09 ± 0.53	15.92 ± 0.18		−2.34		<b>0.0353</b>

**Table 2**

The pigment content in *Cladophora glomerata* filaments in Lake Oporzyńskie along: A – vertical profile and B – spatial profile (mean ± SD). Bold represents statistical significance,  $p < 0.05$ , degrees of freedom  $df=2$  for Friedman test and  $df=13$  for  $t$ -tests.

A. Vertical profile						
	Surface 0–40 cm (n=5)	Middle 50–150 cm (n=11)	Bottom 160–200 cm (n=5)	Friedman's ANOVA $\chi^2$	Kendall's W	p
Chl a ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	132.9 ± 56.18	259.75 ± 106.44	317.38 ± 139.25	2.80	0.28	0.2466
Chl b ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	56.77 ± 37.64	171.06 ± 86.37	169.91 ± 68.01	13.44	0.20	<b>0.0012</b>
Carotenoids ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	65.91 ± 17.33	101.41 ± 37.24	105.14 ± 21.08	13.37	0.61	<b>0.0013</b>
B. Spatial profile						
	Marginal (n=10)	Central (n=15)		t statistic		p
Chl a ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	106.78 ± 49.98	91.87 ± 28.67		−0.36		0.7222
Chl b ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	55.27 ± 35.65	41.64 ± 17.75		0.13		0.8991
Carotenoids ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	71.08 ± 31.07	65.44 ± 18.18		−0.60		0.5564

**Table 3**

Comparison of biometric parameters in *Cladophora glomerata* filaments under different water depth (surface, middle, and bottom). Values represent means ± SE. Sample size: 125 data in each group. Means followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$ .

Vertical profile			
	SURFACE0–40 cm	MIDDLE50–150 cm	BOTTOM160–200 cm
Cell length ( $\mu\text{m}$ )	234.1 ± 35.6	199.6 ± 18.6	175 ± 16.8
Cell width ( $\mu\text{m}$ )	51.5 ± 2.3	52.1 ± 3.8	47.1 ± 6.6
Diameter of pyrenoids ( $\mu\text{m}$ )	6.3 ± 0.4	7.0 ± 0.3	7.8 ± 0.2

*dichotoma*, which also belongs to FA, formed a belt in Lake Mikolańskie at the depth of 3.0–4.5 m, where light penetrated only 1% of the surface, because it prefers fertile environments with a high content of nutrients (Ozimek, 1990). In the bottom zone the concentrations

of nutrients in the water were higher than in the surface layer, so it was easier for *Cladophora* filaments to take up nitrate, ammonium and orthophosphates. This pattern suggested a light limitation and an increased content of biogenic compounds towards the bottom of

the mat. The phosphorus content never decreased below the critical level ( $0.01 \text{ mg L}^{-1}$ ) for *Cladophora* (Painter and Kamaitis, 1987).

#### 4.3. Functional structure of cladophora mats

Mats are likely to play a key role in the functioning of ecosystems, and a massive development of FA can have a significant impact on the environmental conditions in shallow lakes, rivers and ponds (Irfanullah and Moss, 2005; Pikosz and Messyasz, 2015). The extensive development of *Cladophora glomerata* in shallow Lake Oporzynskie was found beginning in 2013 ( $674 \text{ g d.w m}^{-2}$ ) and regularly repeated every year since then (Messyasz et al., 2015b). Till now, however, the impact of mats on water conditions has not been studied. The mat structure of FA creates a different environment from that of open waters, and that may have great impact on the trophic levels. Changes associated with the location where the mat of *C. glomerata* in the lake was present may cause it to deplete nutrient supplies in surrounding waters.

Many factors, including light intensity, pH, dissolved oxygen, water temperature and nutrient concentrations may influence the growth, distribution and morphology of *Cladophora* (Whitton, 1970; Painter and Kamaitis, 1987; Higgins et al., 2008). The capacity for phenotypic plasticity of *Cladophora glomerata* enables it to respond to these changing environmental factors, not only by increasing the fitness of individuals but also by significantly affecting their distribution in water ecosystems (Ensminger et al., 2001). In Oporzynskie Lake, in the vertical profile, the following significant changes in *C. glomerata* filaments were observed: increased pigment contents, with shorter cells and with pyrenoids diameters increasing with depth. Higher starch deposition may be a response of green algae to the abiotic stress caused by variable environmental conditions. Literature data show that phosphorus is effective in carotenoid production in algae and at higher temperatures may increase total chlorophyll concentrations in algal cells (Khantrairong and Traichaiyaporn, 2009). Other research suggested that the amount of chlorophyll b sometimes increases in green algae that are transferred from high-light to low-light growth conditions (Berner et al., 1989). In the studied Lake, the amount of all measured pigments increased with lower temperature. The abundant occurrence of *Cladophora glomerata* from the surface to the bottom confirms that vegetative cells are able to withstand a wide range of unfavorable environmental conditions (Ensminger et al., 2001).

## 5. Conclusions

To conclude, we have shown that in the shallow lake with dense FA monospecies mats, physical and chemical factors have (first of all) a major impact on the vertical distribution of *Cladophora glomerata*. Our data provide a better understanding of the factors that determine the variations in the distribution of *Cladophora glomerata* filaments in the spatial profile. From a practical point of view our findings suggest that, because of spatial homogeneity in the macroalgal mats, monitoring programs for the collection of thalli could be based on sampling points anywhere in mats of the marginal or central layer. Despite the homogeneity of water chemistry, the structure of the mat is specific and shows the diversity of biometric features.

The data presented confirm the usefulness of filamentous algae for the ecological monitoring of freshwater ecosystems while increasing our knowledge on the distribution and ecological range of some species. However, more experimental work is needed to know the tolerance range of species living in shallow ecosystems.

## Acknowledgements

This project is financed through the framework of grant 2014/13/B/NZ8/04690 entitled: “Physico-chemical and biological causes of ecological dominance of filamentous green algae in freshwater ecosystems” supported by the National Science Center. Marta Pikosz gratefully acknowledges a scholarship from the Adam Mickiewicz University Foundation for the academic year 2015/2016.

## References

- Berner, T., Dubinsky, Z., Wyman, K., Falkowski, P.G., 1989. Photoadaptation and the package effect in *Dunaliella teriolecta* (Chlorophyceae). *J. Phycol.* 25 (1), 70–78.
- Borja, A., Bricker, S.B., Dauer, D.M., Demetriades, N.T., Ferreira, J.G., Forbes, A.T., Hutchings, P., Jia, X., Kenchington, R., Marques, J.C., Zhu, C.B., 2008. Overview of integrative tools and methods in assessing ecological integrity in estuarine and coastal systems worldwide. *Mar. Pollut. Bull.* 56, 1519–1537.
- Bricker, S.B., Longstaff, B., Dennison, W., Jones, A., Boicourt, K., Wicks, C., Woerner, J., 2008. Effects of nutrient enrichment in the Nation's estuaries: a decade of change. *Harmful Algae* 8, 21–32.
- Chmielewska, E., Medved, J., 2001. Bioaccumulation of Heavy Metals by Green Algae *Cladophora glomerata* in a Refinery Sewage Lagoon. *Croat. Chem. Acta* 74 (1), 135–145.
- Chudyba, H., 1965. *Cladophora glomerata* and accompanying algae in the Skawa River. *Acta Hydrobiologica* 7 (1), 93–126.
- Dere, S., Günes, T., Sivaci, R., 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll-a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turk. J. Bot.* 22, 13–17.
- Dodds, W.K., Gudder, D.A., 1992. The ecology of cladophora. *J. Phycol.* 28, 415–427.
- Duarte, C.M., 1995. Submerged aquatic vegetation in relation to different nutrient regimes. *Ophelia* 41, 87–112.
- Ensminger, I., Hagen, C., Braune, W., 2000. Strategies providing success in a variable habitat: II. Ecophysiology of photosynthesis of *Cladophora glomerata*. *Plant Cell Environ.* 23, 1129–1136.
- Ensminger, I., Xyländer, M., Hagen, C., Braune, W., 2001. Strategies providing success in a variable habitat: III. Dynamic control of photosynthesis in *Cladophora glomerata*. *Plant Cell Environ.* 24 (8), 769–779.
- Garcia, M.E., Aboal, M., 2014. Environmental gradients and macroalgae in Mediterranean marshes: the case of Pego-Oliva marsh (East Iberian Peninsula). *Sci. Total Environ.* 475, 216–224.
- Green, L., Fong, P., 2015. The good, the bad and the Ulva: the density dependent role of macroalgal subsidies in influencing diversity and trophic structure of an estuarine community. *Oikos*, <http://dx.doi.org/10.1111/oik.02860>.
- Hainz, R., Wöber, C., Schagerl, M., 2009. The relationship between Spirogyra (Zygnematophyceae, Streptophyta) filament type groups and environmental conditions in Central Europe. *Aquat. Bot.* 91 (3), 173–180.
- Hard, D.D., 1992. Community organization in streams: the importance of species interactions physical factors, and chance. *Oecologia* 91, 220–228.
- Hastie, T.J., Tibshirani, R.J., 1990. Generalized Additive Models. Chapman & Hall.
- Herbst, R.P., 1969. Ecological factors and the distribution of *Cladophora glomerata* in the Great Lakes. *Am. Midl. Nat.* 82, 90–98.
- Higgins, S.N., Malkin, S.Y., Howell, T.E., Guildford, S.J., Campbell, L., Hiriart-Baer, V., Hecky, R.E., 2008. An ecological review of *Cladophora glomerata* (Chlorophyta) in the Laurentian Great Lakes. *J. Phycol.* 44 (4), 839–854.
- Hoffmann, J.P., Graham, L.E., 1984. Effects of selected physicochemical factors on growth and zoosporogenesis of *Cladophora glomerata* (Chlorophyta). *J. Phycol.* 20, 1–7.
- Horsák, M., Hájek, M., Tichý, L., Juričková, L., 2007. Plant indicator values as a tool for land mollusc autecology assessment. *Acta Oecologica* 32, 161–171.
- Hutchinson, G.E., 1957. Concluding remarks. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 22 (2), 415–427.
- Irfanullah, H., Moss, B. Md., 2005. A filamentous green algae-dominated temperate shallow lake: variations on the theme of clear-water stable states? *Arch. Hydrobiol.* 163 (1), 25–47.
- Joniak, T., Jakubowska, N., Szeląg-Wasielewska, E., 2013. Degradation of the recreational functions of urban lake: a preliminary evaluation of water turbidity and light availability (Strzeszyńskie Lake, Western Poland). *Pol. J. Nat. Sci.* 28 (1), 43–51.
- Khanum, A., 1982. An ecological study of freshwater algal mats. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 23, 89–104.
- Khantrairong, T., Traichaiyaporn, S., 2009. Production of biomass, carotenoid and nutritional values of *Cladophora* sp. (Kai) by cultivation in mass culture. *Phycologia* 48 (Suppl. (4)), 60.
- Krause-Jensen, D., McGlathery, K., Rysgaard, S., Christensen, P.B., 1996. Production within dense mats of the filamentous macroalga *Chaetomorpha linum* in relation to light and nutrient availability. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 134, 207–216.
- Krause-Jensen, D., Christensen, P.B., Rysgaard, S., 1999. Oxygen and nutrient dynamics within mats of the filamentous macroalga *Chaetomorpha linum*. *Estuaries* 22, 31–38.
- Lenzi, M., Renzi, M., Nesti, U., Gennaro, P., Persia, E., Porrello, S., 2011. Vegetation cyclic shift in eutrophic lagoon. Assessment of dystrophic risk indices based on standing crop evaluation. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 132, 99–107.

