

Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu
Wydział Biologii
Zakład Ochrony Wód



Paweł Zagajewski

**WPŁYW CZYNNIKÓW ŚRODOWISKOWYCH NA
ROZWÓJ I PRODUKCJĘ TOKSYN WYBRANYCH
GATUNKÓW SINIC**

Praca doktorska wykonana
pod kierunkiem
prof. dr hab. Ryszarda Gołdyna

POZNAŃ 2011

*Promotorowi pracy doktorskiej
Panu Prof. dr hab. Ryszardowi Gołdynowi
dziękuję za inspirację tematyką
toksycznych zakwitów sinic,
cenne wskazówki, krytyczne uwagi
oraz poświęcony czas*

*Pracownikom i doktorantom
Zakładu Ochrony Wód
składam wyrazy wdzięczności
za pomoc udzieloną mi
podczas wspólnej pracy*

*Pracę niniejszą dedykuję moim Rodzicom
oraz Siostrze, bez których wsparcia
w każdej dziedzinie życia
powstanie jej nie byłoby możliwe*

Spis treści

1. Wstęp.....	7
2. Teren badań.....	9
3. Metody badań.....	17
3.1. Badania terenowe.....	17
3. Analiza fitoplanktonu.....	17
3.3. Analiza HPLC.....	17
3.3.1. Przygotowanie kolumniek do SPE.....	17
3.3.2. Przygotowanie prób do analizy zawartości mikrocytyn.....	18
3.3.3. Analiza mikrocytyn z biomasy.....	18
3.3.4. Ekstrakcja mikrocytyn z wody.....	18
3.3.5. Oznaczanie HPLC.....	19
3.4. Izolacja sinic – materiał doświadczalny.....	19
3.4.1. Izolacja sinic.....	19
3.4.2. Materiał doświadczalny.....	19
3.5. Warunki hodowli.....	23
3.6. Izolacja DNA.....	24
3.6.1. Przygotowanie materiału do izolacji DNA.....	24
3.6.2. Izolacja DNA przy pomocy zestawu DNeasy Plant Mini Kit.....	24
3.6.3. Ocena ilości i jakości otrzymanego materiału DNA.....	25
3.7. Ocena składu jakościowego hodowli sinic z zastosowaniem techniki PCR.....	26
3.8. Analiza toksyczności sinic z zastosowaniem techniki PCR.....	28
3.9. Sekwencjonowanie.....	32
3.10. Analiza wyników sekwencjonowania.....	32
3.11. Określenie wpływu wybranych czynników środowiskowych na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic.....	33
3.11.1. Określenie wpływu azotu na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic.....	33
3.11.2. Określenie wpływu fosforu na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic.....	33
3.11.3. Określenie wpływu żelaza na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic.....	34
3.11.4. Określenie wpływu natężenia światła na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic.....	34
3.12. Określenie wpływu wybranych gatunków sinic na inne organizmy wodne.....	35
3.12.1. Przygotowanie ekstraktów z biomasy sinic.....	35
3.12.2. Przesiewowy test toksyczności ostrej oparty na skorupiakach.....	36
3.12.3. Test hamowania wzrostu zielenic z wykorzystaniem <i>Scenedesmus quadricauda</i>	37
4. Wyniki.....	38
4.1. Badania próbek środowiskowych.....	38
4.1.1. Jezioro Biezdruchowskie.....	38
4.1.2. Jezioro Bnińskie.....	41
4.1.3. Jezioro Dymaczewskie.....	44
4.1.4. Jezioro Kierskie.....	47
4.1.5. Jezioro Kórnickie.....	49
4.1.6. Jezioro Malta.....	52
4.1.7. Jezioro Niepruszewskie.....	55
4.1.8. Jezioro Rusałka.....	57

4.1.9. Jezioro Strykowskie.....	61
4.2 Izolacja DNA.....	64
4.2.1 Skuteczność starterów.....	64
4.2.2. Analiza sekwencji 16S rRNA.....	66
4.2.3. Wyniki amplifikacji genów odpowiedzialnych za toksyczność.....	73
4.3. Wpływ czynników środowiskowych na rozwój sinic i produkcję toksyn.....	77
4.3.1. Wpływ stężenia azotu na rozwój sinic i produkcję toksyn.....	77
4.3.1.1. Wpływ stężenia azotu na rozwój <i>Aphanizomenon gracile</i>	77
4.3.1.2. Wpływ stężenia azotu na rozwój <i>Calothrix desertica</i>	79
4.3.1.3. Wpływ stężenia azotu na rozwój <i>Merismopedia glauca</i>	81
4.3.1.4. Wpływ stężenia azotu na rozwój <i>Microcystis aeruginosa</i>	83
4.3.1.5. Wpływ stężenia azotu na rozwój <i>Microcystis aeruginosa</i> CCNP1102 (MAKR0205).....	85
4.3.1.6. Wpływ stężenia azotu na rozwój <i>Microcystis aeruginosa</i> CCNP1103 (MK10.10).....	87
4.3.1.7. Wpływ stężenia azotu na rozwój szczepu <i>Planktothrix agardhi</i>	89
4.3.1.8. Wpływ stężenia azotu na rozwój <i>Planktothrix agardhi</i> CCNP1303.....	91
4.3.1.9. Wpływ stężenia azotu na rozwój <i>Synechocystis</i> sp.....	94
4.3.2. Wpływ stężenia fosforu na rozwój sinic.....	96
4.3.2.1. Wpływ stężenia fosforu na rozwój <i>Aphanizomenon gracile</i>	96
4.3.2.2. Wpływ stężenia fosforu na rozwój <i>Calothrix desertica</i>	98
4.3.2.3. Wpływ stężenia fosforu na rozwój <i>Merismopedia glauca</i>	100
4.3.2.4. Wpływ stężenia fosforu na rozwój <i>Microcystis aeruginosa</i>	102
4.3.2.5. Wpływ stężenia fosforu na rozwój <i>Microcystis aeruginosa</i> CCNP1102 (MAKR0205).....	104
4.3.2.6. Wpływ stężenia fosforu na rozwój <i>Microcystis aeruginosa</i> CCNP1103 (MK10.10).....	106
4.3.2.7. Wpływ stężenia fosforu na rozwój <i>Planktothrix agardhi</i>	108
4.3.2.8. Wpływ stężenia fosforu na rozwój <i>Planktothrix agardhi</i> CCNP1303.....	110
4.3.2.9. Wpływ stężenia fosforu na rozwój <i>Synechocystis</i> sp.....	112
4.3.3. Wpływ stężenia żelaza na rozwój sinic i produkcję toksyn.....	114
4.3.3.1. Wpływ stężenia żelaza na rozwój <i>Aphanizomenon gracile</i>	115
4.3.3.2. Wpływ stężenia żelaza na rozwój <i>Calothrix desertica</i>	117
4.3.3.3. Wpływ stężenia żelaza na rozwój <i>Merismopedia glauca</i>	119
4.3.3.4. Wpływ stężenia żelaza na rozwój <i>Microcystis aeruginosa</i>	121
4.3.3.5. Wpływ stężenia żelaza na rozwój <i>Planktothrix agardhi</i>	123
4.3.3.6. Wpływ stężenia żelaza na rozwój <i>Synechocystis</i> sp.....	125
4.3.4. Wpływ natężenia światła na rozwój sinic.....	127
4.3.4.1. Wpływ natężenia światła na rozwój <i>Aphanizomenon gracile</i>	128
4.3.4.2. Wpływ natężenia światła na rozwój <i>Calothrix desertica</i>	129
4.3.4.3. Wpływ natężenia światła na rozwój <i>Merismopedia glauca</i>	131
4.3.4.4. Wpływ natężenia światła na rozwój <i>Microcystis aeruginosa</i>	133
4.3.4.5. Wpływ natężenia światła na rozwój <i>Microcystis aeruginosa</i> CCNP1102 (MAKR0205).....	135
4.3.4.6. Wpływ natężenia światła na rozwój <i>Microcystis aeruginosa</i> CCNP1103 (MK10.10).....	137
4.3.4.7. Wpływ natężenia światła na rozwój <i>Planktothrix agardhi</i>	139
4.3.4.8. Wpływ natężenia światła na rozwój <i>Planktothrix agardhi</i> CCNP1303.....	141
4.3.4.9. Wpływ natężenia światła na rozwój <i>Synechocystis</i> sp.....	143

4.4. Przesiewowy test toksyczności ostrej oparty na skorupiakach (<i>Daphnia magna</i>).....	145
4.4.1. Wpływ ekstraktu z <i>Trichormus variabilis</i> na <i>D. Magna</i>	145
4.4.2. Wpływ ekstraktu z <i>Aphanizomenon gracile</i> na <i>D. Magna</i>	146
4.4.3. Wpływ ekstraktu z <i>Calothrix desertica</i> na <i>D. Magna</i>	147
4.4.4. Wpływ ekstraktu z <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> na <i>D. Magna</i>	147
4.4.5. Wpływ ekstraktu z <i>Merismopedia glauca</i> na <i>D. Magna</i>	148
4.4.6. Wpływ ekstraktu z <i>Microcystis aeruginosa</i> na <i>D. Magna</i>	148
4.4.7. Wpływ ekstraktu z <i>Nostoc</i> sp. na <i>D. Magna</i>	149
4.4.8. Wpływ ekstraktu z <i>Oscillatoria</i> sp. na <i>D. Magna</i>	150
4.4.9. Wpływ ekstraktu z <i>Planktothrix agardhi</i> na <i>D. Magna</i>	150
4.4.10. Wpływ ekstraktu z <i>Synechocystis</i> sp. na <i>D. Magna</i>	151
4.5. Wpływ sinic na rozwój zielenicy <i>Scenedesmus quadricauda</i>	152
4.5.1. Wpływ sinicy <i>Trichormus variabilis</i> na rozwój zielenicy <i>Scenedesmus quadricauda</i>	152
4.5.2. Wpływ sinicy <i>Aphanizomenon gracile</i> na rozwój zielenicy <i>Scenedesmus quadricauda</i>	154
4.5.3. Wpływ sinicy <i>Calothrix desertica</i> na rozwój zielenicy <i>Scenedesmus quadricauda</i>	157
4.4.4. Wpływ sinicy <i>Merismopedia glauca</i> na rozwój zielenicy <i>Scenedesmus quadricauda</i>	159
4.4.5. Wpływ sinicy <i>Microcystis aeruginosa</i> na rozwój zielenicy <i>Scenedesmus quadricauda</i>	161
4.4.6. Wpływ sinicy <i>Nostoc</i> sp. na rozwój zielenicy <i>Scenedesmus quadricauda</i>	164
4.5.7. Wpływ sinicy <i>Oscillatoria</i> sp. na rozwój zielenicy <i>Scenedesmus quadricauda</i>	166
4.4.8. Wpływ sinicy <i>Planktothrix agardhi</i> na rozwój zielenicy <i>Scenedesmus quadricauda</i>	168
4.4.9. Wpływ sinicy <i>Synechocystis</i> sp. na rozwój zielenicy <i>Scenedesmus quadricauda</i>	171
5. Dyskusja	174
5.1. Badanie próbek środowiskowych.....	174
5.2. Izolacja DNA.....	183
5.3. Wpływ czynników środowiskowych na rozwój sinic i produkcję toksyn.....	187
5.3.1. Wpływ stężenia azotu na rozwój sinic i produkcję toksyn.....	187
5.3.2. Wpływ stężenia fosforu na rozwój sinic i produkcję toksyn.....	188
5.3.3. Wpływ stężenia żelaza na rozwój sinic i produkcję toksyn.....	188
5.3.4. Wpływ natężenia światła na rozwój sinic i produkcję toksyn.....	191
5.4. Wpływ sinic na inne organizmy wodne.....	192
6. Podsumowanie	197
7. Literatura	199
8. Spis rycin i tabel	212
9. Spis załączników	224

1. Wstęp

Postępująca eutrofizacja zbiorników wodnych jest przyczyną coraz powszechniejszych zakwitów wód śródlądowych. Zakwity wód powodowane są przez masowe pojawianie się pewnych taksonów fitoplanktonu, najczęściej należących do sinic, głównie: *Aphanizomenon flos-aquae*, *Microcystis* sp., *Planktothrix* sp. Zakwity stanowią problem natury estetycznej i zdrowotnej, ze względu na nadawanie wodzie nieprzyjemnego zapachu, smaku i barwy, tworzenie unoszącego się na wodzie kożucha, a także produkcję związków toksycznych – zarówno dla zwierząt jak i dla człowieka (Szyper i Gołdyn 2000, Tarczyńska i in. 2001, Kardinal 2007, Błaszczuk i in. 2010).

W ostatnich latach problem silnych zakwitów wody stał się coraz powszechniejszy w Poznaniu i okolicach (Kokociński i in. 2004, Zagajewski i Gołdyn 2005, Zagajewski i in. 2007, 2009). W ramach pracy magisterskiej od sierpnia 2004 r. do września 2005 r. przeprowadziłem badania ilościowe i jakościowe składu gatunkowego sinic oraz analizy na obecność trzech mikrocytyn w 10 najpopularniejszych kąpieliskach Poznania i okolic (J. Biezdruchowskie, J. Bnińskie, J. Dymaczewskie, J. Kierskie, Lipno, J. Lusowskie, Malta, J. Niepruszewskie, Rusalka, J. Strykowskie). W połowie z 10 monitorowanych kąpielisk wystąpiły silne zakwity wody. W składzie gatunkowym sinic wyróżniono 31 gatunków, wśród których większość należała do potencjalnie toksycznych min. *Limnothrix redekei*, *Planktothrix agardhi*, *Pseudanabaena limnetica* (Codd 1995, Faster i in. 1995, Lahti i in. 1997, Rogalska-Kupiec i Bochnia 1998, Codd 2000, Oudra i in. 2000, Main 2004). We wszystkich monitorowanych jeziorach wykryto hepatotoksyny produkowane przez sinice, choć nie były one obecne we wszystkich próbach. Stwierdzono, że stężenie mikrocytyn wynosiło od 0,000 $\mu\text{g l}^{-1}$ do 9,053 $\mu\text{g l}^{-1}$ (dopuszczalne stężenie dla kąpielisk określone przez Światową Organizację Zdrowia wynosi 5 $\mu\text{g l}^{-1}$), jednak nie udało się ustalić w jakich warunkach można spodziewać się, że obserwowany zakwit wody jest niebezpieczny dla ludzi kąpiących się w jeziorze.

Produkcja toksyn przez sinice uzależniona może być od wielu czynników. Zdania na temat roli poszczególnych czynników środowiskowych często są podzielone, nawet przeciwstawne. Przeważa opinia, że toksyny syntetyzowane są w maksymalnej ilości, gdy istnieją korzystne warunki dla rozwoju sinic. Hipotezę tę potwierdzają m. in. doświadczenia przeprowadzone przez Sivonen (1990) na *Planktothrix agardhi*, które wykazały, że

optymalne warunki dla syntezy toksyn pokrywają się z optymalnymi warunkami dla wzrostu cyjanobakterii. Przeciwwagą dla tego stanowiska są prace autorów wskazujących na stymulującą rolę czynników ograniczających w produkcji toksyn. Według Carmichaela (1986) synteza toksyn jest odpowiedzią na warunki stresowe środowiska. Eksperymenty van der Westhuizena i Eloffa (1983) dowiodły, że komórki *Microcystis aeruginosa* były bardziej toksyczne dla myszy, kiedy wzrastały przy pH wyższym i niższym od pH optymalnego. Innym testowanym przez Lukaca i Aegertera (1993) czynnikiem stresowym były jony żelaza. W przypadku ich braku lub przy zbyt niskim ich stężeniu ($< 2,5 \mu\text{M}$), komórki rosły bardzo wolno, ale syntetyzowały za to 20-40% więcej toksyn, w porównaniu z próbą kontrolną. Obecność biogenów w środowisku wodnym również wpływała na produkcję toksyn. Gatunki których toksyny nie zawierały azotu i fosforu zwiększały syntezę toksyn przy deficycie nutrientów, a inne gatunki w warunkach wysokiego ich stężenia (Graneli 2005).

Celem niniejszej pracy było prześledzenie występowania w kąpieliskach Poznania i okolic składu gatunkowego i liczebności sinic oraz produkcji przez nie pospolitych hepatotoksyn i na tym tle zbadanie autekologii wybranych gatunków wyizolowanych ze środowiska, zwracając szczególną uwagę na czynniki środowiskowe sprzyjające ich rozwojowi, tworzeniu zakwitów oraz produkcji toksyn. Zbadano w stałych warunkach laboratoryjnych oddziaływanie takich czynników jak: natężenie światła, stężenie w wodzie fosforu, azotu i żelaza, na rozwój wybranych gatunków sinic oraz ich zdolność do produkcji toksycznych metabolitów.