- Lenzi, M., Gennaro, P., Mercatali, I., Persia, E., Solari, D., Porrello, S., 2013. Physicochemical and nutrient variable stratifications in the water column and in macroalgal thalli as a result of high biomass mats in a non-tidal shallow-water lagoon. *Mar. Pollut. Bull.* 75 (1–2), 98–104.
- Lepš, J., Šmilauer, P., 2003. *Multivariate Analysis of Ecological Data Using CANOCO*. Cambridge University Press, Cambridge, 269 pp.
- Lester, W.W., Adams, M.S., Farmer, A.M., 1988. Effects of light and temperature on photosynthesis of the nuisance alga *Cladophora glomerata* (L.) Kütz from Green Bay, Lake Michigan. *New Phytol.* 109, 53–58.
- Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R., 1983. Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extract in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 11, 591–592.
- Littler, M.M., Littler, D.S., 1980. The evolution of thallus form and survival strategies in benthic marine macroalgae: field and laboratory tests of a functional form model. *Am. Nat.* 116 (1), 25–44.
- Malta, E., Draisma, S.G.A., Kamermans, P., 1999. Free-floating *Ulva* in the southwest Netherlands: species or morphotypes? A morphological, molecular and ecological comparison. *Eur. J. Phycol.* 34, 443–454.
- McGlathery, K.J., Krause-Jensen, D., Rysgaard, S., Christensen, P.B., 1997. Patterns of ammonium uptake within dense mats of the filamentous macroalga *Chaetomorpha linum*. *Aquat. Bot.* 59, 99–115.
- Messyasz, B., Rybak, A., 2011. Abiotic factors affecting the development of *Ulva* sp. (Ulvophyceae; Chlorophyta) in freshwater ecosystems. *Aquat. Ecol.* 45 (1), 75–87.
- Messyasz, B., Leska, B., Fabrowska, J., Pikosz, M., Roj, E., Cieslak, A., Schroeder, G., 2015a. Biomass of freshwater *Cladophora* as a raw material for agriculture and the cosmetic industry. *Open Chem.* 13, 1108–1118. <http://dx.doi.org/10.1515/chem-2015-0124>.
- Messyasz, B., Pikosz, M., Schroeder, G., Łeska, B., Fabrowska, J., 2015b. Identification and ecology of macroalgae species existing in Poland. chapter 2. In: Kim, S.K., Chojnacka, K. (Eds.), *Marine Algae Extracts: Processes, Products and Applications*, first edition. Wiley – VCH, pp. 17–39, ISBN: 978-3-527-33708-8.
- Mikulski, J., 1982. *Biologia wód śródlądowych*. PWN, Warszawa.
- Montoya-Moreno, Y., Aguirre-Ramírez, N., 2013. Knowledge to ecological preferences in a tropical epiphytic algae to use with eutrophication indicators. *J. Environ. Protect.* 4, 27–35.
- Oksanen, J., 2011. *Multivariate analysis of ecological communities*. In: R: Vegan Tutorial. R Package Version 2. 0-1.
- Ozimek, T., 1990. Aspects of the ecology of a filamentous alga in a eutrophicated lake. *Hydrobiologia* 191, 23–27.
- Painter, D.S., Kamaitis, G., 1987. Reduction of cladophora biomass and tissue phosphorus in Lake Ontario, 1972–83. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44 (12), 2212–2215.
- Philips, D.J.H., 1990. Use of macroalgae and invertebrates as monitor of heavy metals in estuaries and coastal waters. In: Furness, R.W., Rainbow, P.S. (Eds.), *Heavy Metals in Marine Environment*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 81–99.
- Pikosz, M., Messyasz, B., 2015. Composition and seasonal changes in filamentous algae in floating mats. *Oceanol. Hydrobiol. Stud.* 44 (2), 273–281.
- Pikosz, M., Messyasz, B., 2016. Characteristic of *Cladophora* and coexisting filamentous algae against a background of environmental factors in freshwater ecosystems in Poland. *Oceanol. Hydrobiol. Stud.*, in press.
- Simons, J., van Beem, A.P., 1990. Spirogyra species and accompanying algae from pools and ditches in The Netherlands. *Aquat. Bot.* 37 (3), 247–269.
- Thybo-Christesen, M., Blackburn, T.H., 1993. Internal N-cycling, measured by  $^{15}\text{NH}_4^+$  dilution, in *Cladophora sericea* in a shallow Danish bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 100, 283–296.
- Van den Hoek, C., Mann, D.G., Jahns, H.M., 1995. *Algae An Introduction to Phycology*, First edition. Cambridge University Press, pp. 623–\$9.
- Vergara, J.J., Pérez-Lloréns, J.L., Peralta, G., Hernández, I., Niell, F.X., 1997. Seasonal variation of photosynthetic performance and light attenuation in *Ulva* canopies from Palmones river estuary. *J. Phycol.* 33, 773–779.
- Whitton, B.A., 1970. Biology of freshwater cladophora. *Water Res.* 4, 457–476.
- Whitton, B.A., 1984. Algae as monitors of heavy metals in freshwaters. In: Shubert, L.E. (Ed.), *Algae as Ecological Indicators*. Academic Press, Inc., London, pp. 257–280.
- Yoshii, Y., Hanyuda, T., Wakana, I., Miyaji, K., Arai, S., Ueda, K., Inouye, I., 2004. Carotenoid compositions of *Cladophora* balls (*Aegagropila linnaei*) and some members of the Cladophorales (Ulvophyceae, Chlorophyta): Their taxonomic and evolutionary implication. *J. Phycol.* 40, 1170–1177.
- ter Braak, C.J.F., Šmilauer, P., 2002. *CANOCO Reference Manual and CanoDraw for Windows User's Guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5)*. Microcomputer Power, Ithaca, 500 pp.

## Publikacja V

**Pikosz M.,** Czerwik-Marcinkowska J., Messyasz B. 2019. The effect of *Cladophora glomerata* exudates on the amino acid composition of *Cladophora fracta* and *Rhizoclonium* sp. *Open Chemistry*, 17:313-324.

## Research Article

Marta Pikosz, Joanna Czerwik-Marcinkowska, Beata Messyasz\*

# The effect of *Cladophora glomerata* exudates on the amino acid composition of *Cladophora fracta* and *Rhizoclonium* sp.

<https://doi.org/10.1515/chem-2019-0032>

received January 17, 2019; accepted March 2, 2019.

**Abstract:** Filamentous green algae (FGA) frequently forms dense mats which can be either mono- or polyspecies. While various defense mechanisms of competition in algae are known, little is known about the interactions between different species of FGA. An experiment in controlled laboratory conditions was conducted to gather data on the changes in amino acids (AA) concentrations in FGA species in the presence of exudates from different other species. The aim of the present study was to identify the AA whose concentrations showed significant changes and to assess if the changes could be adaptation to stress conditions. The major constituents of the AA pool in *Cladophora glomerata*, *C. fracta* and *Rhizoclonium* sp. were Glutamic acid (Glu), Aspartic acid (Asp) and Leucine (Leu). In response to chemical stress, that is the increasing presence of exudates, a significant increase in the concentrations Proline (Pro) and Tryptophan (Trp) was noted. The increase in Proline levels was observed in *C. fracta* and *Rhizoclonium* in response to chemical stress induced by *C. glomerata* exudates. As the concentration of exudates increased in the medium, there was a progressive shift in the pattern of AA group in FGA.

**Keywords:** freshwater *Cladophora*; *Rhizoclonium*; biochemical changes; proline, amino acids; exudates.

## 1 Introduction

Cosmopolitan filamentous green algae (FGA) such as branched *Cladophora* and unbranched *Rhizoclonium* often experience massive growth in eutrophic water ecosystems, forming dense, seasonal mats [1-4]. The mats are varied in many ways and one of their characteristic features is the number of taxa forming them [5-7]. In some cases they are formed from only one taxon whose rapid growth monopolizes the space on the water; other species co-exist with the dominant one or disappear enhancing the dominant species [8,9]. According to Khanum [8] *Cladophora glomerata* (L.) Kützing, the most common Chlorophyta in the world, forms mainly monoalgal mats but sometimes becomes dominant in an algal community. The *C. glomerata* algae may co-exist with other *Cladophora* species or with other FGA taxa such as *Rhizoclonium*, *Oedogonium* [3,10]. Filaments of *C. glomerata* formed monoalgal mats in the Samica Stęszewska river, Lake Oporzynskie; they co-existed with *Rhizoclonium* sp. Kützing in Mogilnica river and with *Cladophora fracta* (L.) in Malta reservoir [11,12]. The wide ecological range and fast growth of *C. glomerata* is a strategy which allows it to establish dominance over other macroalgae in water ecosystems [13]. This fact, confirmed in previous studies, has shown that the species belonging to the genus *Cladophora* (*C. glomerata*, *C. rivularis*, *C. fracta*) well tolerates a wide range of habitat requirements [12,14]. Additionally, mat formation, morphological variability, and chemical defense strategies used by FGA are the components of its stress avoidance mechanisms.

Several types of interactions between algae are seen in nature, e.g. allelopathic, non-allelopathic interactions and responses to different factors like resource competition or environmental stresses [15]. In water environments, *Cladophora* displays a high level of interactions with other organisms (microalgae, macroalgae, macrophytes) related to competing for light exposure, nutrients, and attachment substrate [16]. Much of the available evidence demonstrates

\*Corresponding author: Beata Messyasz, Department of Hydrobiology, Institute of Environmental Biology, Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University, Umultowska 89, 61-614 Poznań, Poland, E-mail: messyasz@amu.edu.pl

Marta Pikosz: Department of Hydrobiology, Institute of Environmental Biology, Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University, Umultowska 89, 61-614 Poznań, Poland

Joanna Czerwik-Marcinkowska: Department of Botany, Institute of Biology, Jan Kochanowski University, Świętokrzyska 15, 25-420 Kielce, Poland

competition between macroalgae and phytoplankton including periphytic algae and macroalgae-macrophytes but not between macroalgae and macroalgae. *C. glomerata* can prevent overgrowth by periphytic diatoms because dense coverings of diatoms would interfere with nutrient uptake by *Cladophora* and therefore inhibit growth [16,17]. According to Tarmanowska [18] *C. glomerata* inhibits the growth of *Elodea canadensis* Michx. Moreover, *Cladophora* is an example of a freshwater chlorophytes species which is capable of mediating allelopathic interactions, causing an increase in allelochemical concentration in response to competitors [1,19]. The green alga *C. glomerata* synthesizes a wide variety of toxic fatty acids (capric and palmitoleic acids) which have been demonstrated to be allelopathic [1]. Extract from *C. glomerata* slightly reduces the photosynthetic rate of diatoms [17].

Although the morphological variability related to the effect of different biotic and abiotic factors is well-known, the changes in the contents of proteins synthesized in algae biomass are little known. According to literature, only changes in Proline accumulation in response to environmental stress have been studied. The defense of resources by FGA involves competition, which may influence biochemical and morphological changes in cells and filaments - which have not been yet sufficiently studied [20]. This study focuses on *C. glomerata*, the most common and dominant FGA in the world and other species interaction with *C. fracta* and *Rhizolonium* sp. We hypothesize that the presence of *C. glomerata* exudates have a significant impact on the amino acid content in *C. fracta* and *Rhizoclonium* sp. The results of this study could provide first data for understanding the mechanisms of *C. glomerata* response to competition and its strategy of stress avoidance.

## 2 Materials and methods

### 2.1 Raw materials and their collection

The study was carried out in June 2015 when freshwater populations of FGA were in the optimal phase of development. Samples of *Cladophora glomerata* were taken from the shallow Lake Oporzynskie (N52°55'; E17°9'), *Cladophora fracta* from the surface of the Malta Reservoir in Poznań (N52°24'; E16°57') and *Rhizoclonium* sp. from a pond in Poznań (N52°28'; E16°55') in Wielkopolska Province in Poland. All samples were randomly selected from the mat at a depth of about 10 cm from the water surface. The filamentous green algae samples were collected

into a plastic container and transported in a refrigerated container (at 4°C) to a laboratory. Next, the filaments were rinsed repeatedly with distilled water.

### 2.2 Microscopic identification

Morphometric measurements of the length and width of cells, pyrenoids (stained with Lugol's) and nuclei (stained by 1% acetocarmine) were made using a light microscope (LM). Images of opportunistic *C. glomerata* were made using a transmission electron microscopy (TEM), scanning electron microscopy (SEM) and light microscopy (LM). TEM images were recorded of filaments in control samples and filaments in the presence of 100% exudates. For the TEM technique, the filaments of *C. glomerata* were fixed in a mixture of glutaraldehyde (3%) in 0.1 M phosphate buffer (pH= 7.2) for two hours, washed several times in a buffer and postfixed in 1% osmium tetroxide (OsO<sub>4</sub>) in the same buffer. The cells were dehydrated by an ascending ethanol series, according to the method proposed by Farias et al. [21]. Finally, the samples were embedded in Spurr's resin (Low viscosity, ProScitech) [22] to produce a solid block, which was cut with an ultramicrotome (Leica EM UC7) at 60 nm, the ultrathin sections were contrasting in uranyl acetate, according to methods described by Reynolds [23]. Observations and photographs were carried out on a TESLA BS 500 transmission electron microscope.

### 2.3 Determination of total phenolic content

The total phenolic content of the filamentous green algae extract was determined by the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method [24]. First, 30 µL of crude extract (10 mg/mL) were diluted with distilled water to achieve 1.8 mL, mixed thoroughly with 1.5 mL of Folin-Ciocalteu, followed by the addition of 4.5 mL of 20% (w/v) sodium carbonate and 5.7 mL of distilled water. The mixture was allowed to stand for further 2 hours in the dark, and absorbance was measured at 760 nm. The total phenolic content was calculated from the calibration curve, and the results were expressed as mg of gallic acid equivalent per g dry weight.

### 2.4 Determination of pigments

Photosynthetic pigments: chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids concentrations in the filaments were analyzed according to the methods proposed by Yoshii

et al. [25] and Dere et al. [26] and were determined spectrophotometrically using the equations proposed by Lichtenthaler and Welburn [27].

## 2.5 Experimental set-up

The first experiment was designed to observe the mutual impact of filamentous green algae (*C. glomerata*, *C. fracta*, *Rhizoclonium* sp.) exudates on each other and on the composition of their amino acids. For the laboratory experiments, ca. 500 g fresh weight (FW) of either *C. glomerata*, *C. fracta* and *Rhizoclonium* sp. were placed into 3 aquaria which were fully filled up with 10 L of filtered and sterilized freshwater. FGA were acclimated and maintained in aquaria for 24 h. Then, cultures of FGA species were incubated in Wang's medium at a temperature of 21°C and in a diurnal regime (16/8 h light/dark cycle, 250  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) in phytothron (CONVIRON model CMP 6050). The cultures were left to rest for 7 days so that the green algae species secreted the exudes to the medium. Upon commencing the experiment, algal pieces of ca. 5.0 g FW (only filaments in good condition, without evidence of necrosis) were placed into 200 mL beakers. In the experiment the control sample contained Wang's medium (100 % medium) and three samples with the medium containing algae exudates at different concentrations (25, 50, 100% exudates in medium). Each level was studied in triplicate using glass containers with 200 mL of medium and 5 g of fresh algae biomass. Four series of experiments were performed; the first with *C. fracta* cultured in the medium with *C. glomerata* exudates; the second with *C. glomerata* cultured in the medium with *C. fracta* exudates; the third with *Rhizoclonium* sp. with *C. glomerata* exudates and the fourth with *C. glomerata* filaments in the presence of *Rhizoclonium* sp. exudates. Each time, after completion of the series of experiments, the FW of FGA filaments was determined, as well as their DW after drying in a laboratory oven for 2 hours at 105°C. Then, the filaments were put into plastic 100 mL containers.

## 2.6 Amino acids analysis in biomass

The algae samples were analyzed using the modified Kjeldahl procedure (AoAC 2007) for dry matter (method no. 934.01) and ash (method no. 942.05). Hydrolysis of total protein was performed according to the protocol described by Malmer and Schroeder [28]. The amino acid standards alanine (Ala), aspartic acid (Asp), arginine (Arg), cysteine (Cys), glutamic acid (Glu), glycine (Gly), histidine (His), isoleucine (Ile), leucine (Leu), lysine (Lys),

methionine (Met), phenylalanine (Phe), proline (Pro), serine (Ser), tyrosine (Tyr), threonine (Thr) and valine (Val) were from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany), and the amino acid standard tryptophan (Trp) were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). The ground algae samples were subjected to acid hydrolysis with 6 M HCl at the temperature of 383.15 K for 23 hours. Amino acids were determined using a AAA 400 amino acid analyzer (INGOS, Czech Republic) with ion exchange chromatography. Post column ninhydrin-based detection and sodium citrate buffer were used. The ninhydrin amino acid derivatives were detected using packing of column OSTION Lg ANB (column height: 35 x 0.37 cm) at 570 nm for primary amino acids and at 440 nm for secondary amino acids. Amino acid concentrations in samples were calculated from calibration plots obtained by analysis of working solutions of different concentration. The contents were expressed as  $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  of total proteins.

## 2.7 Statistical analysis

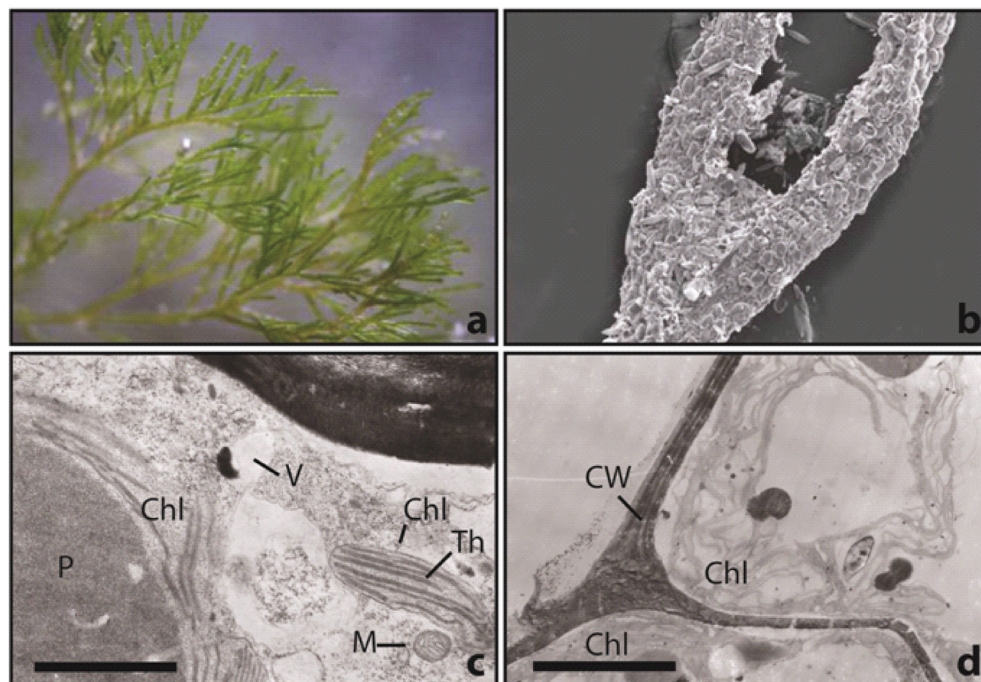
The homogeneity of the variance was analyzed using Levene's test. A One-way ANOVA followed by Tukey's RIR post hoc test was used to determine significant differences between the control and treatment groups. Statistical tests were performed with the program STATISTICA (ver. 12). Differences were considered to be significant at  $p < 0.05$ .

Ethical approval: The conducted research is not related to either human or animal use.

# 3 Results

## 3.1 Freshwater filamentous green algae: morphology and chemical composition

The studied FGA formed dense, monoalgal, free-floating mats in eutrophic freshwater ecosystems. The morphology of algae taxa was studied carefully, and the taxa were identified as *C. glomerata*, *C. fracta* and *Rhizoclonium* sp. classified as Order: Cladophorales, Class: Ulvophyceae and Phylum: Chlorophyta. The detailed taxonomic description is included in Table 1. The *C. glomerata* filaments were strongly branched and inhabited by large numbers of periphytic communities which were responsible for their roughness (Figure 1). Each cell in the branching filaments of *C. glomerata* is multinucleate and contains many discoid chloroplasts in peripheral arrangement. The pyrenoid is bilenticular and is divided into two hemispheres by a single thylakoid, and each hemisphere is covered by a



**Figure 1:** Details of the ultrastructure of *Cladophora glomerata* thalli: a – general view of branched filaments (LM); b - surface of filament inhabited by periphytic diatoms (SEM); c – TEM micrograph of mitochondrion (M) in the vicinity of chloroplast (Chl) and pyrenoid (P) surrounded by chloroplast; the arrangement of thylakoids (Th) in chloroplast; internal singular vacuole (V) well organized; d – cell wall (CW), external layer and internal division of two cells; lipids on the chloroplast (Chl); (c, d – scale bar = 0.5  $\mu\text{m}$ ).

**Table 1:** Morphology and chemical characteristic of freshwater green algae (values: minimum – maximum or mean $\pm$ SD, n=30 for morphology data, n=3 for chemical data).