Ponieważ w wyniku badań laboratoryjnych okazało się, że większość wyizolowanych z kąpielisk Poznania i okolic taksonów sinic to szczepy nie produkujące toksyn, w pracy uwzględniono dodatkowo 3 szczepy sinic, uzyskanych z Regionalnego Centrum Sinicowego w Gdyni, wyizolowanych z jezior województwa pomorskiego.

Znajomość odpowiedzi poszczególnych gatunków sinic na czynniki środowiskowe może umożliwić podejmowanie działań rekultywacyjnych, zmierzających do ograniczenia dynamicznie rozwijających się i niebezpiecznych dla żywych organizmów zakwitów wody.

Wyniki pracy mogą pomóc precyzyjniej określać ryzyko wystąpienia niebezpiecznych toksyn w zbiornikach używanych do poboru wody pitnej oraz wykorzystywanych w celach rekreacyjnych. Może to zapobiec ewentualnym zatruciom ludzi korzystających z powierzchniowych ujęć wody oraz z kąpielisk w jeziorach.

2. Teren badań

Badaniami objęto 9 najpopularniejszych kąpielisk miasta Poznania i jego okolic, znajdujących się na terenie jezior: Biezdruchowskiego, Bnińskiego, Dymaczewskiego, Kierskiego, Kórnickiego, Malta, Niepruszewskiego, Rusałka i Strykowskiego. Badane jeziora stanowią w większości fragment mezoregionu Pojezierza Poznańskiego w makroregionie Pojezierze Wielkopolskie, z wyjątkiem Jeziora Bnińskiego i Jeziora Kórnickiego, które stanowią fragment mezoregionu Równina Wrzesińska oraz Jeziora Biezdruchowskiego, położonego w mezoregionie Pojezierze Gnieźnieńskie. Także te jeziora leżą w makroregionie Pojezierze Wielkopolskie. Jezioro Kierskie, Malta oraz Rusałka znajdują się na terenie Poznania, pozostałe jeziora leżą w niewielkiej od niego odległości.

Dane morfometryczne monitorowanych jezior przedstawia tabela 1.

Tabela 1. Cechy morfometryczne jezior Poznania i okolic (według Choińskiego 1992 oraz Gołdyna i in. 1996)

Nazwa jeziora	Powierzchnia zwierciadła wody (ha)	Objętość (tyś. m ³)	Głębokość średnia (m)	Głębokość maksymalna (m)
Biezdruchowskie	48,8	2815,5	5,7	17,7
Bnińskie	225,9	9525,6	4,2	8,5
Dymaczewskie	119,6	6221,0	5,3	12,0
Kierskie	310,0	34100,0	11,0	34,1
Kórnickie	81,9	2164,7	2,6	6,0
Malta	64,0	2000,0	3,1	5,0
Niepruszewskie	242,3	7578,3	3,1	5,2
Rusałka	36,7	701,4	1,9	9,0
Strykowskie	305,3	13637,4	4,5	7,7

Dzięki atrakcyjnej lokalizacji większość z nich jest bardzo popularnym miejscem wypoczynku i rekreacji. Szczególnie atrakcyjnym zbiornikiem jest Jezioro Kierskie. Jest to największe jezioro w Poznaniu i okolicy, na jego brzegach znajdują się liczne ośrodki rekreacyjne. Jezioro Kierskie jest jednym z ważniejszych w kraju ośrodków żeglarstwa i sportu bojerowego. Zbiornikami sztucznymi na terenie Poznania są: Malta, która powstała w roku 1952 przez spiętrzenie rzeki Cybiny oraz Rusałka, utworzona w 1943 roku na rzece Bogdance.

Większość badanych jezior jest stale narażona na zanieczyszczenia antropogeniczne i

postępującą eutrofizację, stymulującą wzrost ilości fitoplanktonu, w tym pojawienie się zakwitów potencjalnie toksycznych gatunków sinic.

Zgodnie z podziałem rolniczo klimatycznym Polski Gumińskiego monitorowane jeziora znajdują się w dzielnicy środkowej. Obszar ten charakteryzuje się minimalnymi opadami w skali kraju (w roku normalnym ok. 508 mm, w roku wilgotnym 790, w roku suchym 330 mm). Maksimum opadów notuje się w lipcu lub sierpniu, minimum w lutym lub marcu. Średnia roczna temperatura powietrza wynosi ok. 8°C. Okres wegetacyjny trwa 210-220 dni. Liczba dni z przymrozkami 100-110. Czas zalegania pokrywy śnieżnej 50-80 dni. Przeważają wiatry z sektora zachodniego.

Jezioro Biezdruchowskie

Jezioro Biezdruchowskie jest typowym zbiornikiem rynnowym. Położone jest na północnym skraju miasta Pobiedziska, przy trasie Poznań – Gniezno.

Jezioro otoczone jest wąskim pasem lasu od północy, łąkami oraz polami uprawnymi od zachodu oraz zabudową miejską od południa i wschodu. Zasilane jest ono przez rzekę Główną, dopływającą i odpływającą w zachodniej części zbiornika. Powierzchnia zlewni całkowitej jeziora wynosi 92,03 km² (Choiński 1992).

Jezioro Biezdruchowskie jak i tereny wokół zbiornika nie zostały objęte ochroną prawną, nie wprowadzono również zakazu używania jednostek pływających napędzanych silnikami spalinowymi. Nie jest ono używane do transportu wodnego, jest udostępnione do wędkowania. Ze względu na dogodne położenie jeziora, jest ono w okresie letnim atrakcyjnym miejscem kąpieliskowo-rekreacyjnym. Wzdłuż wschodniego brzegu zlokalizowana jest plaża gminna, jednak nie ma ona typowej zabudowy dla ośrodków wypoczynkowych.

Głównym źródłem zanieczyszczenia wód jeziora są spływy powierzchniowe z pól położonych w zlewni bezpośredniej, dopływ wód deszczowych z terenów zabudowanych miejscowości Pobiedziska oraz kąpielisko. Brak jest punktowych zrzutów ścieków. Ścieki kierowane są na oczyszczalnię miejską, z której po oczyszczeniu odprowadzane są poza zlewnię jeziora.

Jezioro Biezdruchowskie jest bardzo podatne na wpływy z zewnątrz, degradację oraz znacznie zanieczyszczone (III klasa czystości wód).

Badania przeprowadzone w 2002 r. przez Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Poznaniu wykazały:

- nieznaczne natlenienie wód warstwy przydennej,
- dużą koncentrację soli mineralnych w jeziorze,
- dużą koncentrację substancji biogennych: fosforanów (0,563 mgP/dm³), fosforu ogólnego (0,856 mgP/dm³) i azotu całkowitego (2,08 mgN/dm³),
- przynależność jeziora do grupy jezior eutroficznycych, co potwierdzają wyniki badań hydrobiologicznych:
 - znaczna liczebność fitoplanktonu wiosną (jakościowa i ilościowa dominacja okrzemek, które stanowiły 98,4% liczebności glonów, gatunkiem dominującym był *Stephanodiscus hantzshii*, ogólna liczebność fitoplanktonu wiosną wynosiła 3,03 miliona organizmów w 1 dm³ wody,
 - dominacja zielenic i sinic w fitoplanktonie latem - 3,3 miliona organizmów w 1 dm³ wody, udział zielenic 67% liczebności fitoplanktonu z przewagą (64%) cenobialnego *Coelastrum microporum*, udział sinic wynosił 32,5% z dominacją nitkowatej *Lyngbya limnetica* (Tybiszewska i Szulczyńska 2003).

Jezioro Bnińskie

Jezioro Bnińskie położone jest w gminie Kórnik na południowy wschód od miejscowości Bnin.

Na terenie zlewni bezpośredniej jeziora znajdują się grunty rolne, ośrodki wypoczynkowe oraz miejscowości Błaziejewko, Biernatki oraz Prusinowo.

Woda z tego jeziora jest pobierana w okresie wegetacyjnym do nawadniania ok. 400 ha gruntów rolnych i użytków zielonych.

Ze względu na brak stratyfikacji wód oraz niekorzystny stosunek długości linii brzegowej do objętości zbiornika, jest on bardzo podatny na zanieczyszczenie, a co za tym idzie na postępującą eutrofizację. Jezioro mieści się w III klasie czystości wód oraz obserwuje się w nim wysokie stężenie substancji organicznych.

Głównymi przyczynami obecnego stanu czystości Jeziora Bnińskiego mogą być ścieki z ośrodków wypoczynkowych oraz zabudowy mieszkaniowej miejscowości położonych w zlewni bezpośredniej oraz wsi Wielkie Jezioro położonej w zlewni całkowitej. Na tym terenie stwierdzono podłączanie szamb do rowów melioracyjnych i misy jeziora. Do jeziora dopływają również spływy zanieczyszczeń z pól uprawnych. W okresie letnim wpływ na zanieczyszczenie zbiornika ma również kąpielisko (Tybiszewska i Szulczyńska 2002).

Jeziro Dymaczewskie

Jeziro Dymaczewskie jest jeziorem rynnowym. Leży ono pomiędzy miejscowościami Łódź i Dymaczewo, na terenie gmin Stęszew i Mosina.

Tereny wokół jeziora są pagórkowate. Zbiornik otoczony jest polami i lasami. Przy dopływie i odpływie Samicy (główniej rzeki zasilającej jezioro) znajdują się łąki torfowe. Powierzchnia zlewni całkowitej wynosi 174,6 km².

Jeziro Dymaczewskie leży na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego. Nie jest ono używane do transportu wodnego. Nie prowadzi się poboru wody z jeziora. Ewentualnymi odłowami ryb, zarybianiem i udostępnianiem zbiornika do wędkowania zarządza dyrekcja Parku. Obciążenie jeziora rekreacją jest znaczne. Na jego brzegach w gminie Mosina znajdują się nielegalne domki letniskowe, dopuszcza się obecność na tym terenie pola namiotowego, boisk, wypożyczalni sprzętu wodnego i obiektów gastronomicznych, zlokalizowany jest ośrodek wypoczynkowy, restauracja oraz dom samotnej matki z dzieckiem. Przy zachodnim brzegu położone jest kąpielisko gminne.

Głównym źródłem zanieczyszczeń wód jeziora są spływy z pól uprawnych: powierzchniowe lub doprowadzane do jeziora ciekami. Ścieki z legalnej zabudowy są gromadzone w bezodpływowych zbiornikach, natomiast z zabudowy nielegalnej mogą stanowić potencjalne źródło zanieczyszczeń. Na tym tle niewielkim źródłem zanieczyszczeń jest kąpielisko.

Omawiane jezioro jest bardzo podatne na degradację (wpływa na to między innymi brak stratyfikacji wód oraz charakter zlewni bezpośredniej, której 85% to grunty orne). Badania WIOŚ z 1998 roku wykazały, że były one silnie zanieczyszczone (wody pozaklasowe) (Tybiszewska i Szulczyńska 1999), o czym świadczyły:

- deficyt tlenu latem na stanowisku w najgłębszym punkcie misy jeziornej, na głębokości 10 m,
- wysokie stężenie substancji organicznych (ChZT-Cr poza klasą, BZT₅ w III klasie czystości),
- pozaklasowa zawartość azotu mineralnego wiosną i azotu całkowitego wiosną i latem,
- duże koncentracje soli mineralnych,
- zakwit sinicowy latem, 93% liczebności sinic na stanowisku 1 i 89% na stanowisku 2, z gatunkami dominującymi *Planktothrix agardhii* i *Limnothrix redekei*.

Jeziro Kierskie

Jeziro Kierskie położone jest na północno-zachodnim krańcu miasta Poznania. Od strony wschodniej jest ono otoczone gruntami rolnymi, łąkami a nad jego brzegami zlokalizowane są liczne ośrodki rekreacyjne. Ze względu na położenie w granicach miasta, jezioro jest bardzo obciążone przez rekreację. Są na nim często organizowane zawody pływackie oraz regaty żeglarskie. Jezioro nie jest używane do transportu wodnego oraz nie pobiera się z niego wody.

Jeziro jest umiarkowanie podatne na degradację, jednak nie udaje się powstrzymać napływających zanieczyszczeń. Głównym problemem jest nieprawidłowa gospodarka wodno-ściekowa na obszarach zabudowanych i rekreacyjnych, obecność kąpielisk i intensywne wykorzystanie rekreacyjne, wpływ zanieczyszczeń z pól położonych w zlewni bezpośredniej (Tybiszewska i Szulczyńska 2004).

Badania przeprowadzone w 2003 r. przez Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Poznaniu wykazały:

- deficyt tlenowy na głębokości większej niż 8 m,
- pozaklasową zawartość substancji biogennych,
- zakwit okrzemkowy wiosną,
- zakwit okrzemkowo-sinicowy latem.

Jeziro Kórnickie

Jeziro Kórnickie jest częścią rynny Kórnicko-Zaniemyskiej. Jest to jezioro polodowcowe, rynnowe o ubogiej linii brzegowej. Wzdłuż wschodniego brzegu jeziora leży miejscowość Kórnik. Kąpielisko znajduje się w północno-zachodniej części akwenu. Jezioro Kórnickie jest zamknięte dla sportu motorowodnego.

Według badań WIOŚ (Pułyk i Robakowska 2007) należy ono do silnie podatnych na degradację (poza kategorią) i zanieczyszczonych (pozaklasowych), ze względu na dopływ zanieczyszczeń ze źródeł punktowych. Do 2001 roku było silnie zanieczyszczane ściekami miejskimi. Obecnie dopływają doń ścieki deszczowe oraz niewielkie ilości ścieków komunalnych z nielegalnych podłączeń do kanalizacji deszczowej oraz dopływów jeziora. Wg badań WIOŚ w 2001 r. większość badanych wskaźników jakości wody wykazywała wartości pozaklasowe. Potwierdzały to wyniki badań hydrobiologicznych - stwierdzono wysoką liczebność fitoplanktonu, zakwit sinicowo-okrzemkowy wiosną i sinicowy latem oraz

obecność w planktonie letnim bakterii z rodzaju *Spirillum*. Występowało też stosunkowo wysokie skażenie bakteriologiczne, powodujące zaliczenie wód jeziora do III klasy czystości.

Jezioro Malta

Jezioro Malta jest najmłodszym z badanych zbiorników, gdyż powstała w 1952 roku przez spiętrzenie wód rzeki Cybiny. Rzeka ta jest prawym dopływem Warty o długości 43 km. Ze względu na swoją lokalizację niemal w centrum Poznania, bliskość rozległych terenów zielonych, ogrodu zoologicznego oraz sztucznego stoku narciarskiego i toru saneczkowego, Malta jest bardzo atrakcyjnym miejscem wypoczynku i rekreacji dla mieszkańców miasta. Zbiornik ten spełnia ważną rolę centrum sportów wodnych dla Polski. Odbywały się na nim m.in. mistrzostwa Europy w wioślarstwie i kajakarstwie oraz mistrzostwa świata motorowodniaków (Mikuła 1996, Gołdyn i in. 2003).

W latach 1952-1979 jezioro stawało się coraz bardziej zanieczyszczone na skutek bezpośredniego bądź pośredniego (przez Cybinę) zrzutu ścieków przemysłowych oraz ulegało stopniowemu wypłyceniu. Na skutek pogarszającego się stanu wód, zbiornik przestał spełniać wymogi i standardy dla rozgrywania regat w wioślarstwie i kajakarstwie. W 1980 roku spuszczone wodę ze zbiornika i rozpoczęto prace mające na celu poprawę stanu Malty. W roku 1990 zbiornik został ponownie napełniony wodą (Mikuła 1996). W następnych latach był on poddawany biomanipulacji, polegającej na introdukcji ryb drapieżnych w celu redukcji ryb planktonożernych. We wrześniu 1992, 1996, 2000, 2004 i 2008 roku zbiornik był opróżniany, a ponownie napełniany w marcu roku następnego. Ułatwiało to odłowienie i zważenie ryb żyjących w jeziorze. Biomasa ryb w trakcie kolejnych odłowień wynosiła 399, 391 i 618 kg/ha (Gołdyn 1996, Gołdyn i in. 2003, Andrzejewski i in. 2010).

Malta jest jeziorem, w którym prawie każdego lata obserwuje się silne zakwity wody, powodowane masowym pojawem sinic. Zawartość fosforu, chlorofilu-a oraz widzialność krążka Sechci'ego wykazują sezonową zmienność. Stężenia fosforu i chlorofilu-a są niskie zimą a latem rosną, wskazując na eutrofię lub hipertrofię. Potwierdzają to wartości widzialności krążka Secchiego – duże zimą i niewielkie latem (Gołdyn i in. 2003).