	Taxon Features	<i>Cladophora glomerata</i>	<i>Cladophora fracta</i>	<i>Rhizoclonium sp.</i>
MORPHOLOGY	Filaments characteristic	dark green, rough in touch, often trichotomies and subtending branching	yellow green, delicate, branching frequent	dark green, long, rough in touch, mainly without branched or only with short branched
	Cell shape	cylindrical, elongated	cylindrical	cylindrical
	Cell width ( $\mu\text{m}$ )	30 – 70	20 – 31	20 - 55
	Cell length ( $\mu\text{m}$ )	125 – 400	50 – 155	70 - 174
	Shape of chloroplasts	reticulate	parietal	reticulate/parietal
	Diameter of pyrenoids ( $\mu\text{m}$ )	4.5 - 7.2	2.8 - 5.6	2.9-5.5
	Diameter of nuclei ( $\mu\text{m}$ )	3.8 - 8.5	1.9 - 4.1	2.2-4.6
CHEMICAL COMPOUNDS	Pigments ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ):			
	Chl a	8.45 $\pm$ 0.18	3.13 $\pm$ 0.12	4.43 $\pm$ 0.10
	Chl b	6.36 $\pm$ 0.11	2.95 $\pm$ 0.07	2.81 $\pm$ 0.08
	Carotenoids	2.32 $\pm$ 0.03	0.72 $\pm$ 0.05	1.15 $\pm$ 0.03
	Amino Acid (g $\cdot$ 100g $^{-1}$ ) of total protein)	18 AA 91.17 $\pm$ 0.24	18 AA 90.33 $\pm$ 0.28	18 AA 90.30 $\pm$ 0.37
	Total phenolic content mg gallic acid equivalent (GAE)/g DW	17.32 $\pm$ 0.23	11.55 $\pm$ 0.21	12.28 $\pm$ 0.14

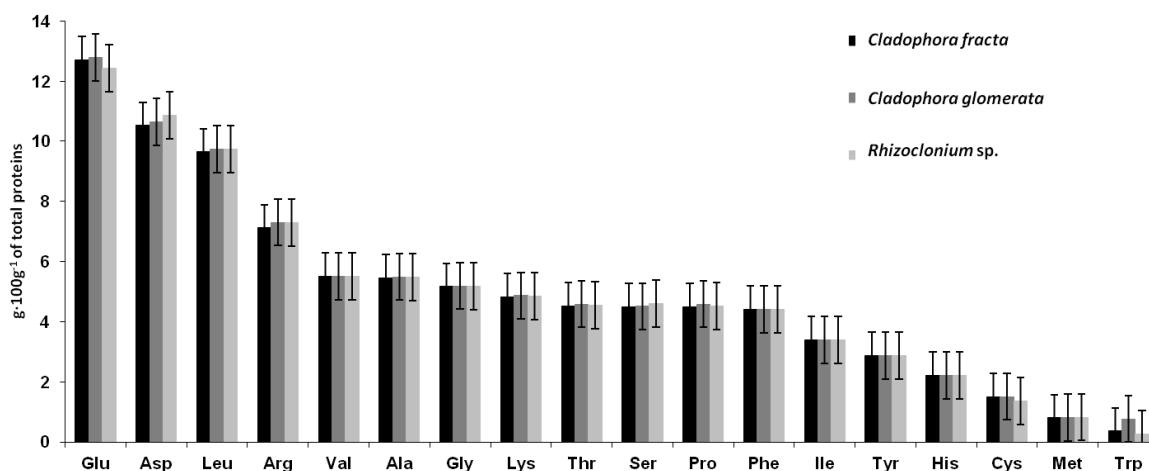


Figure 2: Amino acid profile in study algae (g·100g<sup>-1</sup> of total protein).

bowl-shaped starch grain. Each chloroplast is densely packed with tightly appressed thylakoids which are often paired. Grains of starch are distributed through the stroma of the chloroplast. The nucleus has a very large nucleolus. Each cell contains a single Golgi body, and two, sometimes three large, elongated mitochondria with very long cristae. In the cell cross-section, the greater part of the cell can be seen occupied by a central vacuole surrounded by a thin layer of cytoplasm. The cell walls are multilayered and composed of microfibrils (12-22 nm in diameter) arranged in parallel to each other. In contrast, *C. fracta* cells were more delicate, its filaments were thinner than those of the other FGA studied and were like cotton to the touch. Filaments of *Rhizoclonium sp.* were characterized by the same width close to 50  $\mu\text{m}$ . Among the studied algae, *C. glomerata* had got the highest content of pigments, amino acids and total phenolic content (Table 1). The chl a, chl b and carotenoids concentration in *C. glomerata* biomass was almost twice higher than in *C. fracta* or in *Rhizoclonium sp.* In the studied FGA the same 18 amino acids have been identified (Figure 2). The relative abundance of AA in *C. fracta* decreases in the order: Glu > Asp > Leu > Arg > Val > Ala > Gly > Lys > Thr > Ser > Pro > Phe > Ile > Tyr > His > Cys > Met > Trp. The analogous order for *C. glomerata* was: Glu > Asp > Leu > Arg > Val > Ala > Gly > Lys > Thr > Pro > Ser > Phe > Ile > Tyr > His > Cys > Met > Trp. In *Rhizoclonium sp.* the distribution order from higher to lower was: Glu > Asp > Leu > Arg > Val > Ala > Gly > Lys > Ser > Thr > Pro > Phe > Ile > Tyr > His > Cys > Met > Trp. The abundance of AA in the studied FGA decreased in similar order and varied only in the sequence of Thr, Ser and Pro (underlined). Moreover, a considerable difference in phenols content was noted for the taxa studied and its highest concentration was in *C. glomerata*.

## 3.2 Amino acid composition

### 3.2.1 Impact of exudates from *C. glomerata* on *C. fracta* amino acids production

In *C. fracta* filaments the presence of 18 amino acids was identified. Glutamic acid (Glu), Aspartic acid (Asp) and Leucine (Leu) were the most frequent (>10% of total AA content) while the least frequent (<1% of total AA content) was Methionine (Met) and Tryptophan (Trp) (Table 2). Production of AA in *C. fracta* cells was significantly higher for the filaments growing in the medium with *C. glomerata* exudates than in the control sample. For 12 AA the changes were statistically significant (Table 2). The concentration of 6 AA in the *C. fracta* cells was increased in response to increasing the exudates content. The greatest changes were observed for Proline: from 4.497 g·100g<sup>-1</sup> of total protein in the control sample to 6.523 g·100g<sup>-1</sup> of total protein in the medium with 100% of algal exudates and Tryptophan (Trp) from 0.359 to 0.466 g·100g<sup>-1</sup>, respectively. However the content of Asp, Glu significantly increased only in the medium with the highest exudates concentration (100%), in contrast to the contents of Ala, Lys and Phe which decreased (Table 2, S1).

### 3.2.2 Impact of exudates from *C. fracta* on *C. glomerata* amino acids production

The data in Table 3 show changes in the 18 amino acids levels in *Cladophora glomerata* thalli from the culture in the medium with *C. fracta* exudates. The most abundant amino acids in *C. glomerata* filaments were Glu, Asp, Leu and Arg. The results indicate a gradual increase in the

**Table 2:** The content of amino acids (AA) in *Cladophora fracta* biomass cultured in medium with exudates from *C. glomerata* in 3 series (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; df=3; bold - statistically significant, P<0.05; gray selection - fluctuation in the content of amino acid > 10%).

Impact of exudates extracted from <i>C. glomerata</i> on <i>C. fracta</i> AA production						
AA	Control	25% exudate	50% exudates	100% exudate	F <sub>3,8</sub>	P
Glutamic acid (Glu)	<b>12.690±0.008</b>	<b>12.706±0.007</b>	<b>12.704±0.002</b>	<b>12.731±0.003</b>	<b>8.939</b>	<b>0.000120</b>
Aspartic acid (Asp)	<b>10.527±0.002</b>	<b>10.528±0.004</b>	<b>10.532±0.002</b>	<b>10.567±0.004</b>	<b>1.561</b>	<b>0.000001</b>
Leucine (Leu)	9.646±0.002	9.646±0.004	9.650±0.002	9.651±0.002	2.224	0.162901
Arginine (Arg)	<b>7.412±0.001</b>	<b>7.409±0.002</b>	<b>7.413±0.002</b>	<b>7.414±0.001</b>	<b>5.333</b>	<b>0.026000</b>
Alanine (Ala)	5.457±0.001	5.456±0.004	5.459±0.002	5.164±0.510	0.990	0.444947
Valine (Val)	<b>5.512±0.001</b>	<b>5.510±0.002</b>	<b>5.512±0.002</b>	<b>5.517±0.005</b>	<b>4.444</b>	<b>0.040679</b>
Glycine (Gly)	<b>5.173±0.001</b>	<b>5.171±0.003</b>	<b>5.174±0.001</b>	<b>5.179±0.003</b>	<b>7.379</b>	<b>0.010840</b>
Lysine (Lys)	<b>4.824±0.001</b>	<b>4.825±0.001</b>	<b>4.827±0.002</b>	<b>4.799±0.003</b>	<b>1.186</b>	<b>0.000000</b>
Proline (Pro)	<b>4.496±0.002</b>	<b>4.553±0.005</b>	<b>5.464±0.004</b>	<b>6.523±0.03</b>	<b>5.290</b>	<b>0.000000</b>
Serine (Ser)	4.502±0.001	4.504±0.002	4.506±0.002	4.506±0.003	2.119	0.176059
Threonine (Thr)	4.527±0.001	4.525±0.007	4.530±0.001	4.536±0.117	3.916	0.054420
Phenylalanine (Phe)	4.410±0.001	4.410±0.002	4.412±0.002	4.345±0.001	0.939	0.465777
Isoleucine (Ile)	<b>3.401±0.002</b>	<b>3.392±0.005</b>	<b>3.402±0.001</b>	<b>3.407±0.003</b>	<b>17.194</b>	<b>0.000756</b>
Tyrosine (Tyr)	2.873±0.002	2.871±0.002	2.870±0.005	2.876±0.002	2.733	0.113590
Histidine (His)	<b>2.207±0.001</b>	<b>2.209±0.002</b>	<b>2.209±0.002</b>	<b>2.212±0.003</b>	<b>4.471</b>	<b>0.040118</b>
Cysteine (Cys)	<b>1.505±0.002</b>	<b>1.501±0.003</b>	<b>1.503±0.001</b>	<b>1.509±0.005</b>	<b>6.925</b>	<b>0.012961</b>
Methionine (Met)	<b>0.798±0.002</b>	<b>0.797±0.003</b>	<b>0.811±0.001</b>	<b>0.815±0.002</b>	<b>26.589</b>	<b>0.000164</b>
Tryptophan (Trp)	<b>0.357±0.002</b>	<b>0.364±0.002</b>	<b>0.382±0.001</b>	<b>0.466±0.001</b>	<b>30.667</b>	<b>0.000000</b>

contribution of all AA in *C. glomerata*, but significant changes occurred only for the samples from the medium containing 50% or 100% of *C. fracta* exudates. The effect was the same for all of amino acids in *C. glomerata* (Table S2). The content of Proline was increased from 4.5 to 4.9 g·100g<sup>-1</sup> of total proteins and it was the highest change in the AA compositions.

### 3.2.3 Impact of exudates from *C. glomerata* on *Rhizoclonium* sp. amino acids production

Amino acids in *Rhizoclonium* sp. showed a different response to addition of exudates from *C. glomerata*. The effect of experiment was irregular: the level of AA increased or decreased in response to addition of the exudates (Table 4). The contents of Proline and Lysine increased in the sample with the maximal concentration of macroalgal exudates when compared to those in the control sample.

However, the contents of Asp, Ile and Tyr were reduced in the sample with 100% exudates relative to those in the control sample. The changes in the concentration of the other AA were less pronounced, although all changes in AA were statistically significant (Table S3).

### 3.2.4 Impact of exudates from *Rhizoclonium* sp. on *C. glomerata* amino acids production

The results shown in the Table 5 indicate a gradual increase in the contribution of all AAs in *C. glomerata* in response to the addition of *Rhizoclonium* sp. exudates. The results were statistically significant for all of the amino acids in *C. glomerata*. Changes in Proline content varied from 4.58 to 5.12 g·100g<sup>-1</sup> of total proteins and its increase was the highest from among all AA studied (Table S4).

**Table 3:** The content of amino acids (AA) in *Cladophora glomerata* biomass (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; df=3; bold - statistically significant, p<0.05; gray selection - fluctuation in the content of amino acid > 10%).

Impact of exudates extracted from <i>C. fracta</i> on <i>C. glomerata</i> AA production						
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate	F <sub>3,8</sub>	P
Glutamic acid (Glu)	12.781±0.001	12.787±0.002	12.789±0.001	13.149±0.003	24.74	0.000000
Aspartic acid (Asp)	10.648±0.002	10.652±0.003	10.657±0.001	11.006±0.003	16.27	0.000000
Leucine (Leu)	9.735±0.001	9.740±0.001	9.747±0.001	9.967±0.002	21.19	0.000000
Arginine (Arg)	7.302±0.002	7.307±0.001	7.311±0.001	7.633±0.002	30.29	0.000000
Alanine (Ala)	5.492±0.001	5.503±0.002	5.509±0.001	5.586±0.002	28.03	0.000000
Valine (Val)	5.507±0.002	5.509±0.001	5.513±0.001	5.532±0.003	1.79	0.000000
Glycine (Gly)	5.185±0.002	5.193±0.002	5.200±0.001	5.224±0.001	2.48	0.000000
Lysine (Lys)	4.862±0.002	4.867±0.002	4.903±0.001	4.939±0.002	1.38	0.000000
Proline (Pro)	4.581±0.002	4.594±0.003	4.609±0.001	4.996±0.010	3.14	0.000000
Serine (Ser)	4.512±0.002	4.513±0.001	4.518±0.001	4.554±0.004	2.74	0.000000
Threonine (Thr)	4.586±0.002	4.590±0.001	4.596±0.001	4.627±0.002	5.44	0.000000
Phenylalanine (Phe)	4.406±0.002	4.411±0.002	4.417±0.001	4.445±0.003	1.93	0.000000
Isoleucine (Ile)	3.392±0.002	3.404±0.003	3.743±0.001	3.767±0.578	0.77	0.544255
Tyrosine (Tyr)	2.875±0.002	2.878±0.004	2.886±0.001	2.917±0.001	2.69	0.000000
Histidine (His)	2.213±0.002	2.216±0.002	2.219±0.001	2.240±0.002	1.29	0.000000
Cysteine (Cys)	1.508±0.002	1.511±0.001	1.519±0.001	1.546±0.003	1.34	0.000000
Methionine (Met)	0.810±0.002	0.814±0.002	0.819±0.001	0.832±0.003	6.91	0.000000
Tryptophan (Trp)	0.765±0.002	0.836±0.001	0.861±0.001	0.943±0.002	6.89	0.000000

### 3.3 Changes in *Cladophora glomerata* cell structure

Cell components such as chloroplasts, mitochondria, starch grains, lipid bodies, nuclei, and small vacuole were well organized and visible in the control samples. Changes caused by the presence of exudates were also observed in morphological features, i.e. the width of cell wall, shape and diameter of pyrenoids and in chloroplast arrangement. We observed (using TEM) these changes in *C. glomerata* in the control samples (Figure 3a,c,e) relative to the analogous features in the samples cultured in the medium with the highest concentration of exudates (Figure 3b,d,f). High magnification image of the cell wall clearly shows the parallel organization of the cellulose fibrils and the cell wall thinner (3.5 µm) in the control medium (Figure 3a) than (4.3 µm) in the medium with 100% exudates (Figure 4). The difference in diameter of pyrenoids were up to 3µm and the external layer was fuzzy (Figure 3c,d). Mitochondria were well organized

in the control sample cells, and the parallel thylakoids membranes of the chloroplast were well preserved. Chloroplasts were in peripheral arrangement and were densely packed with tightly appressed thylakoids but under stress condition they were more rarely packed (Figure 3e,f).

## 4 Discussion

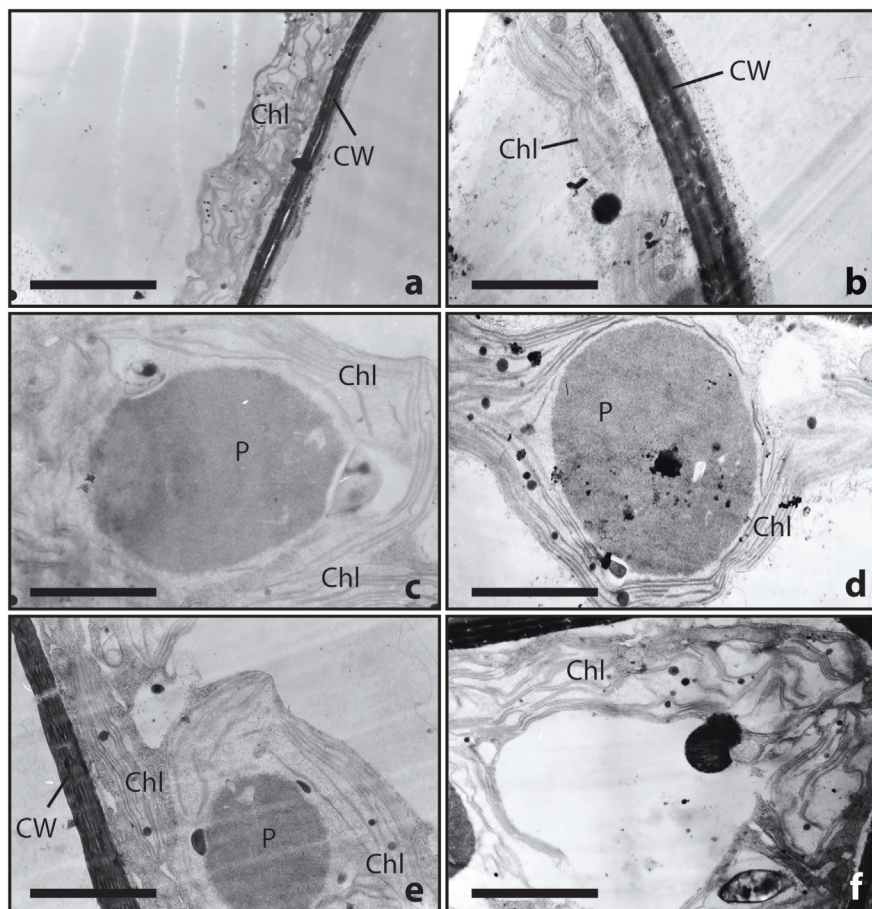
The results of our study have evidenced that filamentous green algae respond to the presence of other FGA species in the natural environment. The competition between different species of macroalgae may lead to the exchange of particular species in the community structure. We have shown for the first time the evidence of morphological changes at the cellular level in the filaments of *C. glomerata* in response to a biotic factor which is the appearance of exudates as a result of thalli accumulation. The effect of abiotic factors on morphological changes has been

**Table 4:** The content of amino acids (AA) in *Rhizoclonium* sp. biomass (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; df=3; bold - statistically significant, p<0.05; gray selection - fluctuation in the content of amino acid > 10%).

Impact of exudates extracted <i>C. glomerata</i> on <i>Rhizoclonium</i> sp. AA production						
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate	F <sub>3,8</sub>	p
Glutamic acid (Glu)	12.431±0.002	12.702±0.006	12.566±0.003	12.716±0.004	4.12	0.000000
Aspartic acid (Asp)	10.863±0.001	10.541±0.002	10.702±0.003	10.551±0.003	1.29	0.000000
Leucine (Leu)	9.731±0.002	9.697±0.002	9.714±0.003	9.721±0.002	1.64	0.000000
Arginine (Arg)	7.298±0.001	7.253±0.040	7.276±0.004	7.313±0.002	5.0	0.027661
Alanine (Ala)	5.469±0.001	5.470±0.002	5.469±0.004	5.481±0.002	1.3	0.002032
Valine (Val)	5.509±0.002	5.514±0.006	5.512±0.004	5.531±0.002	2.5	0.000192
Glycine (Gly)	5.178±0.001	5.182±0.002	5.180±0.001	5.207±0.002	1.57	0.000000
Lysine (Lys)	4.842±0.001	4.844±0.002	4.843±0.002	8.520±0.001	4.34	0.000000
Proline (Pro)	4.514±0.001	4.567±0.002	4.541±0.007	6.946±0.013	7.39	0.000000
Serine (Ser)	4.612±0.001	4.616±0.005	4.614±0.002	4.627±0.002	1.4	0.001374
Threonine (Thr)	4.536±0.001	4.538±0.002	4.537±0.001	4.547±0.002	3.9	0.000039
Phenylalanine (Phe)	4.402±0.001	3.387±0.002	3.895±0.002	3.406±0.004	12.88	0.000000
Isoleucine (Ile)	3.387±0.002	2.872±0.002	3.130±0.003	2.898±0.008	9.9	0.000000
Tyrosine (Tyr)	2.869±0.001	2.212±0.003	2.541±0.002	2.225±0.002	7.89	0.000000
Histidine (His)	2.211±0.001	2.218±0.001	2.215±0.001	2.223±0.002	6.7	0.000005
Cysteine (Cys)	1.356±0.001	1.359±0.001	1.357±0.001	1.370±0.002	7.2	0.000004
Methionine (Met)	0.824±0.001	0.818±0.008	0.821±0.002	0.837±0.003	1.0	0.004162
Tryptophan (Trp)	0.268±0.001	0.275±0.002	0.271±0.003	0.314±0.002	3.31	0.000000

**Table 5:** The content of amino acids (AA) in *Cladophora glomerata* biomass. (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; df=3; bold - statistically significant, p<0.05; gray selection - fluctuation in the content of amino acid > 10%).