Jezioro Niepruszewskie

Jezioro Niepruszewskie jest typowym zbiornikiem przepływowym. Znajduje się ono na granicy gmin Buk i Dopiewo ok. 25 km od Poznania.

Zlewnia jeziora ma powierzchnię 53,9 km². W jego otoczeniu znajdują się zabudowania wsi Cieśle, Niepruszewo i Zborowo oraz łąki i pola uprawne. W Niepruszewie znajduje się również kąpielisko.

Spływ powierzchniowy z pól uprawnych, położonych w zlewni bezpośredniej jeziora, stanowi główne źródło jego zanieczyszczenia. Do jeziora nie są odprowadzane ścieki z położonych nad nim obiektów. Niski oraz podmokły brzeg są przyczyną małej presji rekreacyjnej. Zbiornik nie jest używany do transportu wodnego oraz nie pobiera się z niego wody (Tybiszewska i Szulczyńska 2004).

Jezioro Niepruszewskie należy do zbiorników podatnych na degradację. Jest to spowodowane:

- niekorzystnym, wysokim stosunkiem długości linii brzegowej do objętości zbiornika,
- brakiem stratyfikacji wód jeziora,
- brakiem naturalnej ochrony jeziora, jaką mógłby być las.

Zaliczane jest ono do jezior eutroficznych, co potwierdziły przeprowadzone w 2003 roku badania Wojewódzkiego Inspektoratu Ochrony Środowiska w Poznaniu. Sucha masa sestonu, koncentracja chlorofilu-a oraz widzialność krążka Secchiego nie odpowiadały dopuszczalnym normom czystości jezior. Poza tym badania wykazały:

- ponadnormatywne ilości związków azotowych,
- wiosną duże ilości fitoplanktonu (55,4 mln/dm³) zdominowanego przez okrzemki (98,9%),
- latem bardzo dużą ilość fitoplanktonu, która wynosiła 119,3 mln/dm³ wody i zdominowana była przez sinice (99,5%), a wśród nich *Limnotothrix redekei* (Tybiszewska i Szulczyńska 2004).

Jezioro Rusalka

Jezioro Rusalka usytuowane jest w granicach administracyjnych miasta Poznania. Jest sztucznym zbiornikiem wodnym powstałym przez spiętrzenie rzeki Bogdanki, która jest lewostronnym dopływem Warty.

Zbiornik ze względu na swoje położenie, kąpielisko, trawiastą plażę oraz atrakcyjne otoczenie, jest miejscem wypoczynku wielu mieszkańców Poznania w okresie letnim oraz spacerów i wycieczek rowerowych w ciągu całego roku. Powierzchnia zlewni wynosi 25,1 km². W zlewni bezpośredniej jeziora przeważają lasy, które stanowią 89,5% powierzchni zlewni, 10% zajmują łąki, natomiast brak jest gruntów rolnych. W zlewni całkowitej natomiast przeważają grunty rolne.

Głównym źródłem zanieczyszczenia jeziora jest nadmierne obciążenie turystyką, kąpielisko oraz wędkarstwo. Jezioro jest intensywnie zarybiane, przez co stwarza dogodne warunki do wędkowania (Tybiszewska i Szulczyńska 1995).

Badania przeprowadzone w 1994 r. przez Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Poznaniu wykazały:

- dużą różnorodność i liczebność fitoplanktonu wiosną z przewagą okrzemek, które stanowiły aż 85% planktonu, latem – z przewagą sinic (85%), gatunkiem dominującym był *Planktothrix agardhii*,
- dużą zawartość materii organicznej,
- dużą zawartość związków biogenych – stężenie azotu całkowitego było pozaklasowe, co pozwoliło sklasyfikować jezioro jako silnie zeutrofizowane.

Jezioro Strykowskie

Jezioro Strykowskie jest zbiornikiem rynnowym, polodowcowym, położonym ok. 5 km na zachód od miasta Stęszew. Jest ono jeziorem przepływowym.

Powierzchnia całkowita Jeziora Strykowskiego wynosi 54,1km². Od 1987 roku jest ono podpiętrzone, gromadząc nadmiar wód wiosennych do nawodnień rolniczych (Gołdyn 1990). Woda z jeziora jest pobierana w celu nawadniania 32 ha terenów rolnych.

Obciążenie Jeziora Strykowskiego rekreacją jest znaczne. Nad jego brzegami zlokalizowane są prywatne pola biwakowe, ośrodek kolonijno-wczasowy oraz liczne domki rekreacyjne i kilka kąpielisk. W zlewni bezpośredniej znajdują się też zabudowania wsi Strykowo, Sapowice, Słupia, Januszewice i częściowo Rybojedzko.

Głównym źródłem zanieczyszczeń wód jeziora są spływy zanieczyszczeń z pól położonych w zlewni bezpośredniej (86% terenów otaczających jezioro to grunty rolne) oraz przenikanie biogenów z nieszczelnych szamb, znajdujących się w pobliżu linii brzegowej. W okresie letnim źródło zanieczyszczeń stanowią również kąpieliska.

Jezioro Strykowskie jest bardzo podatne na degradację i silnie zanieczyszczone. Główną przyczyną tak złego stanu wód jest:

- dopływ zanieczyszczeń punktowych i przestrzennych,
- brak stratyfikacji wód i mała głębokość jeziora (Tybiszewska i Szulczyńska 2006).

Badania przeprowadzone w 2006 r. przez Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Poznaniu wykazały:

- pozaklasową zawartość azotu całkowitego wiosną i latem,

- wysokie wartości wskaźników trofii, jakimi są sucha masa sestonu oraz stężenie fosforu całkowitego (odpowiadało III klasie czystości jezior),
- małą widzialność krążka Secchiego i wysoką koncentrację chlorofilu-a, które przekraczały wartości dopuszczalne (Tybiszewska i Szulczyńska 2006).

3. Metody badań

3.1. Badania terenowe

Próby wody do badań fitoplanktonu i toksyn sinicowych były pobierane zgodnie z normami dotyczącymi wód powierzchniowych w kąpieliskach (Rozporządzenie 2002), z powierzchniowej warstwy wody 9 kąpielisk (Jezioro Biezdruchowskie, J. Bnińskie, J. Dymaczewskie, J. Kierskie, J. Kórnickie, Malta, J. Niepruszewskie, Rusalka, J. Strykowskie) w sezonie wegetacyjnym w latach 2006-2009. Pobrane próby o objętości 5 l z każdego kąpieliska były przewożone do laboratorium, gdzie zostawały poddane dalszej analizie.

3.2. Analiza fitoplanktonu

Próbki do analiz fitoplanktonu utrwalano płynem Lugola w modyfikacji Utermöhla i przechowywano do czasu analizy w butelkach z brązowego szkła. Ocena składu jakościowego i ilościowego fitoplanktonu polegała na mikroskopowym zliczeniu liczby komórek sinic oraz glonów w komorze Sedgwick-Raftera o objętości 0,65 ml oraz oznaczeniu poszczególnych gatunków.

3.3. Analiza HPLC

3.3.1. Przygotowanie kolumnienek do SPE

Do ekstrakcji mikocystyn do fazy stałej użyto kolumnienek wypełnionych przez C18 Bakerbond Octadecyl 40 μ m PrepLC Packing Lot#B07086. W celu przygotowania kolumnienki do SPE przepuszczano przez nią 4 ml 20% metanolu, a następnie 4 ml wody z szybkością nie większą niż 10 ml/min. Nad powierzchnią kolumnienki pozostawiano cienką warstwę płynu, aby nie dopuścić do wysuszenia kolumnienki C18.

3.3.2. Przygotowanie prób do analizy zawartości mikrocystyn

Próby do analizy wody na zawartość cyjanotoksyn przygotowywano oraz sam proces analizy przeprowadzano według metodyki opartej na normie ISO/CD 20179 Water quality – determination of microcystins in raw and treated waters – Method by solid phase extraction (SPE) for sample enrichment and clean-up followed by HPLC with UV detection (Nałęcz-Jawecki i Jurczak 2003).

Jeden litr wody pobranej z jeziora był przesączany przez filtr z włókna szklanego Whatmana GF/C. Filtr z biomasą oraz przesączona woda były zamrażane przed dalszą analizą.

3.3.3. Ekstrakcja mikrocystyn z biomasy

W celu uzyskania ekstraktu z filtrów z biomasą, były one trzykrotnie ekstrahowane w trzech ml 75% metanolu w homogenizatorze ultradźwiękowym. Następnie supernatanty były łączone i odwirowane przez 10 minut przy 4000 obrotów/min. Kolejnym etapem było odparowanie ekstraktu pod strumieniem azotu w temperaturze 40°C. Sucha pozostałość była rozpuszczana w 0,5 ml 20% metanolu, następnie ekstrakt był oczyszczany na SPE (Solid Phase Extraction), przez przepuszczenie na kolumnie z wypełnieniem C18. Po przepuszczeniu ekstraktu, kolumnkę przemywano 4 ml 20% metanolu. Aby wyeluować mikrocystyny przez kolumnkę przepuszczano 2 ml 90% metanolu zawierającego 0,1% TFA (kwas trifluorooctowy) do szklanej fiolki o pojemności 4 ml. Oczyszczony ekstrakt ponownie był odparowywany pod strumieniem azotu. Sucha pozostałość była rozpuszczana w 0,5 ml 20% metanolu i poddawana analizie na HPLC.

3.3.4. Ekstrakcja mikrocystyn z wody

Do 1 l wody dodawano 1ml 1% roztworu tiosiarczanu sodowego i odczekiwano 5 minut. Miało to na celu usunięcie z próby utleniaczy, ponieważ odczyn próby powinien zawierać się w zakresie pH od 5,0 do 8,0. Następnie dodawano 10 ml 20% metanolu. Próba przepuszcza była przez kolumnkę z wypełnieniem C18 na SPE z prędkością nie większą niż 10 ml/min. Następnie kolumnkę przemywano 4 ml 20% metanolu. Aby wyeluować mikrocystyny, tak samo jak w przypadku ekstrakcji toksyn z biomasy, przez kolumnkę przepuszczano 2 ml 90% metanolu zawierającego 0,1% TFA (kwas trifluorooctowy) do szklanej fiolki o pojemności 4 ml. Oczyszczony ekstrakt był odparowywany pod strumieniem azotu. Sucha pozostałość była rozpuszczana w 0,5 ml 20% metanolu i poddawana analizie na HPLC.

3.3.5. Oznaczanie HPLC

Wszystkie próbki były poddawane analizie na HPLC-MS Agilent 1100. W próbach pochodzących z jezior oznaczano stężenie mikrocytyn: MC-LR, MC-RR, MC-YR, natomiast w próbach pochodzących hodowli również MC-LF, MC-LW oraz MC-LY.

3.4. Izolacja sinic – materiał doświadczalny

3.4.1. Izolacja sinic

Izolacja poszczególnych gatunków sinic została przeprowadzona z prób środowiskowych pobranych z badanych jezior. Sinice były hodowane, a następnie izolowane zarówno z prób wody, jak i osadów dennych pobranych z jeziora. Pobrane próby z wody były posiewane na pożywce płynnej BG-11 oraz BG-11(0) w kolbach o pojemności 500 ml oraz na pożywce stałej na szalkach Petriego. Próby z osadów dennych były posiewane jedynie na pożywkach płynnych. Izolacja poszczególnych gatunków polegała na przygotowywaniu kolejnych rozcieńczeń uzyskanych kultur glonów za pomocą mikropipety, aż do uzyskania jednogatunkowych hodowli.

3.4.2. Materiał doświadczalny

Materiał do doświadczeń laboratoryjnych stanowiły szczepy wybranych gatunków cyjanobakterii, wyizolowane z prób pobranych z jezior Poznania i okolic:

- nieakseniczny *Aphanizomenon gracile*
- nieakseniczny *Calothrix desertica*
- nieakseniczny *Cylindrospermopsis raciborskii*
- nieakseniczny *Merismopedia glauca*
- nieakseniczny *Microcystis aeruginosa*
- nieakseniczny *Nostoc* sp.
- nieakseniczny *Oscillatoria* sp.
- nieakseniczny *Planktothrix agardhi*
- nieakseniczny *Synechocystis* sp.
- nieakseniczny *Trichormus variabilis*

W związku z wyizolowaniem tylko 1 gatunku sinic produkującego toksyny, w badaniach wykorzystano również 3 gatunki sinic pozyskanych z Regionalnego Centrum Sinicowego w Gdyni tj. *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205), *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) oraz *Planktothrix agardhi* CCNP1303.

***Aphanizomenon gracile* Lemmermann**

Aphanizomenon gracile należy do gromady *Nostocales*. Gatunek tworzy trychomy proste lub lekko łukowate, zwężające się ku końcowi. Komórki cylindryczne, heterocysty interkalarne lub beczułkowate, akinety interkalarne lub owalne (Komarek i Komarkowa 2006).

Gatunek potencjalnie produkujący saksitoksyny, PSP oraz cylindropermopsynę (Rucker i in. 2007, Kokociński i in. 2009).

***Calothrix desertica* Schwabe**

Rodzaj *Calothrix* należy do rzędu *Nostocales* (Starmach 1966, Uher 2007). Nici rzadko występują pojedynczo, najczęściej tworzą mikroskopijne lub makroskopowe krzaczaste, zielono-brązowe pęczki. W poduszkowatych koloniach trychomy (do 500 μm długości) ułożone są równolegle. Nici zbudowane są z dyskowatych lub cylindrycznych komórek wegetatywnych, zgrubiałe u nasady (4-15 μm), zwężają się ku szczytowi, tworząc rozgałęzione lub nierozgałęzione włosy. Brązowawe pochwy łączą gałązki macierzyste z gałązkami bocznymi, tworząc tym samym odcinki wielotrychomowe. Występujące półkoliste heterocyty mają średnicę 5-7 μm , najczęściej są nasadowe, rzadziej interkalarne (Starmach 1966, Uher 2007).

Calothrix sp. rozmnaża się przez hormogonia tworzące się po odrzuceniu włosa na szczycie trychomu. U nasady nici często występują komórki przetrwalnikowe – spory (Starmach 1966).

***Cylindropermopsis raciborskii* Wołoszyńska Seenayya et Subba Raju**

Jest to gatunek tropikalny, należący do rzędu *Nostocales* (Jones, Sauter 2005).

Trychomy są proste lub esowato zwinięte o długości 10-120 μm i szerokości 1,9-2,7 μm , pozbawione są pochwy śluzowej. Zakończone są wydłużonymi heterocytami (dł: 6-

13 μm i szer: 1,9-2,7 μm). Akinety rzadko są spotykane. Jeśli występują, są pojedyncze, w parach lub tworzą krótkie łańcuszki zlokalizowane niedaleko heterocytów. Cylindryczne komórki wegetatywne o długości 3-18,50 μm i szerokości 1,5-3 μm , nie posiadają wakuol gazowych (Lewandowska 2003, Jones i Sauter 2005, Yilmaz i in. 2008).

Cylindrospermopsis raciborskii wytwarza toksyny takie jak: cylindrospermopsynę, saksitoksynę, anatoksynę-a, LPS (lipopolisachrydy) i PSP (paralytic shellfish poisons) (Masten 2000, Lewandowska 2003, Jones, Sauter 2005, Berger i in. 2006, NCEA 2006, Bain 2007).

***Microcystis aeruginosa* Kützing**

Gatunek należący do rzędu *Chroococcales* (Komarek 2005).

Komórki kuliste lub lekko wydłużone (2,5-9,5 μm), z wodniczkami gazowymi tworzą mikro- lub makroskopowe kolonie. Kolonie są kuliste lub spłaszczone, często wydłużone i siatkowato poprzerywane, o średnicy (40) 600-900 (1000) μm , rzadziej powyżej 8 mm. Czasem złożone są z subkolonii o nieregularnych brzegach i z dużą ilością bezładnie ułożonych komórek otoczonych bezbarwnym i bezstrukturalnym płynnym śluzem. Rozmnaża się przez rozpad kolonii i podział komórek. Optimum rozwojowe osiąga od wiosny do jesieni, tworząc często przypowierzchniowe zakwity wody (Starmach 1966, Lewandowska 2003).

Microcystis aeruginosa to gatunek potencjalnie toksyczny, mający zdolność produkcji mikrocytyn, anatoksyny-a i LPS (Łukomska i in. 2002, Lewandowska 2003, Oberholster i in. 2004).

***Merismopedia glauca* (Ehrenberg) Kützing**

Gatunek ten występuje w postaci płaskich, kwadratowych kolonii ułożonych regularnie z półkulistych komórek o średnicy 3-6 μm . Śluz bezbarwny, wyraźnie zaznaczony. Gatunek ten jest notowany zarówno w mule zbiorników z wodą stojącą lub wolno płynącą, jak i w planktonie (Pliński i Komarek 2007).