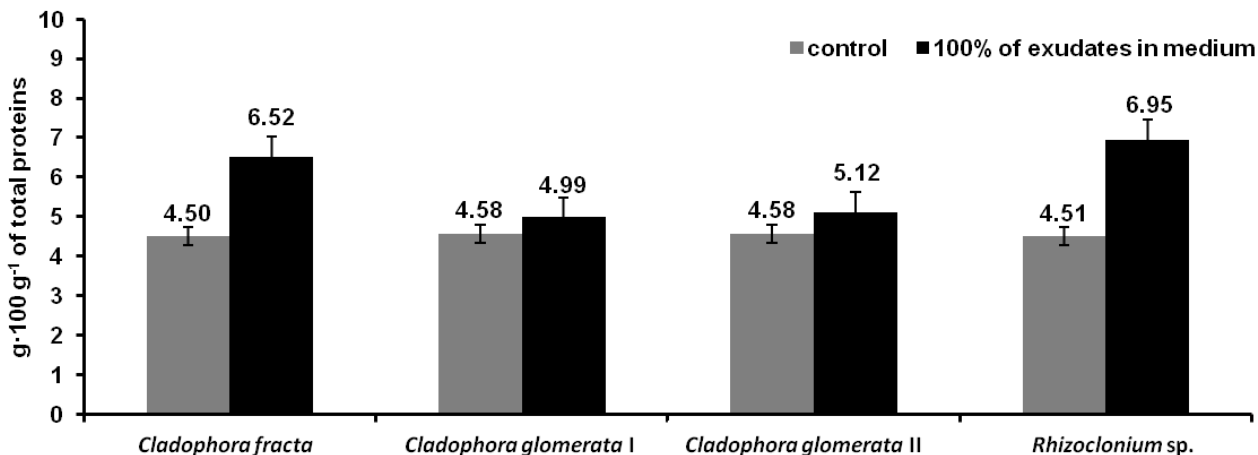
Impact of exudates extracted <i>Rhizoclonium</i> sp. on <i>C. glomerata</i> AA production						
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate	F <sub>3,8</sub>	p
Glutamic acid (Glu)	12.774±0.002	12.778±0.002	12.783±0.002	12.896±0.002	2.64	0.000000
Aspartic acid (Asp)	10.639±0.001	10.643±0.002	10.646±0.001	10.970±0.003	2.84	0.000000
Leucine (Leu)	9.728±0.002	9.730±0.001	9.733±0.002	9.835±0.003	3.78	0.000000
Arginine (Arg)	7.302±0.001	7.306±0.002	7.309±0.002	7.431±0.002	4.60	0.000000
Alanine (Ala)	5.487±0.002	5.491±0.002	5.507±0.001	5.523±0.002	1.20	0.000001
Valine (Val)	5.501±0.001	5.504±0.002	5.518±0.001	5.521±0.002	3.50	0.000000
Glycine (Gly)	5.183±0.002	5.193±0.002	5.205±0.002	5.223±0.002	9.08	0.000000
Lysine (Lys)	4.861±0.001	4.871±0.002	4.895±0.001	4.925±0.002	41.47	0.000000
Proline (Pro)	4.579±0.001	4.599±0.001	4.637±0.002	5.123±0.004	4.47	0.000000
Serine (Ser)	4.508±0.001	4.511±0.001	4.519±0.003	4.548±0.001	7.05	0.000003
Threonine (Thr)	4.587±0.001	4.592±0.004	4.603±0.004	4.612±0.002	2.78	0.000000
Phenylalanine (Phe)	4.405±0.001	4.408±0.002	4.413±0.001	4.439±0.003	6.51	0.000000
Isoleucine (Ile)	3.390±0.001	3.393±0.002	3.402±0.001	3.427±0.001	2.11	0.000000
Tyrosine (Tyr)	2.872±0.001	2.875±0.002	2.881±0.002	2.913±0.004	1.63	0.000001
Histidine (His)	2.207±0.001	2.211±0.002	2.221±0.003	2.233±0.002	1.46	0.000000
Cysteine (Cys)	1.508±0.001	1.512±0.001	1.524±0.001	1.529±0.002	1.17	0.000000
Methionine (Met)	0.805±0.001	0.810±0.002	0.810±0.001	0.827±0.002	2.16	0.000000
Tryptophan (Trp)	0.767±0.001	0.825±0.002	0.825±0.003	0.915±0.003	2.64	0.000000



**Figure 3:** Ultrastructure analysis by transmission electron microscopy (TEM) of *Cladophora glomerata* with (right side) and without stress (left side): a – thin cell wall (CW) and normal chloroplast (Chl), b – multilayered cell walls (CW) and chloroplast (Chl); c, d – pyrenoid (P) surrounded by the chloroplast (Chl); e – multilayered cell wall (CW), chloroplast (Chl) and pyrenoid (P), f – cross section of filament showing chloroplast (Chl) (scale bar: 0.2  $\mu\text{m}$ ).

partly described by Whitton [16], Pikosz and Messyas [12]. Filamentous green algae often form monospecies mats in water ecosystems. Ecological characteristics of certain species may lead to their definite domination, as e.g. *C. glomerata* which is the most common FGA in the world [16]. Other species of filamentous green algae, as *Cladophora rivularis* (L) Kuntze and *Rhizoclonium* sp., do not occur so frequently or are less abundant [12]. The important outcome of our study is the evidence that the interactions between the macroalgae species can lead to changes in their biochemical structure. The green algae species selected for our study responded to the presence of exudates of other species recognized as competitors for the environment resources through changes in the quantitative composition of amino acids. In *C. fracta* and *Rhizoclonium* sp. the changes in AA profile were visible at the lower exudates concentration than in *C. glomerata*. It may explain, why *C. fracta* and *Rhizoclonium* sp. more

rarely formed monoalgal mats and are rarely dominant in algae structures. Furthermore, different responses in AA contents were observed for *C. rivularis* and *Rhizoclonium* sp. under *C. glomerata* pressure. In *C. fracta* the changes in the content of three AA were more pronounced in the sample having the highest concentration of exudates (100%) than in the control sample. Ala decreased from 5.4 to 5.1  $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  of total proteins, Trp increased from 0.36 to 0.46  $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  of total proteins (30% of fluctuation in the content of amino acid) and the most pronounced changes were observed for Pro whose content increased from 4.49 to 6.5  $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  of total proteins (45%). However, in *Rhizoclonium* sp. the following changes in the contents of seven amino acids were observed, the concentrations of Pro (53% of fluctuation in the content of amino acid), Lys (75%), Trp (17%) and Glu increased, while those of Asp, Phe (22%) and Tyr (22%) decreased. The highest changes were noted for Lysine from 4.8 to 8.5  $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  of



**Figure 4:** Diagram of Proline concentration in algae cell in control and in medium with 100% of exudates (*C. fracta* with 100% of *C. glomerata* exudates, *C. glomerata* I with 100% of exudates of *C. fracta*, *C. glomerata* II with 100% of exudates of *Rhizoclonium* sp. and *Rhizoclonium* sp. with 100% of *C. glomerata* exudates).

total proteins (30%) and Proline increased from 4.8 to 6.9 g·100g<sup>-1</sup> of total proteins (53%). An interesting observation is that the changes in the AA composition of *C. glomerata* in response to the presence of *C. rivularis* and *Rhizoclonium* sp. exudates are different. The changes in concentrations in AA in *C. glomerata* in response to the presence of *C. fracta* exudates were detected for seven amino acids (Leu, Glu, Asp, Arg, Pro – 11%, Ile, Trp – 19%), while in response to the *Rhizoclonium* sp. exudate only in one (Pro - 9% - 30% of fluctuation in the content of amino acid). This phenomenon confirms the *C. glomerata* plasticity and the fact that this species shows a wide ecological range [16].

The protein content of algae can vary according to the species, seasonal period, environmental condition and geographic area [29]. Amsler [30] determined the amino acid composition of 8 species of macroalgae and the most abundant AA were Asp, Glu, Lys, His, Val and Ala. *C. glomerata* contained 17 amino acids and Glutamic acid and Aspartic acid were detected in the highest contents in the filaments collected from the lake [11,31]. According to our results, the same AA were dominant, but we also observed the presence of Tryptophan. The major abundant amino acids (from 17 AA) identified in the freshwater *Rhizoclonium hieroglyphicum* (C. Agardh) Kützing from Northern Thailand were Tryptophan, Tyrosine and Phenylalanine [32]. Their content was lower than that of AA in freshwater *Rhizoclonium* sp. from our study, in which also Arg was noted. Interestingly, protein concentration in marine *C. glomerata* range about 20% of dry basic [33], while total protein content was slightly

smaller and ranged from 12.75% to 14.45% in freshwater *Cladophora* [31].

Kaur and Asthir [34] suggest that accumulation of Proline is a common physiological response in plants exposed to various environmental stress, mainly high soil salinity, drought, oxidative stress, heavy metals presence. In the control samples for all individual taxa, the Proline content was at the same level (about 4.5 g·100g<sup>-1</sup> of total proteins). The Proline content increased as a result of increasing content of exudation, a biotic stressor, both in *C. glomerata*, *C. fracta* and *Rhizoclonium* sp. However in *C. fracta* and *Rhizoclonium* sp. there was a higher increase in Proline production than in *C. glomerata* (Figure 4). Slight differences were observed in the changes of Proline content in *C. glomerata* cultured in the medium with exudates of different macroalgae. The content of Proline in *C. glomerata* cultured with exudates of *Rhizoclonium* sp. (*C. glomerata* II in Figure 4) was higher than in *C. glomerata* cultured with exudates of *C. fracta* (*C. glomerata* I in Figure 4).

There are a lot of factors which influence the morphometric features of *C. glomerata*, including seasonality, stage of development, physicochemical parameters of water. The thickness of the *C. glomerata* cell wall may show seasonal variations, for example the samples from June had thinner cell walls than the samples from July [35]. However, results of this study indicate that also biotic factors may affect the morphological structure of the cell.

## 5 Conclusions

The results of the experiment with the three taxa of green algae *C. glomerata*, *C. fracta* and *Rhizoclonium* sp., show that the changes in amino acids production depend on FGA species and exudates concentration. Generally, the amount of some amino acids increased with increasing exudates concentrations. *C. fracta* and *Rhizoclonium* sp. react (by changes in AA profile) at the minimum *C. glomerata* exudates in medium, it was visible mainly in Proline concentration. We also observed, that *C. glomerata* produced more amino acids in response to exudates from the other FGA, but its response was noted only in the highest exudate concentration. Important are results which show that one species can have different strategies. To find out why *C. glomerata* monopolizes water surface, although this species occupies the same niche as the other filamentous green algae, a future study is needed to establish the composition of its secretions.

**Acknowledgements:** This project is financed in the framework of grant 2014/13/B/NZ8/04690 entitled: “Physico-chemical and biological causes of ecological dominance of filamentous green algae in freshwater ecosystems” attributed by the National Science Center.

**Conflict of interest:** Authors declare no conflict of interest.

## References

- [1] Dodds W. K., Gudder D.A., The ecology of *Cladophora*, J. Phycol., 1992, 28, 415-27.
- [2] Wetzel R.G., Limnology. Lake and River ecosystems, 3rd ed. Academic Press, 2001.
- [3] Pieczyńska E., Eutrophication of shallow lakes – importance of macrophytes, Wiadomości Ekologiczne, 2008, 54(1), 3-28.
- [4] Mareš J., Leskinen E., Sitkowska M., Skácelová O., Blomster J., True identity of the European freshwater Ulva (Chlorophyta, Ulvophyceae) revealed by a combined molecular and morphological approach, J. Phycol., 2011, 47(5), 1177-1192.
- [5] Saunders L.L., Metaphyton mat conditions and their effects on filamentous algal communities and their diatom epiphytes. Thesis, Faculty of Drexel University, 2009.
- [6] Pikosz M., *Oedogonium capillare* (Chlorophyta, Oedogoniales) from the new site in Poland. Creative Science-Monography, Creative Time, 2012, 3, 7-9.
- [7] Messyasz B., Pikosz M., Treska E., Biology of freshwater macroalgae and their distribution, In: Chojnacka K., Wieczorek P.P., Schroeder G., Michalak I. (Eds), Algae Biomass: Characteristics and Applications. Towards algae-based products. Springer Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2018, 3, 17-31.
- [8] Khanum A., An ecological study of freshwater algal mats, Bot. Bull. Academia Sinica, 1982, 23, 89-104.
- [9] Pikosz M., Messyasz B., Composition and seasonal changes in filamentous algae in floating mats, Oceanol Hydrobiol Stud, 2015, 44(2), 273-281.
- [10] Lembi C. A., Relative Tolerance of Mat-forming Algae to Copper, J. Aquat. Plant Manage, 2000, 38, 68-70.
- [11] Messyasz B., Leska B., Fabrowska J., Pikosz M., Roj E., Cieslak A., Schroeder G., Biomass of freshwater *Cladophora* as a raw material for agriculture and the cosmetic industry, Open Chemistry, 2015, 13, 1108-1118.
- [12] Pikosz M., Messyasz B., Characteristic of *Cladophora* and coexisting filamentous algae against a background of environmental factors in freshwater ecosystems in Poland, Oceanol Hydrobiol Stud, 2016, 45(2), 202-215.
- [13] Ensminger I., Xyländer M., Hagen C., Braune W., Strategies providing success in a variable habitat: III. Dynamic control of photosynthesis in *Cladophora glomerata*, Plant Cell Environ., 2001, 24(8), 769-779.
- [14] Pikosz M., Messyasz B., Gabka M., Functional structure of algal mat (*Cladophora glomerata*) in a freshwater in western Poland, Ecol Indic, 2017, 74, 1-9.
- [15] Irfanullah H. Md., Moss B., A filamentous green algae-dominated temperate shallow lake: Variations on the theme of clear-water stable states?, Arch. Hydrobiol., 2005, 163(1), 25-47.
- [16] Whitton B.A., Biology of freshwater *Cladophora*, Water Res., 1970, 4, 457-476.
- [17] Dodds W.K., Community interactions between the filamentous alga *Cladophora glomerata* (L.) Kuetzing, its epiphytes, and epiphyte grazers, Oecologia, 1991, 85, 572-80.
- [18] Tarmanowska A., Laboratory studies on the influence of living and decomposing filamentous algae on the growth of *Elodea canadensis* Michx., Acta Botanica Gallica, 1995, 142, 685-692.
- [19] Fabrowska J., Messyasz B., Pankiewicz R., Wilinska P., Leska B., Seasonal differences in the content of phenols and pigments in thalli of freshwater *Cladophora glomerata* and its habitat, Water Res., 2018, 135, 66-74.
- [20] Messyasz B., Łęska B., Pikosz M., Fabrowska J., Cieślak A., Schroeder G., Effects of organic compounds on the macroalgae culture of freshwater *Aegagropila*, Open Chemistry, 2015, 13, 1040-1044.
- [21] Farias D.R., Simioni C., Poltronieri E., Bouzon Z.L., Macleod C.K., Fine-tuning transmission electron microscopy methods to evaluate the cellular architecture of Ulvacean seaweeds (Chlorophyta), Micron, 2017, 96, 48-56.
- [22] Spurr A., A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy, J Ultra Res., 1969, 26(1-2), 31-43.
- [23] Reynolds E.S., The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy, J Cell Biol., 1963, 17, 208-12.
- [24] Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, Methods Enzymol, 1999, 299, 152-178.
- [25] Yoshii Y., Hanyuda T., Wakana I., Miyaji K., Arai S., Ueda K., Inouye I., Carotenoid compositions of *Cladophora* balls (*Aegagropila linnaei*) and some members of the Cladophorales

- (Ulvophyceae, Chlorophyta): Their taxonomic and evolutionary implication, *J. Phycol.*, 2004, 40, 1170-1177.
- [26] Dere S., Günes T., Sivaci R., Spectrophotometric determination of chlorophyll-a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents, *Turk. J. Bot.*, 1998, 22, 13-17.
- [27] Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R., Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extract in different solvents, *Biochem. Soc. Trans.*, 1983, 11, 591-592.
- [28] Malmer M.F., Schroeder L.A., Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography with methanesulfonic acid hydrolysis and 9-fluorenylmethyl-chloroformate derivatization, *J. of Chromat. A*, 1990, 514, 227-239.
- [29] Haroon A.M., The biochemical composition of *Enteromorpha* spp. from the Gulf of Gdańsk coast on the southern Baltic Sea, *Oceanologia*, 2000, 42(1), 19-28.
- [30] Amsler, C.D., *Algal Chemical Ecology*, Springer – Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany, 2008, 322
- [31] Messyasz B., Leska B., Pikosz M., Fabrowska J., Schroeder G., Characteristic of bioactive compounds from biomass of freshwater *Cladophora glomerata*, *Eur J Phycol*, 2015, 50,1, 140-141
- [32] Mungmai L., Jiranusornkul S., Peerapornpisal Y., Sirithunyalug B., Leelapornpisid P., Extraction characterization and biological activities of extracts from freshwater macroalga (*Rhizoclonium hieroglyphicum* (C. Agardh) Kützing) cultivated in northern Thailand, *Chiang Mai J. Sci.*, 2014, 41(1), 14-26.
- [33] Manivannan K., Thirumaran G., Karthikai Devi G., Anantharaman P., Balasubramanian T., Proximate composition of different groups of seaweeds from Vedalai coastal waters (Gulf of Mannar): southeast coast of India, Middle-East, *J. Sci. Res.*, 2009, 4 (2), 72–77.
- [34] Kaur G., Asthir B., Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance, *Biol Plant*, 2015, 59, 609.
- [35] Pankiewicz R., Leska B., Messyasz B., Fabrowska J., Sotoduch M., Pikosz M., First isolation of polysaccharidic ulvans from the cell walls of freshwater algae, *Algal Research*, 2016, 19, 348-354.

---

**Supplemental Material:** The online version of this article offers supplementary material (<https://doi.org/10.1515/chem-2019-0032>).

## Supplementary Information

Marta Pikosz, Joanna Czerwik-Marcinkowska, Beata Messyasz\*

# Supplement: The effect of *Cladophora glomerata* exudates on the amino acid composition of *Cladophora fracta* and *Rhizoclonium* sp.

**Supplementary Table S1:** Post-hoc comparison for statistically significant amino acids in Anova analysis (AA) in *Cladophora fracta* biomass cultured in medium with exudates from *C. glomerata* in 3 series (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; bold - statistically significant, P<0.05).

<b>Glutamic acid (Glu)</b>				
	<b>Control</b>	<b>25% exudate</b>	<b>50% exudate</b>	<b>100% exudate</b>
Control		<b>0.032052</b>	0.054072	<b>0.000276</b>
25% exudate	<b>0.032052</b>		0.980860	<b>0.002373</b>
50% exudate	0.054072	0.980860		<b>0.001617</b>
100% exudate	<b>0.000276</b>	<b>0.002373</b>	<b>0.001617</b>	
<b>Aspartic acid (Asp)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.911420	0.234268	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.911420		0.512569	<b>0.000231</b>
50% exudate	0.234268	0.512569		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Arginine (Arg)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.197805	0.942722	0.399562
25% exudate	0.197805		0.091668	<b>0.019617</b>
50% exudate	0.942722	0.091668		0.694322
100% exudate	0.399562	<b>0.019617</b>	0.694322	
<b>Valine (Val)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.800617	0.998696	0.120733
25% exudate	0.800617		0.720801	<b>0.033671</b>
50% exudate	0.998696	0.720801		0.149074
100% exudate	0.120733	<b>0.033671</b>	0.149074	

Continued **Supplementary Table S1:** Post-hoc comparison for statistically significant amino acids in Anova analysis (AA) in *Cladophora fracta* biomass cultured in medium with exudates from *C. glomerata* in 3 series (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; bold - statistically significant, P<0.05).

<b>Glycine (Gly)</b>				
	<b>Control</b>	<b>25% exudate</b>	<b>50% exudate</b>	<b>100% exudate</b>
Control		0.791154	0.877299	<b>0.031814</b>
25% exudate	0.791154		0.396250	<b>0.009269</b>
50% exudate	0.877299	0.396250		0.090140
100% exudate	<b>0.031814</b>	<b>0.009269</b>	0.090140	
<b>Lysine (Lys)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.636628	0.106362	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.636628		0.503554	<b>0.000231</b>
50% exudate	0.106362	0.503554		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Proline (Pro)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.061286	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.061286		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Isoleucine (Ile)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.009679</b>	0.989473	0.118230
25% exudate	<b>0.009679</b>		<b>0.006608</b>	<b>0.000685</b>
50% exudate	0.989473	<b>0.006608</b>		0.180239
100% exudate	0.118230	<b>0.000685</b>	0.180239	
<b>Histidine (His)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.503554	0.384146	<b>0.027351</b>
25% exudate	0.503554		0.994631	0.207600
50% exudate	0.384146	0.994631		0.285242
100% exudate	<b>0.027351</b>	0.207600	0.285242	
<b>Cysteine (Cys)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.272631	0.711869	0.168950
25% exudate	0.272631		0.806437	<b>0.011173</b>
50% exudate	0.711869	0.806437		<b>0.037351</b>
100% exudate	0.168950	<b>0.011173</b>	<b>0.037351</b>	

Continued **Supplementary Table S1:** Post-hoc comparison for statistically significant amino acids in Anova analysis (AA) in *Cladophora fracta* biomass cultured in medium with exudates from *C. glomerata* in 3 series (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; bold - statistically significant, P<0.05).

<b>Methionine (Met)</b>				
	<b>Control</b>	<b>25% exudate</b>	<b>50% exudate</b>	<b>100% exudate</b>
Control		0.978975	<b>0.003925</b>	<b>0.000775</b>
25% exudate	0.978975		<b>0.002556</b>	<b>0.000589</b>
50% exudate	<b>0.003925</b>	<b>0.002556</b>		0.393012
100% exudate	<b>0.000775</b>	<b>0.000589</b>	0.393012	
<b>Tryptophan (Trp)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.002939</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.002939</b>		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	

**Supplementary Table S2:** Post-hoc comparison for statistically significant amino acids in Anova analysis (AA) in *Cladophora glomerata* biomass cultured in medium with exudates from *C. fracta* (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; bold - statistically significant, p<0.05).

<b>Glutamic acid (Glu)</b>				
	<b>Control</b>	<b>25% exudate</b>	<b>50% exudate</b>	<b>100% exudate</b>
Control		<b>0.015893</b>	<b>0.003548</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.015893</b>		0.636906	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.003548</b>	0.636906		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Aspartic acid (Asp)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.244946	<b>0.006032</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.244946		0.095559	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.006032</b>	0.095559		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Leucine (Leu)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.012642</b>	<b>0.000243</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.012642</b>		<b>0.001453</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000243</b>	<b>0.001453</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	

Continued **Supplementary Table S2:** Post-hoc comparison for statistically significant amino acids in Anova analysis (AA) in *Cladophora glomerata* biomass cultured in medium with exudates from *C. fracta* (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; bold - statistically significant, p<0.05).