***Nostoc* sp.**

Gatunki z rodzaju *Nostoc* należą do rzędu *Nostocales* (Starmach 1966).

Tworzy galaretowate plechy, czasami otoczone perydermą. Za młodu są one kuliste,

później bezkształtne, płatowate. Pojedyncze trychomy, często otoczone są śluzem i pochwami, zbudowane są z kulistych lub owalnych komórek wegetatywnych zawierających wakuole gazowe. Nici są równo szerokie lub lekko zwężające się ku heterocytom, powstającym na ruchliwych hormogoniach. Akinety występują w pewnej odległości od heterocytów i często połączone są w łańcuszki. Nowe kolonie są efektem podłużnie i skośnie dzielących się komórek, kiełkujących hormogonii, które tworzą się sporadycznie z dowolnych nici kolonii (Starmach 1966, Lewandowska 2003).

Gatunki z rodzaju *Nostoc* kwalifikowane są do potencjalnie toksycznych ze względu na wydzielanie mikrocytyn oraz LPS (Lewandowska 2003).

***Planktothrix agardhi* (Gomont) Anagnostidis et Komarek**

Jest to gatunek należący do rzędu *Oscillatoriales* (Starmach 1966, Komarek, Komarková 2004).

Trychomy ma długie (4 mm), mniej więcej proste lub lekko pofałdowane, o szerokości (2,3)3-12(15) μm . Mogą być zwężone na końcu lub zakończone stożkowatą kaliptrą. Kolonie są wolnożyjące, pojedyncze, ale w czasie zakwitu, gdy występują masowo, mogą gromadzić się w rozproszone lub ściśnięte kępki. Komórki wegetatywne z wodniczkami gazowymi są cylindryczne, rzadziej beczułkowate, nie wcięte, często słabo poroździelane lub nieporoździelane ścianą poprzeczną, zazwyczaj krótsze (2,5-4 μm) niż szersze. Gatunek ten nie wytwarza heterocytów ani akinet (Lewandowska 2003, Komarek, Komarková 2004).

Planktothrix agardhi to gatunek potencjalnie toksyczny, mający zdolność produkcji: mikrocytyn, anatoksyny-a i LPS (Lewandowska 2003, NCEA 2006a, Mazur-Marzec i in. 2008).

***Synechocystis* sp.**

Słodko- i słonowodny rodzaj z rzędu *Chroococcales* (Starmach 1966).

Kuliste komórki często otoczone są cienką błoną bez warstwy galaretki, żyją pojedynczo. Bezpośrednio po podziale mogą żyć parami, bardzo rzadko w grupach. Gatunki poza wielkością komórek (0,7-6,0 μm) i miejscem występowania nie różnią się między sobą (Starmach 1966).

Mogą wytwarzać lipopolisacharydowe endotoksyny (LPS) (Mazur-Marzec, Toruńska 2007).

***Trichormus variabilis* (Kützing ex Bornet & Flahault) Komárek & Anagnostidis (Syn. *Anabaena variabilis* Kützing)**

Gatunek bentosowy należący do rzędu *Nostocales* (Starmach 1966, Komárek 2005).

Różnie powyginane trychomy (szer: 4-6 μm) tworzą galaretowate ciemnozielone plechy. Komórki wegetatywne są długie (2,5-6 μm) i beczułkowate, słabo wcięte przy ścianach poprzecznych. Spory o długości 8-14 μm i szerokości 7-9-(11) μm , otoczone są bezbarwną lub żółto-brunatną błoną. Nie są związane z kulistymi lub wydłużonymi heterocytami (dł: do 8 μm , szer: 6 μm) (Starmach 1966).

3.5. Warunki hodowli

Hodowle prowadzone były w kolbach stożkowych o objętości 100 ml, które przed posiewem wraz z pożywką BG-11 (tabela 2 i 3) o objętości 50 ml były sterylizowane przez okres 20 minut w autoklawie w temperaturze 120°C i pod ciśnieniem 1,5 atm.

Metodą hodowli była hodowla statyczna „batch culture”, którą prowadzono w temperaturze 25°C, oświetleniu około 64 $\mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$ w fotoperiodzie 24/0 L:D (24 godziny światła, 0 godzin ciemności).

Tabela 2. Skład pożywki BG-11

NaNO ₃	1,5 g
K ₂ HPO ₄	0,04 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,075 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,036 g
Kwas cytrynowy	0,006 g
Cytrynian amonowo żelazowy	0,006 g
EDTA	0,001 g
NaCO ₃	0,02 g
Mikroelementy	1,0 ml

Woda destylowana	1,0 l
------------------	-------

Tabela 3. Skład mikroelementów (Trace metal mix A5)

H ₃ BO ₃	2,86 g
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1,81 g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,222 g
NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0,39 g
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,079 g
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0,0494 g
Woda destylowana	1,0 l

3.6. Izolacja DNA

3.6.1. Przygotowanie materiału do izolacji DNA

Z posiadanych hodowli pobrano po 2 ml kultury. Materiał z hodowlą umieszczono w probówkach typu Eppendorf i poddano mrożeniu w temperaturze -20°C. Następnie próby rozmrożono i wirowano przez 5 minut przy 12000 rpm. Po trzykrotnie powtórzonym cyklu zamrażania, odmrażania i wirowania, materiał poddano 5 minutowej ciągłej sonifikacji przy 25% natężeniu mocy pracy sonifikatora ultradźwiękowego.

Dalszą izolację DNA z monokultur wykonano przy pomocy zestawu DNeasy Plant Mini Kit firmy QIAGEN (Lee, Bae 2002, Koskenniemi i in. 2007).

3.6.2. Izolacja DNA przy pomocy zestawu DNeasy Plant Mini Kit

Do wcześniej rozdrobnionego materiału dodano po 400 µl buforu AP1 oraz 4 µl RNaseA. Całość zworteksowano, a następnie inkubowano w 65°C w Thermomixerze Comfort firmy Eppendorf. Po 10 minutach dodano do każdej probówki 130 µl buforu AP2 i dalej inkubowano próby w lodzie. Po 5 minutach wszystko odwirowano przy 14000 rpm (5 minut). Po skończonym wirowaniu lizaty (450 µl) przeniesiono pipetą do kolumnienek QIAshredder Mini umieszczonych w odbieralnikach (o pojemności 2 ml), które następnie wirowano przez 2 minuty przy 14000 rpm. Przepuszczone frakcje przeniesiono do nowych podpisanych

próbówek, do których dodano 1,5 objętości buforu AP3/E. 650 μ l z każdej otrzymanej mieszaniny przeniesiono na kolumnienki DNeasy Mini, które odwirowano przy 8000 rpm w czasie 1 minuty. Po odrzuceniu przesączy czynność powtórzono. Następnie kolumnienki przeniesiono do nowych odbieralników i naniesiono na nie po 500 μ l buforu AW. Wszystko wirowano przez 1 minutę przy 8000 rpm. Przesącze odrzucono i ponownie dodano 500 μ l buforu AW, zwiększając czas wirowania do 2 minut, a obroty do 14000 rpm. Po zakończeniu, kolumnienki przeniesiono do sterylnych podpisanych próbek typu Eppendorf i dodano po 100 μ l buforu AE. Po 5 minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej, próby odwirowano przy 8000 rpm (1 minuta). Czynność tę powtórzono (QIAGEN 2006).

3.6.3. Ocena ilości i jakości otrzymanego materiału DNA

Jakość oraz ilość otrzymanych produktów z izolacji DNA sprawdzono za pomocą rozdziału elektroforetycznego w 1% żelu agarozowym, zawierającym bromek etydy, jak również za pomocą programu PhotoCapt v. 11.01.

1% żel agarozowy przygotowano zgodnie z protokołem przygotowania żelu agarozowego Wydziałowej Pracowni Techniki Biologii Molekularnej (tabela 4).

Tabela 4. Ilościowy spis składników i czas przygotowania żelu w małym, średnim i dużym aparacie do elektroforezy firmy BIOARD

	MAŁY ŻEL	ŚREDNI ŻEL	DUŻY ŻEL
Ilość buforu 1xTAE (ml)	25	50	250
Ilość agarozy (g)	0,25	0,5	2,5
Czas gotowania (s)	30	60 + 10	180 + 60
Ilość bromku etydy (μl)	7	15	100

Do kolbki typu erlenmayer odmierzone odpowiednią ilość buforu 1xTAE i nważono określoną ilość agarozy, którą następnie rozpuszczono w buforze, podgrzewając go w kuchni mikrofalowej. Po ochłodzeniu agarozy do temperatury 50-60°C, dodano bromek etydy firmy SIGMA. Całość wylano do zmontowanego aparatu do elektroforezy firmy BIO-RAD. Po spolimeryzowaniu, żel rozmontowano i całość zalano buforem 1xTAE. Nanoszone do kieszonek w żelu próby (5 μ l), obciążono barwnikiem 6xSB, a do kontroli wyników użyto markera STD.

Rozdział produktów elektroforezy wykonano przy napięciu 65 V i 40 mA (dla średniego żelu), a wyniki odczytano za pomocą transilluminatora UV firmy Biostep.

3.7 Ocena składu jakościowego hodowli sinic z zastosowaniem techniki PCR

W celu klasyfikacji filogenetycznej i zbadania rozbieżności między zbiorami szczepów, wykonano analizę sekwencji genów kodujących małe podjednostki rybosomu RNA (16S rRNA) (Nübel i in. 1997). Do amplifikacji tych rejonów użyto Taq PCR Master Mix Kit firmy QIAGEN oraz kilku specyficznych par starterów firmy Oligo, używanych zamiennie.

Dla każdej próby przygotowano mieszaninę reakcyjną o objętości 25 μ l, na którą składało się: 12,5 μ l Taq PCR Master Mix Kit, 5 μ l matrycy DNA, 0,63 μ l 10 μ M startera F, 0,63 μ l 10 μ M startera R oraz 6,24 μ l wody miliQ.

Amplifikację przy użyciu starterów CYA359F i CYA781R (tabela 5), będącego równomolową mieszaniną z CYA781R(a) i CYA781R(b) wykonano za Nübel i in. (1997) w następujących warunkach:

1. **wstępna denaturacja:** 5 minut przy 94°C
35 cykli gdzie:
2. **denaturacja:** 1 minuta przy 94°C
3. **annealing:** 1 minuta przy 60°C
4. **elongacja:** 1 minuta przy 72°C
5. **końcowa elongacja:** 15 minut przy 72°C

Za Koskenniemi i in. (2007) amplifikację starterami CYA359F i 23S30R (tabela 5) wykonano w warunkach:

1. **wstępna denaturacja:** 5 minut przy 94°C
10 cykli gdzie:
2. **denaturacja:** 45 sekund przy 94°C
3. **annealing:** 45 sekund przy 57°C
4. **elongacja:** 2 minuty przy 68°C
25 cykli gdzie:
5. **ponowna denaturacja:** 45 sekund przy 92°C
6. **annealing:** 45 sekund przy 54°C
7. **elongacja:** 2 minuty przy 68°C
8. **końcowa elongacja:** 7 minut przy 72°C

Opierając się na metodyce Lee, Bae (2002) przeprowadzono amplifikację z CYA106F i CYA781R (tabela 5) będącego równomolową mieszaniną z CYA781R(a) i CYA781R(b) (za: Nübel i in., 1997) w warunkach:

1. **wstępna denaturacja:** 2 minuty przy 94°C
20 cykli gdzie:
2. **denaturacja:** 30 sekund przy 94°C
3. **annealing:** 30 sekund przy 60°C
4. **elongacja:** 2 minuty przy 72°C
5. **końcowa elongacja:** 10 minut przy 72°C

Amplifikację fragmentu 16-23S rRNA (ITS) starterami 322F oraz 340R (tabela 5) wykonano następująco:

1. **wstępna denaturacja:** 5 minut przy 94°C
30 cykli gdzie:
2. **denaturacja:** 30 sekund przy 94°C
3. **annealing:** 30 sekund przy 50°C
4. **elongacja:** 1 minuta przy 70°C
5. **końcowa elongacja:** 3 minuty przy 72°C

Amplifikację wg metodyki Tatona i in. (2003) z użyciem starterów: 16S27F i 23S30R (tabela 5) przeprowadzono w warunkach:

1. **wstępna denaturacja:** 5 minut przy 94°C
10 cykli gdzie:
2. **denaturacja:** 45 sekund przy 94°C
3. **annealing:** 45 sekund przy 57°C
4. **elongacja:** 2 minuty przy 68°C
25 cykli gdzie:
5. **ponowna denaturacja:** 45 sekund przy 92°C
6. **annealing:** 45 sekund przy 54°C
7. **elongacja:** 2 minuty przy 68°C
8. **końcowa elongacja:** 7 minut przy 72°C

Po zakończeniu amplifikacji, produkty PCR obciążone barwnikiem 6xSB naniesiono

na 1% żel agarozowy (z bromkiem etydy) na bazie TAE, w celu określenia wielkości otrzymanego produktu. Fragmenty DNA poddano kilkunasto-minutowej elektroforezie przy napięciu 65 V.

Wyniki z żelu odczytano pod transluminatorem UV i wykonano zdjęcia poddane następnie analizie w programie PhotoCapt v. 11.01 (Oberholster i in. 2004).

Tabela 5. Startery PCR użyte do amplifikacji i sekwencjonowania fragmentów 16S rRNA oraz ITS

Nazwa	Sekwencja 5' do 3'	Referencje
16S rRNA		
16S27F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	Taton i in. (2003)
23S30R	CTTCGCCTCTGTGTGCCTAGGT	Taton i in. (2003) Koskenniemi i in. (2007)
CYA359F	GGGGAATYTTCCGCAATGGG	Nübel i in. (1997) Koskenniemi i in. (2007)
CYA781R(a)	GACTACTGGGGTATCTAATCCCATT	Nübel i in. (1997)
CYA781R(b)	GACTACAGGGGTATCTAATCCCTTT	Nübel i in. (1997)
CYA106F	CGGACGGGTGAGTAACGCGTGA	Lee, Bae (2002)
ITS		
322F	TGTACACACCGCCCGTC	Soumayai i in. (2007)
340R	CTCTGTGTGCCTAGGTATCC	Soumayai i in. (2007)

3.8. Analiza toksyczności sinic z zastosowaniem techniki PCR

Na wszystkich próbach wykonano analizę obecności genów kodujących mikrocytyny, anatoksyny oraz cylindrospermopsynę, potwierdzających toksyczność badanych szczepów.

W celu wykrycia operonów kodujących *mcyA-C* oraz PKS, syntetyzującego *mcyD-J*, wykonano serię prób przy użyciu specyficznych 10 µM starterów firmy Oligo (po 0,63 µl z każdego) oraz Taq PCR Master Mix Kit (12,5 µl) firmy QIAGEN (Saint 2007, Pearson

i Neilan 2008). Produkty te, wraz z 5 μ l matrycy DNA oraz 6,24 μ l wody miliQ poddano amplifikacji.

Dla genów związanych z syntezą cylindrospermopsyny i anatoksyny przygotowano mieszaniny reakcyjne analogicznie do tych na mikrocystyny.

Amplifikację przy użyciu starterów MSF i MSR (tabela 6), specyficznych dla *mcyA* wykonano wg metodyki Tilletta i in. (2001) oraz El Herry i in. (2009):

1. **wstępna denaturacja:** 7 minut przy 94°C
30 cykli gdzie:
2. **denaturacja:** 10 sekund przy 94°C
3. **annealing:** 20 sekund przy 60°C
4. **elongacja:** 1 minuta przy 72°C
5. **końcowa elongacja:** 7 minut przy 72°C

Amplifikację dla *mcyB* wykonano za: Neilan (1999), z użyciem: Faa i Raa (tabela 6):

1. **wstępna denaturacja:** 2 minuty przy 94°C
35 cykli gdzie:
2. **denaturacja:** 10 sekund przy 93°C
3. **annealing:** 20 sekund przy 50°C
4. **elongacja:** 1 minuta przy 72°C
5. **końcowa elongacja:** 7 minut przy 72°C

Zgodnie z metodyką El Herry i in. (2009) wykonano amplifikację dla *mcyC*, wykorzystując specyficzne startery PSCF oraz PSCR (tabela 6):

1. **wstępna denaturacja:** 5 minut przy 94°C
35 cykli gdzie:
2. **denaturacja:** 60 sekund przy 95°C
3. **annealing:** 30 sekund przy 52°C
4. **elongacja:** 1 minuta przy 72°C
5. **końcowa elongacja:** 7 minut przy 72°C

Amplifikację dla *mcyE*, wykonano przy użyciu kilku starterów (tabela 6) specyficznych dla różnych gatunków. Za Doblin (2007) użyto charakterystycznych dla gatunku *Anabaena sp.*: AnamcyE-F2 oraz AnamcyE-12R w warunkach:

1. **denaturacja:** 30 sekund przy 94°C

20 cykli gdzie:

2. **annealing:** 30 sekund przy 65°C, zmniejszając się o 0,5°C na jeden cykl

3. **elongacja:** 1 minuta przy 72°C

17 cykli gdzie:

4. **ponowna denaturacja:** 30 sekund przy 94°C

5. **annealing:** 30 sekund przy 55°C

6. **elongacja:** 1 minuta przy 72°C

Amplifikację starterami charakterystycznymi dla *Microcystis sp.*: mcyE-F2 i MicmcyE-R8 (tabela 6) wykonano na podstawie metodyki Vaitomaa i in. (2003):

25 cykli gdzie:

1. **denaturacja:** 30 sekund przy 94°C

2. **annealing:** 30 sekund przy 60°C

3. **elongacja:** 1 minuta przy 72°C

4. **końcowa elongacja:** 10 minut przy 72°C

Korzystając również z metodyki Vaitomaa i in. (2003), przeprowadzono amplifikację z: mcyE-F2 i AnamcyE-12R (tabela 6):

30 cykli gdzie:

1. **denaturacja:** 30 sekund przy 94°C

2. **annealing:** 30 sekund przy 58°C

3. **elongacja:** 1 minuta przy 72°C

4. **końcowa elongacja:** 10 minut przy 72°C

Amplifikację genów odpowiedzialnych za biosyntezę cylindrospermopsyny, wykonano używając specyficznych starterów dla PKS (M4 i M5) i dla PS (M13 i M14) w warunkach podanych przez Saint (2007) (tabela 8):

1. **wstępna denaturacja:** 4 minuty przy 94°C

30 cykli gdzie:

2. **denaturacja:** 10 sekund przy 94°C

3. **annealing:** 20 sekund przy 55°C

4. **elongacja:** 1 minuta przy 72°C

Za Wood (2007) przeprowadzono amplifikację fragmentów *aoaA*, *araB*, *aoaC* za pomocą par starterów: CB1 i CB2, K18 i M4, CC1 i CC2 oraz CD3 i CD4 (tabela 6):

1. **wstępna denaturacja:** 10 minut przy 94°C
35 cykli gdzie:
2. **denaturacja:** 30 sekund przy 94°C
3. **annealing:** 30 sekund przy 55°C
4. **elongacja:** 2 minuty przy 72°C
5. **końcowa elongacja:** 7 minut przy 72°C

Otrzymane w wyniku reakcji produkty PCR obciążone barwnikiem 6xSB naniesiono na 1% żel agarozowy na bazie TAE. Fragmenty DNA poddano kilkunasto-minutowej elektroforezie przy napięciu 65V, a następnie pod transluminatorem UV sprawdzono obecność i wielkość prążków (Oberholster i in. 2004).

Tabela 6. Startery PCR użyte do amplifikacji i sekwencjonowania genów odpowiedzialnych za biosyntezę cyjanotoksyn

Nazwa	Sekwencja 5' do 3'	Geny	Referencje
MSF	ATCCAGCAGTTGAGCAAGC	<i>mcyA</i>	Tillett i in. (2001)
MSR	TGCAGATAACTCCGCAGTTG	<i>mcyA</i>	Tillett i in. (2001)
Faa	CTATGTTATTTATACATCAGG	<i>mcyB</i>	Neilan (1999)
Raa	CTCAGCTTAACTTGATTATC	<i>mcyB</i>	Neilan (1999)
PSCF	GCAACATCCCAAGAGCAAAG	<i>mcyC</i>	El Herry i in. (2009)
PSCR	CCGACAACATCACAAAGGC	<i>mcyC</i>	El Herry i in. (2009)
AnamcyE-F2	GAAATTTGCGTAGAAGGTGC	<i>mcyE</i>	Doblin (2007)
AnamcyE-12R	CAATCTCGGTATAGCGGC	<i>mcyE</i>	Doblin (2007)
mcyE-F2	GAAATTTGTGTAGAAGGTGC	<i>mcyE</i>	Vaitoma i in. (2003)
MicmcyE-R8	CAATGGGAGCATAACGAG	<i>mcyE</i>	Vaitoma i in. (2003)
M4	GAAGCTCTGGAATCCGGTAA	<i>cyr</i>	Saint (2007)
		<i>aoaC</i>	Wood (2007)
M5	AATCCTTACGGGATCCGGTGC	<i>cyr</i>	Saint (2007)

M13	GGCAAATTGTGATAGCCACGAGC	<i>cyr</i> <i>aoaB</i>	Saint (2007) Wood (2007)
M14	GATGGAACATCGCTCACTGGTG	<i>cyr</i> <i>aoaB</i>	Saint (2007) Wood (2007)
CC1	GAAGTAATCCTCACAGGTTCC	<i>aoaA</i>	Wood (2007)
CC2	TCGAAGCAACTATGTCACG	<i>aoaA</i>	Wood (2007)
CD3	GTCTAACATTGCTTCCACTAGC	<i>aoaB</i>	Wood (2007)
CD4	CTGGCTTACAGGCACAAC	<i>aoaB</i>	Wood (2007)
CB1	CGAACAAGACAGGATTGC	<i>aoaC</i>	Wood (2007)
CB2	AGGAAATTGACCAGACGG	<i>aoaC</i>	Wood (2007)
K18	CCTCGCACATAGCCATTTGC	<i>aoaC</i>	Wood (2007)

3.9. Sekwencjonowanie

Sekwencjonowanie metodą Sangerą przeprowadzono w Wydziałowej Pracowni Techniki Biologii Molekularnej Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Wszystkie próby poddane analizie przygotowano po wcześniejszym określeniu stężenia otrzymanych produktów PCR. Sporządzona mieszanina reakcyjna składała się z 5 µl markera F lub R oraz 1-2 µl matrycy.

3.10. Analiza wyników sekwencjonowania

Otrzymane sekwencje odczytano i skorygowano za pomocą programu Chromas 2.33, a następnie porównano je za pomocą programu BLASTN 2.2.23 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) z sekwencjami zdeponowanymi w bazach GenBank: EMBL, DDBJ, PDB (poza EST, STS, GSS, prób środowiskowych lub etapu 0, 1 lub 2 sekwencji HTGS).

Sekwencje badanych prób przyrównywano do sekwencji z banku genów

w programie GeneDoc v. 2.7.000.

3.11. Określenie wpływu wybranych czynników środowiskowych na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic

3.11.1. Określenie wpływu azotu na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic

Test określający wpływ azotu na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic trwał 7 dni, a pobór próbek do badań następował co dwa, trzy dni.

Sinice zaszczerpiono do kolbek o pojemności 250 ml, z zawartością 125 ml pożywki płynnej BG-11 z różnym stężeniem azotu. Do testu przygotowywano kontrolną pożywkę BG-11 (K) zawierającą 1,5 g/l NaNO_3 oraz pożywkę bez azotu (A), a także dwie dalsze zawierające 0,75 g/l NaNO_3 (B) i 3,0 g/l NaNO_3 (C).

Hodowle inkubowano w pokoju hodowlanym, w temperaturze 25°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$), przy ciągłym świetle o natężeniu $64 \mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Co dwa, trzy dni pobierano i utrwalano płynem Lugola po 2 ml inokulum z każdej próby.

Uzyskane próbki liczone w komorze Bürkera pod mikroskopem OLYMPUS CX21, pod powiększeniem obiektywu $40\times$.

Po zakończeniu testu materiał z hodowli był przesączany przez filtr z włókna szklanego Whatman GF/C. Filtr z biomasą oraz przesączona woda były zamrażane przed dalszą analizą HPLC/MS na obecność mikrocytyn.

3.11.2. Określenie wpływu fosforu na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic

Test określający wpływ fosforu na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic trwał 7 dni, a pobór próbek do badań następował co dwa, trzy dni.

Sinice zaszczerpiono do kolbek o pojemności 250 ml, z zawartością 125 ml pożywki płynnej BG-11 z różnym stężeniem fosforu. Do testu przygotowywano kontrolną pożywkę BG-11 (K) zawierającą 3,05 g/l K_2HPO_4 oraz pożywkę bez fosforu (A), a także zawierającą 1,525 g/l K_2HPO_4 (B) i 6,1 g/l K_2HPO_4 (C).

Hodowle inkubowano w pokoju hodowlanym, w temperaturze 25°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$), przy

ciągłym światłem o natężeniu $64 \mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Co dwa, trzy dni pobierano i utrwalano płynem Lugola po 2 ml inokulum z każdej próby.

Uzyskane próbki liczone w komorze Bürkera pod mikroskopem OLYMPUS CX21, pod powiększeniem obiektywu $40\times$.

Po zakończeniu testu materiał z hodowli był przesączany przez filtr z włókna szklanego Whatman GF/C. Filtr z biomasą oraz przesączona woda były zamrażane przed dalszą analizą HPLC/MS na obecność mikrocytyn.

3.11.3. Określenie wpływu żelaza na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic

Test określający wpływ żelaza na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic trwał 8 dni, a pobór próbek do badań następował co dwa, trzy dni.

Sinice zaszczipiono do kolbek o pojemności 250 ml, z zawartością 125 ml pożywki płynnej BG-11 z różnym stężeniem azotu. Do testu przygotowywano kontrolną pożywkę BG-11 (K) zawierającą 0,006 g/l kwasu cytrynowego i 0,006 g/l cytrynianu amonowo żelazowego oraz pożywkę bez żelaza (A), a także dwie dalsze zawierające po 0,005 g/l badanych substancji (B) oraz po 0,012 g/l 3 (C).

Hodowle inkubowano w pokoju hodowlanym, w temperaturze $25^{\circ}\text{C} (\pm 0,5^{\circ}\text{C})$, przy ciągłym świetle o natężeniu $64 \mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Co dwa, trzy dni pobierano i utrwalano płynem Lugola po 2 ml inokulum z każdej próby.

Uzyskane próbki liczone w komorze Bürkera pod mikroskopem OLYMPUS CX21, pod powiększeniem obiektywu $40\times$.

Po zakończeniu testu materiał z hodowli był przesączany przez filtr z włókna szklanego Whatman GF/C. Filtr z biomasą oraz przesączona woda były zamrażane przed dalszą analizą HPLC/MS na obecność mikrocytyn.

3.11.4. Określenie wpływu natężenia światła na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic

Test określający wpływ natężenia światła na wzrost i produkcję toksyn wybranych gatunków sinic trwał 7 dni, a pobór próbek do badań następował co dwa, trzy dni.

Sinice zaszczerpiono do kolbek o pojemności 250 ml, z zawartością 125 ml pożywki płynnej BG-11.

Hodowle inkubowano w pokoju hodowlanym, w temperaturze 25°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) oraz przy ciągłym świetle w trzech wariantach natężenia: 21 $\mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (A), 43 $\mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (B) i 86 $\mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (C).

Co dwa, trzy dni pobierano i utrwalano płynem Lugola po 2 ml inokulum z każdej próby.

Organizmy w uzyskanych próbkach liczono używając komory Bürkera pod mikroskopem OLYMPUS CX21, pod powiększeniem obiektywu 40 \times .

Po zakończeniu testu materiał z hodowli był przesączany przez filtr z włókna szklanego Whatman GF/C. Filtr z biomasą oraz przesączona woda były zamrażane przed dalszą analizą HPLC/MS na obecność mikrocytyn.

3.12. Określenie wpływu wybranych gatunków sinic na inne organizmy wodne

3.12.1. Przygotowanie ekstraktów z biomasy sinic

Do przeprowadzenia testów toksyczności ostrej przygotowano ekstrakty z hodowanych sinic. W tym celu konieczne było zagęszczenie poszczególnych kultur hodowlanych na sączku Whatmann GF/C o średnicy 47 mm przy pomocy zestawu próżniowej filtracji. Sączki zamrożono w temperaturze -10°C , a następnie poddawano sonifikacji ultradźwiękowej w przesączu uzyskanym z filtracji. Sonifikację wykonywano trzykrotnie po 3 minuty, przy natężeniu mocy pracy równym 20%. Do tego celu zastosowano homogenizator ultradźwiękowy HD2070 (firmy Bandelin electronic GmbH&Co.KG). Uzyskany ekstrakt odwirowywano przez 5 minut przy 5000 obrotów na minutę (wirówka EBA20 Hettich). Ekstrakty z poszczególnych gatunków sinic powstały z różnej ilości biomasy (tabela 7).

Tabela 7. Zawartość biomasy sinic w 100% ekstraktu

Gatunek	Ilość (g s. m.)
<i>Aphanizomenon gracile</i>	0,986
<i>Calothrix desertica</i>	1,226
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	0,294
<i>Merismopedia glauca</i>	0,453
<i>Microcystis aeruginosa</i>	1,131

<i>Nostoc</i> sp.	0,573
<i>Oscillatoria</i> sp.	0,527
<i>Planktothrix agardhi</i>	0,886
<i>Synechocystis</i> sp.	1,202
<i>Trichormus variabilis</i>	0,884

3.12.2. Przesiewowy test toksyczności ostrej oparty na skorupiakach

Do przeprowadzenia testu toksyczności ostrej, opartego na skorupiaku *Daphnia magna* zastosowano test – DAPHTOXKIT firmy Tigret. Daphtoxkit jest 48-godzinnym testem toksyczności ostrej.

Zestaw Daphtoxkit wykorzystuje do badań nad toksycznością formy przetrwalne skorupiaków *Daphnia magna* – efippie.

Test przeprowadzany jest w jednorazowych, wielodołkowych płytkach testowych, które zawierają po 4 dołki kontrolne i 4 dołki testowe dla różnych koncentracji przygotowanego ekstraktu z biomasy sinic. Zastosowanie tego typu płytek testowych, umożliwia uzyskanie statystycznie akceptowalnej oceny efektu i oznaczenie każdej koncentracji i kontroli w czterech powtórzeniach. W celu napełnienia wielodołkowej płytki testowej, do każdego dołka w odpowiadającym mu rzędzie, w kolejności wzrastającej koncentracji przeniesiono 10 ml rozcieńczonej wody i 10 ml odpowiedniego koncentratu do badania toksyczności.

Do przeprowadzenia testu, wykorzystano pożywkę, której skład, zgodny jest z formułą zalecaną przez Międzynarodową Organizację Jakości (ISO) dla testów toksyczności ostrej z wykorzystaniem *Daphnia magna* (PN-EN ISO 6341:2002).

Proces wylęgu organizmów testowych przeprowadzany był w temperaturze 25°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$), przy ciągłym oświetleniu o natężeniu 86 $\mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Efippia przeniesione na szalkę Petriego inkubowano przez 72 godziny.

Następnie przygotowano serię rozcieńczeń z wcześniej wykonanych ekstraktów z poszczególnych gatunków sinic (tabela 8), używając do tego pożywkę stosowaną do testów toksyczności ostrej z wykorzystaniem *Daphnia magna*.

Tabela 8. Seria rozcieńczeń przygotowanych ekstraktów

koncentracja	rozcieńczenie
--------------	---------------

koncentracja 1	100% ekstraktu
koncentracja 2	50% ekstraktu + 50% pożywki
koncentracja 3	25% ekstraktu + 75% pożywki
koncentracja 4	12,5% ekstraktu + 87,5% pożywki
koncentracja 5	6,25% ekstraktu + 93,75 % pożywki

Aby zapewnić „rezerwę energetyczną” organizmom testowym uzyskanym z efippi zastosowano wstępne karmienie proszkiem Spirulina.

Organizmy testowe przenoszone były za pomocą pipety, w porządku wzrastających koncentracji toksyn. W każdym dołku testowym umieszczano po 4 osobniki *D. magna*.

Płytki testowe inkubowano w temperaturze około 22°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$), w ciemności. Po upływie 24 h i 48 h inkubacji policzono ilość martwych lub unieruchomionych organizmów dla każdej koncentracji sinic.

3.12.3. Test hamowania wzrostu zielenicy z wykorzystaniem *Scenedesmus quadricauda*

Test hamowania wzrostu zielenicy *Scenedesmus quadricauda* przez poszczególne sinice trwał 10 dni, a pobór próbek do badań następował co dwa dni.

Sinice zaszczerpiono do kolbek o pojemności 250 ml, z zawartością 125 ml pożywki płynnej BG-11. Do testu przygotowywano kontrolne kultury jednogatunkowe oraz hodowle mieszane w stosunku liczebności komórek zielenicy do sinicy 1:1, 1:3 oraz 3:1.

Hodowle inkubowano w pokoju hodowlanym, w temperaturze 25°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$), przy ciągłym świetle o natężeniu 64 $\mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Co dwa dni pobierano i utrwalano płynem Lugola po 2 ml inokulum z każdej próby.