<b>Arginine (Arg)</b>				
	<b>Control</b>	<b>25% exudate</b>	<b>50% exudate</b>	<b>100% exudate</b>
Control		<b>0.021645</b>	<b>0.000636</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.021645</b>		<b>0.043578</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000636</b>	<b>0.043578</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Alanine (Ala)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.000264</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.000264</b>		<b>0.003335</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.003335</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Valine (Val)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.285242	<b>0.010413</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.285242		0.149189	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.010413</b>	0.149189		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Glycine (Gly)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.004433</b>	<b>0.000251</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.004433</b>		<b>0.005691</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000251</b>	<b>0.005691</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Lysine (Lys)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.035626</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.035626</b>		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Proline (Pro)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.106978	<b>0.001933</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.106978		0.053583	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.001933</b>	0.053583		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	

Continued **Supplementary Table S2:** Post-hoc comparison for statistically significant amino acids in Anova analysis (AA) in *Cladophora glomerata* biomass cultured in medium with exudates from *C. fracta* (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; bold - statistically significant, p<0.05).

<b>Serine (Ser)</b>				
	<b>Control</b>	<b>25% exudate</b>	<b>50% exudate</b>	<b>100% exudate</b>
Control		0.819957	<b>0.033938</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.819957		0.115179	<b>0.000231</b>
<b>50% exudate</b>	<b>0.033938</b>	0.115179		<b>0.000231</b>
<b>100% exudate</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Threonine (Thr)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.023389</b>	<b>0.000307</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.023389</b>		<b>0.005305</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000307</b>	<b>0.005305</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Phenylalanine (Phe)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.169305	<b>0.003241</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.169305		0.066602	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.003241</b>	0.066602		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Tyrosine (Tyr)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.186328	<b>0.000806</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.186328		<b>0.008486</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000806</b>	<b>0.008486</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Histidine (His)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.153364	<b>0.003199</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.153364		0.072496	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.003199</b>	0.072496		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Cysteine (Cys)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.530019	<b>0.003972</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.530019		<b>0.023536</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.003972</b>	<b>0.023536</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	

Continued **Supplementary Table S2:** Post-hoc comparison for statistically significant amino acids in Anova analysis (AA) in *Cladophora glomerata* biomass cultured in medium with exudates from *C. fracta* (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; bold - statistically significant, p<0.05).

<b>Methionine (Met)</b>				
	<b>Control</b>	<b>25% exudate</b>	<b>50% exudate</b>	<b>100% exudate</b>
Control		0.154499	<b>0.002427</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.154499		0.050267	<b>0.000240</b>
50% exudate	<b>0.002427</b>	0.050267		<b>0.000532</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000240</b>	<b>0.000532</b>	
<b>Tryptophan (Trp)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.000231</b>		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	

**Supplementary Table S3:** Post-hoc comparison for statistically significant amino acids in Anova analysis (AA) in *Rhizoclonium* sp. biomass cultured in medium with exudates from *C. glomerata* (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; bold - statistically significant, p<0.05).

<b>Glutamic acid (Glu)</b>				
	<b>Control</b>	<b>25% exudate</b>	<b>50% exudate</b>	<b>100% exudate</b>
Control		0.000231	0.000231	0.000231
25% exudate	<b>0.000231</b>		0.509244	<b>0.007119</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	0.509244		<b>0.048725</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.007119</b>	<b>0.048725</b>	
<b>Aspartic acid (Asp)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.000231</b>		0.203580	<b>0.004375</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	0.203580		0.079613
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.004375</b>	0.079613	
<b>Leucine (Leu)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.000231</b>	<b>0.000232</b>	<b>0.000840</b>
25% exudate	<b>0.000231</b>		<b>0.000266</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000232</b>	<b>0.000266</b>		<b>0.003337</b>
100% exudate	<b>0.000840</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.003337</b>	
<b>Arginine (Arg)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.097584	0.991157	0.793744
25% exudate	0.097584		0.065082	<b>0.026815</b>
50% exudate	0.991157	0.065082		0.917511
100% exudate	0.793744	<b>0.026815</b>	0.917511	

Continued **Supplementary Table S3:** Post-hoc comparison for statistically significant amino acids in Anova analysis (AA) in *Rhizoclonium* sp. biomass cultured in medium with exudates from *C. glomerata* (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; bold - statistically significant, p<0.05).

<b>Alanine (Ala)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		1.000000	0.202902	<b>0.003208</b>
25% exudate	1.000000		0.202902	<b>0.003208</b>
50% exudate	0.202902	0.202902		0.054479
100% exudate	<b>0.003208</b>	<b>0.003208</b>	0.054479	
<b>Valine (Val)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.202346	<b>0.001241</b>	<b>0.000445</b>
25% exudate	0.202346		<b>0.015217</b>	<b>0.002686</b>
50% exudate	<b>0.001241</b>	<b>0.015217</b>		0.516262
100% exudate	<b>0.000445</b>	<b>0.002686</b>	0.516262	
<b>Glycine (Gly)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.049440</b>	<b>0.000303</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.049440</b>		<b>0.002683</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000303</b>	<b>0.002683</b>		<b>0.000234</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000234</b>	
<b>Lysine (Lys)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.311339	<b>0.005968</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.311339		0.072496	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.005968</b>	0.072496		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Proline (Pro)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.000274</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.000274</b>		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Serine (Ser)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.356289	<b>0.022154</b>	<b>0.001292</b>
25% exudate	0.356289		0.253446	<b>0.009113</b>
50% exudate	<b>0.022154</b>	0.253446		0.146559
100% exudate	<b>0.001292</b>	<b>0.009113</b>	0.146559	
<b>Threonine (Thr)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.197805	<b>0.001133</b>	<b>0.000249</b>
25% exudate	0.197805		<b>0.013574</b>	<b>0.000433</b>
50% exudate	<b>0.001133</b>	<b>0.013574</b>		<b>0.028601</b>
100% exudate	<b>0.000249</b>	<b>0.000433</b>	<b>0.028601</b>	

Continued **Supplementary Table S3:** Post-hoc comparison for statistically significant amino acids in Anova analysis (AA) in *Rhizoclonium* sp. biomass cultured in medium with exudates from *C. glomerata* (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; bold - statistically significant, p<0.05).

<b>Phenylalanine (Phe)</b>				
	<b>Control</b>	<b>25% exudate</b>	<b>50% exudate</b>	<b>100% exudate</b>
Control		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.000231</b>		<b>0.000244</b>	<b>0.000258</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000244</b>		0.903350
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000258</b>	0.903350	
<b>Isoleucine (Ile)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.000231</b>		0.087860	<b>0.000568</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	0.087860		<b>0.008930</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000568</b>	<b>0.008930</b>	
<b>Tyrosine (Tyr)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.000231</b>		<b>0.002668</b>	<b>0.000396</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.002668</b>		0.144294
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000396</b>	0.144294	
<b>Histidine (His)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.000329</b>	<b>0.000240</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.000329</b>		0.225337	<b>0.005045</b>
50% exudate	<b>0.000240</b>	0.225337		0.084840
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.005045</b>	0.084840	
<b>Cysteine (Cys)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.047232</b>	<b>0.000792</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.047232</b>		<b>0.030080</b>	<b>0.000239</b>
50% exudate	<b>0.000792</b>	<b>0.030080</b>		<b>0.000625</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000239</b>	<b>0.000625</b>	
<b>Methionine (Met)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.430389	0.683509	<b>0.023071</b>
25% exudate	0.430389		0.097723	<b>0.003139</b>
50% exudate	0.683509	0.097723		0.111552
100% exudate	<b>0.023071</b>	<b>0.003139</b>	0.111552	
<b>Tryptophan (Trp)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.007376</b>	<b>0.000233</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.007376</b>		<b>0.000613</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000233</b>	<b>0.000613</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	

**Supplementary Table S4:** Post-hoc comparison for statistically significant amino acids in Anova analysis (AA) in *Cladophora glomerata* biomass cultured in medium with exudates from *Rhizoclonium* sp. in 3 series (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; bold - statistically significant, P<0.05).

<b>Glutamic acid (Glu)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.013141</b>	<b>0.000411</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.013141</b>		<b>0.025380</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000411</b>	<b>0.025380</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Aspartic acid (Asp)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.045828</b>	<b>0.005359</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.045828</b>		0.414172	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.005359</b>	0.414172		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Leucine (Leu)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.243393	<b>0.014209</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.243393		0.243393	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.014209</b>	0.243393		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Arginine (Arg)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.043711</b>	<b>0.002287</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.043711</b>		0.163900	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.002287</b>	0.163900		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Alanine (Ala)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.008492</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.008492</b>		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Valine (Val)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.171528	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.171528		<b>0.000238</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000238</b>		0.171528
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	0.171528	

Continued **Supplementary Table S4:** Post-hoc comparison for statistically significant amino acids in Anova analysis (AA) in *Cladophora glomerata* biomass cultured in medium with exudates from *Rhizoclonium* sp. in 3 series (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; bold - statistically significant, P<0.05).

<b>Glycine (Gly)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.000389</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.000389</b>		<b>0.000273</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000273</b>		<b>0.000232</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000232</b>	
<b>Lysine (Lys)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.000692</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.000692</b>		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Proline (Pro)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.000234</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.000234</b>		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Serine (Ser)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.077922	<b>0.000288</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.077922		<b>0.001550</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000288</b>	<b>0.001550</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Threonine (Thr)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.046260</b>	<b>0.000272</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.046260</b>		<b>0.001650</b>	<b>0.000239</b>
50% exudate	<b>0.000272</b>	<b>0.001650</b>		<b>0.006768</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000239</b>	<b>0.006768</b>	
<b>Phenylalanine (Phe)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.242788	<b>0.003454</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.242788		<b>0.049440</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.003454</b>	<b>0.049440</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	

<sup>Continued</sup> **Supplementary Table S4:** Post-hoc comparison for statistically significant amino acids in Anova analysis (AA) in *Cladophora glomerata* biomass cultured in medium with exudates from *Rhizoclonium* sp. in 3 series (g·100g<sup>-1</sup> of total proteins; bold - statistically significant, P<0.05).

<b>Isoleucine (Ile)</b>				
	<b>Control</b>	<b>25% exudate</b>	<b>50% exudate</b>	<b>100% exudate</b>
Control		0.205367	<b>0.000232</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.205367		<b>0.000245</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000232</b>	<b>0.000245</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Tyrosine (Tyr)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.474098	<b>0.005267</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.474098		<b>0.037924</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.005267</b>	<b>0.037924</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	
<b>Histidine (His)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.104321	<b>0.000292</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.104321		<b>0.001349</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000292</b>	<b>0.001349</b>		<b>0.000469</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000469</b>	
<b>Cysteine (Cys)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		0.071585	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	0.071585		<b>0.000237</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000237</b>		<b>0.009669</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.009669</b>	
<b>Methionine (Met)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.005117</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.005117</b>		<b>0.000309</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000309</b>		<b>0.000642</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000642</b>	
<b>Tryptophan (Trp)</b>				
	Control	25% exudate	50% exudate	100% exudate
Control		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
25% exudate	<b>0.000231</b>		<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>
50% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>		<b>0.000231</b>
100% exudate	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	<b>0.000231</b>	