Organizmy w uzyskanych próbkach liczono używając komory Bürkera pod mikroskopem OLYMPUS CX21, przy powiększeniu obiektywu 40 \times .

4. Wyniki

4.1. Badania próbek środowiskowych

4.1.1. Jezioro Biezdruchowskie

Z kąpieliska Jeziora Biezdruchowskiego pobrano w ciągu badań 12 prób. Udział sinic w fitoplanktonie był stosunkowo nieduży, gdyż osiągnął maksymalnie 22% w lipcu oraz w sierpniu 2008 roku. Minimalny udział sinic wyniósł 4% w czerwcu 2008 roku. Na ogół udział ten jak i liczebność sinic zwiększały się w kolejnych próbach z danego roku. Ogólna liczebność fitoplanktonu w Jeziorze Biezdruchowskim była stosunkowo niewielka i tylko w dwóch próbach przekroczyła 20 tys. kom. w 1 ml wody (tabela 9).

Tabela 9. Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Biezdruchowskim

Data	Liczba komórek sinic w 1ml wody	Liczba pozostałych taksonów fitoplanktonu (kom. w 1 ml)	Ogólna liczba komórek fitoplanktonu w 1 ml wody	Udział sinic w fitoplanktonie w %
8.08.2006	1020	14880	15900	6
23.08.2006	1349	13290	14639	9
10.07.2007	729	12938	13667	5
24.07.2007	2309	14972	17281	13
7.08.2007	3187	13974	17161	19
21.08.2007	3298	12948	16246	20
25.06.2008	571	12938	13509	4
9.07.2008	4928	17329	22257	22
23.07.2008	4302	18362	22664	19
5.08.2008	3982	13920	17902	22
22.07.2009	1877	12701	14578	13
19.08.2009	3293	15039	18332	18

Analiza mikrocystyn przeprowadzona na HPLC wykazała obecność tych toksyn sinicowych jedynie w dwóch próbach. W lipcu 2008 roku mikrocystyny przekroczyły stężenie $1 \mu\text{g l}^{-1}$, ponad połowę niższe stężenie toksyn odnotowano w sierpniu 2007 roku. W obu próbach zdecydowanie najwyższe stężenie miała mikrocystyna LR. MC-RR została stwierdzona w próbce z lata 2007 roku, a MC-YR w próbce z lata 2008 roku (tabela 10).

Tabela 10. Stężenie mikrocyzyn w Jeziorze Biezdruchowskim

Data	Mikrocystyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Suma mikrocystyn
8.08.2006	0,000	0,000	bd	0,000
23.08.2006	0,000	0,000	bd	0,000
10.07.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
24.07.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
7.08.2007	0,446	0,010	0,000	0,456
21.08.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
25.06.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
9.07.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
23.07.2008	0,889	0,000	0,237	1,126
5.08.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
22.07.2009	0,000	0,000	0,000	0,000
19.08.2009	0,000	0,000	0,000	0,000

Skład gatunkowy sinic w Jeziorze Biezdruchowskim był bardzo zróżnicowany. W 12 próbach oznaczono obecność 12 gatunków. Nie stwierdzono zdecydowanej dominacji jednego gatunku, a największą liczbę komórek w 1 ml wody wykazywały gatunki z rodzajów: *Aphanizomenon*, *Chroococcus* oraz *Planktothrix* (tabele 11, 12, 13, 14).

Tabela 11. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Biezdruchowskim w roku 2006

Gatunek	8.08.2006	23.08.2006
<i>Anabaena spiroides f. minima</i>	-	+
<i>Aphanizomenon</i> sp.	289	243
<i>Chroococcus minimus</i>	348	465
<i>Chroococcus turgidus</i>	+	-
<i>Lyngbya limnetica</i>	+	155
<i>Microcystis aeruginosa</i>	127	206
<i>Microcystis incerta</i>	-	+
<i>Planktothrix agardhi</i>	106	186
<i>Planktothrix prolifica</i>	150	94
Suma komórek sinic	1020	1349

Tabela 12. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Biezdruchowskim w roku 2007

Gatunek	10.07.2007	24.07.2007	7.08.2007	21.08.2007
<i>Anabaena spiroides f. minima</i>	-	-	54	+
<i>Anabaenopsis arnoldii</i>	-	+	+	-
<i>Aphanizomenon</i> sp.	106	786	378	499
<i>Chroococcus minimus</i>	+	+	698	481
<i>Chroococcus turgidus</i>	57	558	318	219
<i>Lyngbya limnetica</i>	-	286	603	722
<i>Microcystis aeruginosa</i>	-	+	+	106

<i>Microcystis incerta</i>	-	-	-	+
<i>Microcystis wesenbergii</i>	-	-	+	-
<i>Planktothrix agardhi</i>	297	243	338	693
<i>Planktothrix prolifica</i>	269	436	798	578
<i>Spirulina</i> sp.	-	+	-	-
Suma komórek sinic	729	2309	3187	3298

Tabela 13. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Biezdruchowskim w roku 2008

Gatunek	25.06.2008	9.07.2008	23.07.2008	5.08.2008
<i>Anabaena spiroides f. minima</i>	-	108	-	-
<i>Anabaenopsis arnoldii</i>	-	-	-	88
<i>Aphanizomenon</i> sp.	-	+	96	332
<i>Chroococcus minimus</i>	221	721	884	522
<i>Chroococcus</i> sp.	-	-	-	+
<i>Chroococcus turgidus</i>	+	377	311	402
<i>Lyngbya limnetica</i>	142	659	855	766
<i>Microcystis aeruginosa</i>	-	548	342	227
<i>Microcystis wesenbergii</i>	-	-	227	+
<i>Planktothrix agardhi</i>	-	1619	1033	997
<i>Planktothrix prolifica</i>	208	896	554	648
<i>Spirulina</i> sp.	-	-	+	-
Suma komórek sinic	571	4928	4302	3982

Tabela 14. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Biezdruchowskim w roku 2009

Gatunek	22.07.2009	19.08.2009
<i>Anabaena spiroides f. minima</i>	-	126
<i>Anabaenopsis arnoldii</i>	-	+
<i>Aphanizomenon</i> sp.	209	448
<i>Chroococcus minimus</i>	455	667
<i>Chroococcus</i> sp.	+	-
<i>Chroococcus turgidus</i>	317	594
<i>Lyngbya limnetica</i>	264	676
<i>Microcystis aeruginosa</i>	152	+
<i>Microcystis wesenbergii</i>	-	+
<i>Planktothrix agardhi</i>	143	339
<i>Planktothrix prolifica</i>	337	443
Suma komórek sinic	1877	3293

Woda badanych próbek wykazywała temperaturę w zakresie od 18,9 °C do 22,7°C, odczyn zbliżony do obojętnego, dobre natlenienie (powyżej 6 mg l⁻¹ O₂) i wysokie przewodnictwo elektrolityczne (do 788 μS cm⁻¹) (tabela 15).

Tabela 15. Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w Jeziorze Biezdruchowskim

Data	pH	Przewodnictwo $\mu\text{S cm}^{-1}$	O ₂ mg l ⁻¹	Temperatura °C
9.08.2006	bd	bd	bd	bd
23.08.2006	bd	bd	bd	bd
10.07.2007	6,3	642	6,03	19,7
24.07.2007	6,2	663	6,35	20,3
7.08.2007	6,7	712	6,68	21,4
21.08.2007	6,4	697	6,45	20,9
25.06.2008	6,8	622	6,55	18,9
9.07.2008	6,9	783	6,81	22,1
23.07.2008	7,1	788	6,67	22,7
5.08.2008	bd	bd	bd	bd
22.07.2009	6,9	733	6,59	21,5
19.08.2009	7,2	712	6,72	21,8

4.1.2. Jezioro Bnińskie

W ciągu czterech lat badań pobrano z kąpieliska Jeziora Bnińskiego 12 prób środowiskowych. W prawie wszystkich tych próbach sinice stanowiły ponad 50% fitoplanktonu (tabela 16). Największą liczebność fitoplankton osiągnął w sierpniu 2007 roku, zbliżona była również w sierpniu 2008 roku. Podczas tych zakwitów sinice stanowiły ponad 80% fitoplanktonu. Najmniejszą jego liczebność zaobserwowano w czerwcu 2008 roku.

Tabela 16. Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Bnińskim

Data	Liczba komórek sinic w 1 ml wody	Liczba pozostałych taksonów fitoplanktonu (kom. w 1 ml)	Ogólna liczba komórek fitoplanktonu w 1 ml wody	Udział sinic w fitoplanktonie w %
9.08.2006	35329	24840	60172	59
23.08.2006	33874	21928	55802	61
10.07.2007	43002	17492	60494	71
24.07.2007	69221	23129	92350	75
7.08.2007	62029	19846	81875	76
21.08.2007	88901	17884	106785	83
25.06.2008	20433	28468	48901	42
9.07.2008	41937	23009	64946	65
23.07.2008	77933	17663	95596	82

5.08.2008	82005	18990	100995	81
22.07.2009	22739	20321	43060	53
19.08.2009	31948	26538	58486	55

W sześciu z dwunastu prób z Jeziora Bnińskiego stwierdzono obecność toksyn sinicowych, jednak ani razu nie przekroczyły one dopuszczalnej normy dla kąpielisk. Najwyższe stężenie mikrocytyny LR 0,670 $\mu\text{g l}^{-1}$ oznaczono w próbie z 23 lipca 2008 roku, w tej samej próbie najwyższe stężenie osiągnęła też mikrocytyna YR (0,220 $\mu\text{g l}^{-1}$). Nie wykryto obecności mikrocytyny RR w żadnej próbie (tabela 17).

Tabela 17. Stężenie mikrocytyn w Jeziorze Bnińskim

Data	Mikrocytyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Suma mikrocytyn
9.08.2006	0,000	0,000	bd	0,000
23.08.2006	0,000	0,000	bd	0,000
10.07.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
24.07.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
7.08.2007	0,532	0,000	0,010	0,542
21.08.2007	0,620	0,000	0,000	0,620
25.06.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
9.07.2008	0,020	0,000	0,000	0,020
23.07.2008	0,670	0,000	0,220	0,890
5.08.2008	0,560	0,000	0,030	0,590
22.07.2009	0,000	0,000	0,000	0,000
19.08.2009	0,050	0,000	0,000	0,050

We wszystkich próbach dominowały sinice potencjalnie toksyczne, z których największą liczebność osiągnął gatunek *Planktothrix agardhi* (tabela 18,19, 20, 21). W Jeziorze Bnińskim zdecydowanie przeważały gatunki nitkowate, nie odnotowano obecności powszechnie występującego w innych jeziorach *Microcystis aeruginosa*. W większości prób pojawiły się gatunki inwazyjne *Aphanizomenon aphanizomenoides* oraz *Cylindrospermopsis raciborski*.

Tabela 18. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Bnińskim w roku 2006

Gatunek	9.08.2006	23.08.2006
<i>Aphanizomenon aphanizomenoides</i>	276	244
<i>Aphanizomenon gracile</i>	+	+
<i>Aphanizomenon</i> sp.	855	1083
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	527	+
<i>Limnothrix redekei</i>	6522	7446

<i>Lyngbya limnetica</i>	3923	1975
<i>Merismopedia sp.</i>	+	154
<i>Planktothrix agardhi</i>	19537	21647
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	3689	1325
Suma komórek sinic	35329	33874

Tabela 19. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Bnińskim w roku 2007

Gatunek	10.07.2007	24.07.2007	7.08.2007	21.08.2007
<i>Aphanizomenon aphanizomenoides</i>	-	-	1237	2177
<i>Aphanizomenon gracile</i>	+	+	+	221
<i>Aphanizomenon sp.</i>	322	783	+	124
<i>Chroococcus sp.</i>	8322	4284	-	+
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	-	+	2044	3699
<i>Limnothrix redekei</i>	10664	15430	20665	23455
<i>Lyngbya limnetica</i>	4397	2933	2918	1044
<i>Merismopedia sp.</i>	221	+	+	-
<i>Planktothrix agardhi</i>	15439	32883	30488	44399
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	3637	12908	4677	13782
Suma komórek sinic	43002	69221	62029	88901

Tabela 20. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Bnińskim w roku 2008

Gatunek	25.06.2008	9.07.2008	23.07.2008	5.08.2008
<i>Aphanizomenon gracile</i>	-	-	+	336
<i>Aphanizomenon sp.</i>	487	1287	1433	2107
<i>Chroococcus sp.</i>	695	778	355	433
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	-	-	274	549
<i>Limnothrix redekei</i>	13658	15448	12876	14330
<i>Lyngbya limnetica</i>	1548	4499	6687	6540
<i>Planktothrix agardhi</i>	2388	12004	40865	48097
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	1658	7921	15443	9613
Suma komórek sinic	20433	41937	77933	82005

Tabela 21. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Bnińskim w roku 2009

Gatunek	22.07.2009	19.08.2009
<i>Aphanizomenon aphanizomenoides</i>	-	221
<i>Aphanizomenon gracile</i>	+	328
<i>Aphanizomenon sp.</i>	476	1105
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	488	1211
<i>Limnothrix redekei</i>	5487	4328
<i>Lyngbya limnetica</i>	2177	3323
<i>Merismopedia sp.</i>	339	665
<i>Planktothrix agardhi</i>	10652	16093
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	3120	4764
Suma komórek sinic	22739	31948

Woda badanych próbek wykazywała wysoką temperaturę (zwykle powyżej 20°C), odczyn lekko zasadowy, dobre natlenienie (powyżej 6 mg l⁻¹ O₂) i wysokie przewodnictwo elektrolityczne (z reguły powyżej 600 μS cm⁻¹) (tabela 22).

Tabela 22. Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w Jeziorze Bnińskim

Data	pH	Przewodnictwo μS cm ⁻¹	O ₂ mg l ⁻¹	Temperatura °C
9.08.2006	bd	bd	bd	bd
23.08.2006	bd	bd	bd	bd
10.07.2007	7,2	617	6,22	20,6
24.07.2007	7,6	699	7,23	21,1
7.08.2007	7,8	659	7,04	21,3
21.08.2007	7,9	712	7,37	22,4
25.06.2008	6,9	596	6,39	19,2
9.07.2008	7,2	662	6,76	22,3
23.07.2008	7,8	729	6,98	22,1
5.08.2008	bd	bd	bd	bd
22.07.2009	7,1	652	6,55	21,3
19.08.2009	7,2	668	6,72	bd

4.1.3. Jezioro Dymaczewskie

Kąpielisko Jeziora Dymaczewskiego było monitorowane w latach 2006-2007. W ciągu dwóch lat badań pobrano 6 prób w okresach letnich. Ogólna liczebność fitoplanktonu nie przekroczyła w tym okresie 40 000 kom. w 1 ml wody. Procentowy udział sinic w ogólnej liczbie komórek fitoplanktonu wynosił od 16% w lipcu 2007 roku do 40% w sierpniu 2007 roku (tabela 23). Zarówno liczebność sinic, jak i procentowy ich udział, zwiększał się w czasie sezonu wegetacyjnego obydwu lat badań, osiągając maksymalne wartości w sierpniu.

Tabela 23. Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Dymaczewskim

Data	Liczba komórek sinic w 1ml wody	Liczba pozostałych taksonów fitoplanktonu (kom. w 1 ml)	Ogólna liczba komórek fitoplanktonu w 1 ml wody	Udział sinic w fitoplanktonie w %
9.08.2006	10570	26930	37500	28
23.08.2006	13728	24293	38021	36
10.07.2007	5329	28462	33791	16
24.07.2007	7320	30746	38066	19

7.08.2007	11093	26300	37393	30
21.08.2007	14839	22072	36911	40

Obecność mikrocytyn w pobranych próbach nie została potwierdzona badaniami HPLC jedynie w jednej próbce z pierwszej połowy lipca 2007 roku. We wszystkich pozostałych próbach stwierdzono obecność mikrocytyny-RR, dodatkowo w próbce z drugiej połowy lipca 2007 roku pojawiła się mikrocytyna-LR. Stężenie mikrocytyn w żadnej próbce nie przekroczyło wartości $1\mu\text{g l}^{-1}$ (tabela 24). W trakcie sezonu wegetacyjnego stężenia te wyraźnie zwiększały się, osiągając maksimum w sierpniu.

Tabela 24. Stężenie mikrocytyn w Jeziorze Dymaczewskim

Data	Mikrocytyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Suma Mikrocytyn
9.08.2006	0,000	0,000	0,000	0,000
23.08.2006	0,000	0,000	0,000	0,000
10.07.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
24.07.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
7.08.2007	0,000	0,445	0,000	0,445
21.08.2007	0,000	0,000	0,000	0,000

Skład gatunkowy sinic Jeziora Dymaczewskiego był bardzo różnorodny, gdyż stwierdzono w nim obecność 16 taksonów. Największą liczebność uzyskiwały gatunki nitkowate: *Planktothrix agardhi*, *Pseudanabaena limnetica*, *Limnothrix redekei* i *Lyngbya limnetica*. Poza tymi powszechnie występującymi w wodach Wielkopolski sinicami, w zbiorniku zaobserwowano kilka gatunków rzadkich, które są zaliczane do inwazyjnych: *Anabaenopsis cuningtonii*, *Aphanizomenon aphanizomenoides*, *Cylindrospermopsis raciborskii* i *Raphidiopsis mediterranea* (tabela 25 i 26).

Tabela 25. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Dymaczewskim w roku 2006

Gatunek	9.08.2006	23.08.2006
<i>Anabaena spiroides</i>	288	336
<i>Anabaena</i> sp.	+	+
<i>Anabaenopsis arnoldii</i>	783	427
<i>Anabaenopsis cuningtonii</i>	+	216
<i>Aphanizomenon aphanizomenoides</i>	262	289
<i>Aphanizomenon gracile</i>	+	331
<i>Cuspidothrix</i> sp.	1203	1064
<i>Aphanizomenon</i> sp.	-	+
<i>Chroococcus</i> sp.	598	215

<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	239	322
<i>Limnothrix redekei</i>	675	1121
<i>Lyngbya limnetica</i>	2145	2664
<i>Microcystis aeruginosa</i>	-	+
<i>Planktothrix agardhi</i>	2993	4763
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	602	1532
<i>Raphidiopsis mediterranea</i>	782	448
Suma komórek sinic	10570	13728

Tabela 26. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Dymaczewskim w roku 2007

Gatunek	10.07.2007	24.07.2007	7.08.2007	21.08.2007
<i>Anabaena spiroides</i>	1108	667	254	114
<i>Anabaena</i> sp.	+	+	+	+
<i>Anabaenopsis arnoldii</i>	218	229	+	+
<i>Anabaenopsis cuningtonii</i>	-	-	+	-
<i>Anabaenopsis milleri</i>	98	+	-	-
<i>Aphanizomenon aphanizomenoides</i>	+	227	691	1249
<i>Aphanizomenon gracile</i>	265	764	616	799
<i>Cuspidothrix</i> sp.	554	607	449	336
<i>Aphanizomenon</i> sp.	+	+	+	212
<i>Chroococcus</i> sp.	875	755	228	+
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	-	-	102	287
<i>Limnothrix redekei</i>	-	44	1097	2998
<i>Lyngbya limnetica</i>	659	1276	602	2650
<i>Microcystis aeruginosa</i>	339	387	176	443
<i>Planktothrix agardhi</i>	648	1160	4329	3872
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	565	1204	2424	1879
<i>Raphidiopsis mediterranea</i>	-	-	125	-
Suma komórek sinic	5329	7320	11093	14839

Woda z badanych próbek miała stosunkowo wysoką temperaturę, w granicach 20°C, pH w wąskim zakresie od 6,5 do 6,9, równie małą zmienność natlenienia (ok. 6 mg l⁻¹). Przewodnictwo elektrolityczne było dość zmienne od 517 do 652 μS cm⁻¹ (tabela 27).

Tabela 27. Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych w próbkach wody z Jeziora Dymaczewskiego

Data	pH	Przewodnictwo μS cm ⁻¹	O ₂ mg l ⁻¹	Temperatura °C
9.08.2006	bd	bd	bd	bd
23.08.2006	bd	bd	bd	bd
10.07.2007	6,5	517	5,9	19,4
24.07.2007	6,9	533	6,2	19,7
7.08.2007	6,9	634	5,8	20,9
21.08.2007	6,8	652	6,1	20,8

4.1.4. Jezioro Kierskie

Jezioro Kierskie charakteryzowało się stosunkowo niedużym udziałem sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu. Procentowy udział sinic wynosił od 14 do 42%, najwyższy udział zaobserwowano w sierpniu 2006 roku. W tym samym czasie sinice osiągnęły również największą liczebność – 9422 komórki w 1 ml wody (tabela 28).

Tabela 28. Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Kierskim

Data	Liczba komórek sinic w 1ml wody	Liczba pozostałych taksonów fitoplanktonu (kom. w 1 ml)	Ogólna liczba komórek fitoplanktonu w 1 ml wody	Udział sinic w fitoplanktonie w %
8.08.2006	7690	14050	21740	35
22.08.2006	9422	13048	22470	42
10.07.2007	3028	16309	19337	16
24.07.2007	4095	21044	25139	16
7.08.2007	5021	18302	23323	22
21.08.2007	6402	18212	24614	26
24.06.2008	2038	12039	14077	14
8.07.2008	3938	12294	16232	24
22.07.2008	5024	11033	16057	31
5.08.2008	6234	17402	23636	26
21.07.2009	6200	17068	23268	27
18.08.2009	8429	19492	27921	30

Obecność toksyn sinicowych stwierdzono jedynie w 4 próbach. Poza mikrocytyną-LR wykryto tylko jeden raz mikrocytynę-YR. Stężenie mikrocytyn było bardzo niskie i nie przekroczyło wartości $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ (tabela 29).

Tabela 29. Stężenie mikrocytyn w Jeziorze Kierskim

Data	Mikrocytyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Suma mikrocytyn
8.08.2006	0,000	0,000	0,000	0,000
22.08.2006	0,020	0,000	bd	0,020
10.07.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
24.07.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
7.08.2007	0,188	0,000	0,000	0,188
21.08.2007	0,328	0,000	0,000	0,328
24.06.2008	0,000	0,000	0,000	0,000

8.07.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
22.07.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
5.08.2008	0,329	0,000	0,075	0,404
21.07.2009	0,000	0,000	0,000	0,000
18.08.2009	0,000	0,000	0,000	0,000

W ciągu 4 lat badań w Jeziorze Kierskim odnotowano jedynie 9 gatunków sinic. W poszczególnych próbach największe liczebności osiągały gatunki z rodzaju *Chroococcus* oraz *Lyngbya limnetica* i *Pseudanabaena limnetica*. W dwóch ostatnich latach badań pojawiły się 2 gatunki wcześniej nie obserwowane: *Cylindrospermopsis raciborskii* oraz *Microcystis aeruginosa*. Gatunki te nie osiągały jednak dużej liczebności (tabela 30, 31, 32, 33).

Tabela 30. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Kierskim w roku 2006

Gatunek	8.08.2006	22.08.2006
<i>Cuspidothrix</i> sp.	+	+
<i>Aphanizomenon</i> sp.	834	1204
<i>Chroococcus minimus</i>	663	748
<i>Chroococcus turgidus</i>	+	440
<i>Lyngbya limnetica</i>	3208	4957
<i>Oscillatoria pseudominima</i>	1023	732
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	1962	1341
Suma komórek sinic	7690	9422

Tabela 31. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Kierskim w roku 2007

Gatunek	10.07.2007	24.07.2007	7.08.2007	21.08.2007
<i>Cuspidothrix</i> sp.	-	-	+	294
<i>Aphanizomenon</i> sp.	229	379	294	344
<i>Chroococcus minimus</i>	773	1057	1495	2046
<i>Chroococcus turgidus</i>	583	1272	1309	1633
<i>Lyngbya limnetica</i>	764	644	1027	1119
<i>Oscillatoria pseudominima</i>	-	-	204	+
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	679	743	692	966
Suma komórek sinic	3028	4095	5021	6402

Tabela 32. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Kierskim w roku 2008

Gatunek	24.06.2008	8.07.2008	22.07.2008	5.08.2008
<i>Cuspidothrix</i> sp.	-	-	229	+
<i>Aphanizomenon</i> sp.	273	337	452	307
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	-	-	-	103
<i>Chroococcus minimus</i>	931	874	730	1028
<i>Chroococcus turgidus</i>	-	306	208	349
<i>Lyngbya limnetica</i>	440	1066	993	2117
<i>Microcystis aeruginosa</i>	-	-	204	+

<i>Oscillatoria pseudominima</i>	-	+	172	+
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	394	1355	2036	2433
Suma komórek sinic	2038	3938	5024	6234

Tabela 33. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Kierskim w roku 2009

Gatunek	21.07.2009	18.08.2009
<i>Cuspidothrix</i> sp.	+	221
<i>Aphanizomenon</i> sp.	639	790
<i>Chroococcus minimus</i>	1377	1201
<i>Chroococcus turgidus</i>	777	849
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	-	+
<i>Lyngbya limnetica</i>	1088	1336
<i>Microcystis aeruginosa</i>	329	621
<i>Oscillatoria pseudominima</i>	809	1334
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	1181	2077
Suma komórek sinic	6200	8429

Wszystkie próby z Jeziora Kierskiego charakteryzowały się stosunkowo wysokim pH (tylko w jednej z nich stwierdzono pH poniżej 7), wysokim przewodnictwem elektrolitycznym oraz dużym natlenieniem. Temperatura wody zawierała się w granicach 21,3 do 24,9°C (tabela 34).

Tabela 34. Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w Jeziorze Kierskim

Data	pH	Przewodnictwo $\mu\text{S cm}^{-1}$	O ₂ mg l ⁻¹	Temperatura °C
8.08.2006	7,2	778	8,4	22,1
22.08.2006	7,3	767	8,2	22,4
10.07.2007	7,1	699	7,9	21,3
24.07.2007	7,3	722	8,4	21,9
7.08.2007	7,8	792	8,2	22,4
21.08.2007	7,7	821	9,1	22,3
24.06.2008	7,0	804	10,2	24,9
8.07.2008	6,8	774	bd	bd
22.07.2008	7,7	786	5,9	21,9
5.08.2008	7,4	773	8,3	22,7
21.07.2009	7,8	799	8,1	21,4
18.08.2009	7,5	782	8,4	22,1

4.1.5. Jezioro Kórnickie

Jezioro Kórnickie było monitorowane w latach 2008-2009. W tym czasie pobrano w

nim łącznie 6 prób. We wszystkich próbach dominowały sinice, których liczebność maksymalnie wyniosła 97 540 kom. w 1 ml wody. Procentowy udział sinic w fitoplanktonie mieścił się w zakresie 61-88% (tabela 35). Zarówno liczebność jak i procentowy udział sinic w składzie fitoplanktonu były wyraźnie wyższe w roku 2008 niż w 2009. W pierwszym roku badań osiągnęły one maksimum już w lipcu, podczas gdy w drugim roku badań dopiero w sierpniu.

Tabela 35. Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Kórnickim

Data	Liczba komórek sinic w 1ml wody	Liczba pozostałych taksonów fitoplanktonu (kom. w 1 ml)	Ogólna liczba komórek fitoplanktonu w 1 ml wody	Udział sinic w fitoplanktonie w %
25.06.2008	27947	17958	45905	61
9.07.2008	52443	7239	59682	88
23.07.2008	97540	20472	118012	83
6.08.2008	79324	16987	96311	82
22.07.2009	24865	12048	36913	67
19.08.2009	41996	10573	52569	80

W czterech próbach stwierdzono obecność mikrocytyn produkowanych przez sinice. Maksymalne stężenie toksyn wyniosło 0,852 $\mu\text{g l}^{-1}$ w próbce z sierpnia 2008 roku (tabela 35). W obydwu latach nie było ono związane ani z maksymalną liczebnością sinic, ani z maksymalnym ich udziałem w składzie fitoplanktonu.

Tabela 36. Stężenie mikrocytyn w Jeziorze Kórnickim

Data	Mikrocytyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Suma mikrocytyn
25.06.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
9.07.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
23.07.2008	0,778	0,000	0,000	0,778
6.08.2008	0,842	0,000	0,010	0,852
22.07.2009	0,228	0,000	0,000	0,228
19.08.2009	0,180	0,000	0,000	0,180

W pobranych próbach rozróżniono 15 taksonów sinic. Dominującym gatunkiem był *Planktothrix agardhi*, którego maksymalna liczebność wyniosła 44 624 kom. w 1 ml wody. W jeziorze pojawiły się również gatunki inwazyjne *Cylindrospermopsis raciborskii* oraz

Raphidiopsis mediterranea (tabela 37 i 38).

Tabela 37. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Kórnickim w roku 2008

Gatunek	25.06.2008	9.07.2008	23.07.2008	6.08.2008
<i>Anabaena spiroides</i>	-	66	-	-
<i>Anabaena flos-aque</i>	+	128	221	-
<i>Aphanizomenon gracile</i>	476	1644	1256	782
<i>Cuspidothrix</i> sp.	241	654	553	124
<i>Aphanizomenon</i> sp.	355	550	365	443
<i>Chroococcus</i> sp.	454	321	1564	659
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	-	218	650	333
<i>Limnothrix redekei</i>	8467	15439	22275	12794
<i>Lyngbya limnetica</i>	3659	8995	14327	12677
<i>Merismopedia glauca</i>	-	76	+	-
<i>Microcystis aeruginosa</i>	176	650	1032	227
<i>Microcystis wesenbergii</i>	+	-	243	+
<i>Planktothrix agardhi</i>	8993	18363	44624	39644
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	5126	5339	10430	11643
Suma komórek sinic	27947	52443	97540	79324

Tabela 38. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Kórnickim w roku 2009

Gatunek	22.07.2009	19.08.2009
<i>Anabaena spiroides</i>	-	89
<i>Anabaena flos-aque</i>	+	+
<i>Aphanizomenon aphanizomenoides</i>	+	+
<i>Aphanizomenon gracile</i>	233	309
<i>Cuspidothrix</i> sp.	498	547
<i>Aphanizomenon</i> sp.	+	1089
<i>Chroococcus</i> sp.	2311	1033
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	552	690
<i>Limnothrix redekei</i>	4887	14099
<i>Lyngbya limnetica</i>	2554	7998
<i>Merismopedia glauca</i>	+	288
<i>Microcystis aeruginosa</i>	+	217
<i>Planktothrix agardhi</i>	9442	24880
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	4388	9657
<i>Raphidiopsis mediterranea</i>	-	+
Suma komórek sinic	24865	41996

Próby wody z Jeziora Kórnickiego charakteryzowały się stosunkowo wysoką temperaturą (tylko w jednej z nich, pobranej w czerwcu, wynosiła ona poniżej 20°C), dobrym natlenieniem oraz wysokim przewodnictwem elektrolitycznym i pH zbliżonym do obojętnego (tabela 39).

Tabela 39. Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w Jeziorze Kórnickim

Data	pH	Przewodnictwo $\mu\text{S cm}^{-1}$	O ₂ mg l^{-1}	Temperatura $^{\circ}\text{C}$
25.06.2008	6,4	594	6,1	18,8
9.07.2008	6,9	698	6,33	21,6
23.07.2008	6,9	699	6,46	21,5
6.08.2008	7,1	712	6,5	21,9
22.07.2009	6,6	688	6,1	20,7
19.08.2009	6,7	686	6,4	20,9

4.1.6. Jezioro Malta

Sinice były dominującą grupą fitoplanktonu Zbiornika Maltańskiego w latach 2006-2009. Za wyjątkiem jednej próby, gdzie ich udział wynosił 35% (czerwiec 2008 roku), procentowy udział sinic w ogólnej liczbie komórek fitoplanktonu wahał się od 35 do 89%. Największą liczebność sinice uzyskały w próbach z roku 2006, powyżej 60000 komórek na 1 ml wody (tabela 40).

Tabela 40. Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w jeziorze Malta

Data	Liczba komórek sinic w 1ml wody	Liczba pozostałych taksonów fitoplanktonu (kom. w 1 ml)	Ogólna liczba komórek fitoplanktonu w 1 ml wody	Udział sinic w fitoplanktonie w %
8.08.2006	63970	8560	72530	88
22.08.2006	64047	7936	71983	89
10.07.2007	23480	6302	29782	79
24.07.2007	33057	7034	40091	82
7.08.2007	40261	8361	48622	83
21.08.2007	44027	7202	51229	86
24.06.2008	4028	7402	11430	35
8.07.2008	11398	6055	17453	65
22.07.2008	24045	8462	32507	74
5.08.2008	42947	7452	51983	83
21.07.2009	34957	9036	43993	79
18.08.2009	50236	7231	57467	87

W pięciu z dwunastu prób wody z jeziora Malta zidentyfikowano toksyny sinicowe. Najwyższe stężenie stwierdzono w próbce z początku sierpnia 2006 roku, kiedy występowała

mikrocystyna-YR. W pozostałych czterech próbach, w których występowały mikrocystyny, dominowała MC-LR, przy mniejszym udziale MC-RR i braku MC-YR (tabela 41).

Tabela 41. Stężenie mikrocystyn w jeziorze Malta

Data	Mikrocystyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Suma mikrocystyn
8.08.2006	0,000	0,000	0,765	0,765
22.08.2006	0,000	0,000	bd	0,000
10.07.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
24.07.2007	0,010	0,006	0,000	0,016
7.08.2007	0,009	0,000	0,000	0,009
21.08.2007	0,209	0,000	0,000	0,209
24.06.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
8.07.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
22.07.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
5.08.2008	0,060	0,040	0,000	0,100
21.07.2009	0,000	0,000	0,000	0,000
18.08.2009	0,000	0,000	0,000	0,000

W ciągu 4 lat badań w Zbiorniku Maltańskim zidentyfikowano 10 gatunków sinic. Najliczniej występowały: *Aphanizomenon flos-aquae*, *Planktothrix agardhi* oraz *Pseudanabaena limnetica* (tabela 42, 43, 44, 45).

Tabela 42. Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Malta w roku 2006

Gatunek	8.08.2006	22.08.2006
<i>Anabaena flos-aquae</i>	304	+
<i>Anabaena spiroides</i>	1429	1103
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	9905	6035
<i>Merismopedia</i> sp.	-	+
<i>Microcystis aeruginosa</i>	-	1028
<i>Planktothrix agardhi</i>	22048	27049
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	30284	28832
Suma komórek sinic	63970	64047

Tabela 43. Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Malta w roku 2007

Gatunek	10.07.2007	24.07.2007	7.08.2007	21.08.2007
<i>Anabaena flos-aquae</i>	-	+	+	+
<i>Anabaena spiroides</i>	2937	1833	2203	1293
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	5039	7392	6488	8042
<i>Lyngbya limnetica</i>	-	2038	4022	4035
<i>Merismopedia</i> sp.	-	-	203	308
<i>Microcystis aeruginosa</i>	-	-	443	2074

<i>Microcystis wesenbergii</i>	-	-	-	390
<i>Planktothrix agardhi</i>	3566	5572	7499	9038
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	11938	16222	19403	18847
<i>Woronichinia naegeliana</i>	-	-	-	+
Suma komórek sinic	23480	33057	40261	44027

Tabela 44. Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Malta w roku 2008

Gatunek	24.06.2008	8.07.2008	22.07.2008	5.08.2008
<i>Anabaena spiroides</i>	1038	2485	2204	2803
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	2402	3940	6409	7797
<i>Microcystis aeruginosa</i>	-	-	649	5437
<i>Microcystis wesenbergii</i>	-	-	-	1297
<i>Planktothrix agardhi</i>	-	-	4329	12976
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	588	4973	10454	12637
Suma komórek sinic	4028	11398	24045	42947

Tabela 45. Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Malta w roku 2009

Gatunek	21.07.2009	18.08.2009
<i>Anabaena spiroides</i>	4083	3073
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	20471	26439
<i>Merismopedia</i> sp.	-	+
<i>Microcystis aeruginosa</i>	-	3059
<i>Microcystis wesenbergii</i>	-	1088
<i>Planktothrix agardhi</i>	4038	7398
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	6365	9179
<i>Woronichinia naegeliana</i>	-	+
Suma komórek sinic	34957	50236

Woda badanych próbek wykazywała temperaturę w zakresie od 20,3 do 22,8°C, odczyn zasadowy, dobre natlenienie (powyżej 6 mg l⁻¹ O₂) i wysokie przewodnictwo elektrolityczne (do 793 μS cm⁻¹) (tabela 46).

Tabela 46. Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w jeziorze Malta

Data	pH	Przewodnictwo μS cm ⁻¹	O ₂ mg l ⁻¹	Temperatura °C
8.08.2006	7,1	740	6,9	21,6
22.08.2006	7,3	788	6,0	22,8
10.07.2007	7,2	736	7,3	21,3
24.07.2007	7,3	784	7,8	22,1
7.08.2007	7,8	773	7,1	22,3
21.08.2007	8,1	759	6,9	22,8
24.06.2008	7,1	689	8,2	20,3
8.07.2008	7,3	722	7,2	21,4

22.07.2008	7,7	742	4,8	22,3
5.08.2008	7,7	755	6,4	22,4
21.07.2009	7,3	766	6,9	22,1
18.08.2009	7,5	793	6,4	22,8

4.1.7. Jezioro Niepruszewskie

Jezioro Niepruszewskie charakteryzowało się wysokim udziałem sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu we wszystkich próbach pobranych w ciągu 4 lat badań. Udział procentowy sinic wynosił od 74% do 94%. Maksymalna liczebność sinic wyniosła 47549 kom. na ml wody w próbce z sierpnia 2009 roku (tabela 47).

Tabela 47. Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Niepruszewskim

Data	Liczba komórek sinic w 1ml wody	Liczba pozostałych taksonów fitoplanktonu (kom. w 1 ml)	Ogólna liczba komórek fitoplanktonu w 1 ml wody	Udział sinic w fitoplanktonie w %
7.08.2006	38800	4490	43290	90
21.08.2006	44901	3048	47949	94
9.07.2007	29065	5876	34941	83
23.07.2007	38032	4223	42255	90
6.08.2007	36294	4309	40603	89
20.08.2007	40081	3019	43100	93
23.06.2008	19544	6851	26395	74
7.07.2008	23879	4389	28268	84
21.07.2008	29077	4088	33165	88
4.08.2008	40766	4112	44878	91
20.07.2009	33779	3100	36879	92
17.08.2009	47549	4980	52529	91

Obecność mikrocytyn nie została potwierdzona tylko w jednej z dwunastu prób pobranych z Jeziora Niepruszewskiego (w czerwcu 2008 r.). W roku 2006 największe stężenie osiągała mikrocytyna-RR, w pozostałych próbach mikrocytyna-LR, natomiast nie stwierdzono obecności mikrocytyny-YR. We wszystkich próbach stężenie toksyn nie przekroczyło poziomu $0,354 \mu\text{g l}^{-1}$ (tabela 48).

Tabela 48. Stężenie mikrocytyn w Jeziorze Niepruszewskim

Data	Mikrocystyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Suma mikrocystyn
7.08.2006	0,089	0,188	bd	0,277
21.08.2006	0,110	0,162	bd	0,272
9.07.2007	0,010	0,000	0,000	0,010
23.07.2007	0,209	0,010	0,000	0,219
6.08.2007	0,270	0,010	0,000	0,280
20.08.2007	0,080	0,000	0,000	0,080
23.06.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
7.07.2008	0,072	0,000	0,000	0,072
21.07.2008	0,200	0,055	0,000	0,255
4.08.2008	0,177	0,000	0,000	0,177
20.07.2009	0,252	0,102	0,000	0,354
17.08.2009	0,221	0,073	0,000	0,294

Skład gatunkowy sinic w Jeziorze Niepruszewskim nie jest bardzo zróżnicowany, we wszystkich próbach występowały gatunki nitkowate, z dominacją *Limnothrix redekei* i *Planktothrix agardhi* (tabela 49, 50, 51, 52).

Tabela 49. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Niepruszewskim w roku 2006

Gatunek	7.08.2006	21.08.2006
<i>Aphanizomenon gracile</i>	+	788
<i>Limnothrix redekei</i>	20746	21987
<i>Lyngbya limnetica</i>	5228	5981
<i>Planktothrix agardhi</i>	9865	11099
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	2962	5046
Suma komórek sinic	38800	44901

Tabela 50. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Niepruszewskim w roku 2007

Gatunek	9.07.2007	23.07.2007	6.08.2007	20.08.2007
<i>Aphanizomenon gracie</i>	221	655	260	+
<i>Aphanizomenon sp.</i>	-	+	+	109
<i>Limnothrix redekei</i>	10935	16039	10667	7323
<i>Lyngbya limnetica</i>	7659	8776	7221	5982
<i>Planktothrix agardhi</i>	6588	7923	10332	17362
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	3662	4639	7814	9305
Suma komórek sinic	29065	38032	36294	40081

Tabela 51. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Niepruszewskim w roku 2008

Gatunek	23.06.2008	7.07.2008	21.07.2008	4.08.2008
<i>Aphanizomenon gracile</i>	-	+	320	+

<i>Aphanizomenon</i> sp.	304	+	297	510
<i>Limnothrix redekei</i>	9366	10382	7211	8801
<i>Lyngbya limnetica</i>	5663	6245	7220	7227
<i>Planktothrix agardhi</i>	4211	6219	12938	22048
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	-	1033	1091	2180
Suma komórek sinic	19544	23879	29077	40766

Tabela 52. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Niepruszewskim w roku 2009

Gatunek	20.07.2009	17.08.2009
<i>Aphanizomenon gracile</i>	1028	225
<i>Limnothrix redekei</i>	16293	19038
<i>Lyngbya limnetica</i>	3438	7210
<i>Planktothrix agardhi</i>	8991	17201
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	4029	3875
Suma komórek sinic	33779	47549

Wskaźniki fizyko-chemiczne osiągnęły w pobranych próbach wysokie wartości. Temperatura wody nie spadła poniżej 20°C, pH było obojętne do zasadowego, wartości tlenu osiągały 10,04 mg l⁻¹ O₂, przewodnictwo elektrolityczne dochodziło do 819 μS cm⁻¹ (tabela 53).

Tabela 53. Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w Jeziorze Niepruszewskim

Data	pH	Przewodnictwo μS cm ⁻¹	O ₂ mg l ⁻¹	Temperatura °C
7.08.2006	6,7	644	7,3	21,5
21.08.2006	6,8	621	6,9	21,3
9.07.2007	6,6	611	6,9	20,5
23.07.2007	7,1	688	7,3	22,1
6.08.2007	7	701	7,8	22,6
20.08.2007	6,9	722	7,6	22,3
23.06.2008	7,9	819	10,04	22,3
7.07.2008	bd	bd	bd	23,2
21.07.2008	7,8	772	8,5	21,4
4.08.2008	7,2	680	8,2	22,4
20.07.2009	6,7	655	7,1	22,5
17.08.2009	6,6	671	7,3	22,9

4.1.8. Jezioro Rusalka

Procentowy udział sinic w ogólnej liczbie fitoplanktonu jeziora Rusalka wynosił od

30% do 75%. Najwyższy udział sinic odnotowano w sierpniu 2009 roku, kiedy to ich liczebność wyniosła 23947 komórek na 1 ml wody. Jednocześnie była to najwyższa liczba komórek w próbach z czterech lat badań (tabela 54).

Tabela 54. Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w jeziorze Rusalka

Data	Liczba komórek sinic w 1ml wody	Liczba pozostałych taksonów fitoplanktonu (kom. w 1 ml)	Ogólna liczba komórek fitoplanktonu w 1 ml wody	Udział sinic w fitoplanktonie w %
8.08.2006	10540	8530	19070	55
22.08.2006	13772	7321	21093	65
10.07.2007	6033	8930	14963	40
24.07.2007	12032	7391	19423	62
7.08.2007	17087	8038	25125	68
21.08.2007	20046	7926	27972	72
24.06.2008	3072	7293	10365	30
8.07.2008	7288	7028	14316	51
22.07.2008	12997	8937	21934	59
5.08.2008	14582	7825	22407	65
21.07.2009	14477	7046	21523	67
18.08.2009	23947	8030	31977	75

W próbach z roku 2006 oraz 2008 nie stwierdzono obecności toksyn sinicowych. Natomiast w próbach z sierpnia 2007 roku oraz obu próbach z roku 2009 potwierdzono obecność mikrocytyn. Badania wykazały obecność mikrocytyny-LR oraz mikrocytyny-RR. Najwyższe stężenie toksyn wyniosło 0,910 $\mu\text{g l}^{-1}$ w próbce z 21 sierpnia 2007 roku (tabela 55).

Tabela 55. Stężenie mikrocytyn w jeziorze Rusalka

Data	Mikrocytyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Suma mikrocytyn
8.08.2006	0,000	0,000	0,000	0,000
22.08.2006	0,000	0,000	bd	0,000
10.07.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
24.07.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
7.08.2007	0,010	0,000	0,000	0,010
21.08.2007	0,890	0,020	0,000	0,910
24.06.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
8.07.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
22.07.2008	0,000	0,000	0,000	0,000

5.08.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
21.07.2009	0,000	0,030	0,000	0,030
18.08.2009	0,230	0,185	0,000	0,415

W składzie gatunkowym sinic jeziora Rusałka odnotowano obecność 12 gatunków w 12 przebadanych próbach. Dominowały zdecydowanie gatunki nitkowate sinic. Największe liczebności osiągały *Lyngbya limnetica* i *Pseudanabaena limnetica* występujące we wszystkich próbach oraz *Planktothrix agardhi* dominujący w roku 2009 (tabela 56, 57, 58, 59)

Tabela 56. Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Rusałka w roku 2006

Gatunek	8.08.2006	22.08.2006
<i>Anabaena</i> sp.	227	394
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	1066	1284
<i>Aphanizomenon</i> sp.	3058	2746
<i>Cuspidothrix</i> sp.	+	248
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	1273	1449
<i>Lyngbya limnetica</i>	3584	5957
<i>Planktothrix agardhi</i>	-	+
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	1332	1694
Suma komórek sinic	10540	13772

Tabela 57. Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Rusałka w roku 2007

Gatunek	10.07.2007	24.07.2007	7.08.2007	21.08.2007
<i>Anabaena</i> sp.	-	+	+	-
<i>Anabaenopsis circularis</i>	-	+	-	-
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	+	2639	1132	776
<i>Aphanizomenon</i> sp.	748	1543	2175	1805
<i>Cuspidothrix</i> sp.	328	344	214	327
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	-	203	306	543
<i>Limnothrix redekei</i>	1204	887	221	+
<i>Lyngbya limnetica</i>	2767	4332	7998	9755
<i>Planktothrix agardhi</i>	-	809	1764	2760
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	986	1275	3277	4080
Suma komórek sinic	6033	12032	17087	20046

Tabela 58. Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Rusałka w roku 2008

Gatunek	24.06.2008	8.07.2008	22.07.2008	5.08.2008
<i>Anabaena</i> sp.	374	233	-	-
<i>Anabaenopsis circularis</i>	337	211	-	-

<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	-	469	708	561
<i>Aphanizomenon issatschenkoi</i>	-	-	438	209
<i>Aphanizomenon</i> sp.	+	466	573	1249
<i>Cuspidothrix</i> sp.	-	-	438	209
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	-	-	355	994
<i>Limnothrix redekei</i>	1028	667	905	216
<i>Lyngbya limnetica</i>	1209	3210	6558	6390
<i>Microcystis aeruginosa</i>	-	-	129	+
<i>Merismopedia glauca</i>	124	-	-	+
<i>Planktothrix agardhi</i>	-	-	-	769
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	+	2032	3331	4194
Suma komórek sinic	3072	7288	12997	14582

Tabela 59. Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Rusalka w roku 2009

Gatunek	21.07.2009	18.08.2009
<i>Aphanizomenon aphanizomenoides</i>	+	338
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	559	797
<i>Aphanizomenon</i> sp.	1202	1867
<i>Cuspidothrix</i> sp.	+	-
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	889	1443
<i>Limnothrix redekei</i>	695	+
<i>Lyngbya limnetica</i>	3879	6998
<i>Microcystis aeruginosa</i>	229	+
<i>Planktothrix agardhi</i>	4392	9555
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	2632	2949
Suma komórek sinic	14477	23947

Woda badanych próbek wykazywała temperaturę w zakresie od 21,2 °C do 24,8°C, odczyn lekko zasadowy, dobre natlenienie (powyżej 6 mg l⁻¹ O₂) i wysokie przewodnictwo elektrolityczne (do 798 μS cm⁻¹) (tabela 60).

Tabela 60. Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w jeziorze Rusalka

Data	pH	Przewodnictwo μS cm ⁻¹	O ₂ mg l ⁻¹	Temperatura °C
8.08.2006	6,9	703	6,78	22,8
22.08.2006	7,4	723	7,9	22,4
10.07.2007	7,4	744	8,4	21,2
24.07.2007	7,7	784	8,1	22,3
7.08.2007	7,5	771	8,3	22,9
21.08.2007	7,5	796	8,1	22,5
24.06.2008	7,9	782	8,67	24,8
8.07.2008	7,2	769	5,73	bd
22.07.2008	7,9	782	5,36	22,6

5.08.2008	7,7	772	6,5	23,2
21.07.2009	7,8	798	7,4	22,3
18.08.2009	7,4	766	7,2	23,1

4.1.9. Jezioro Strykowskie

W Jeziorze Strykowskim sinice dominowały w ogólnej liczbie fitoplanktonu we wszystkich terminach badań. Minimalny udział procentowy sinic wynosił 71%, maksymalny aż 89%. Największą liczebność sinic i ich udział w ogólnej liczebności fitoplanktonu zaobserwowano na początku sierpnia 2008 roku (tabela 61).

Tabela 61. Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Strykowskie

Data	Liczba komórek sinic w 1 ml wody	Liczba pozostałych taksonów fitoplanktonu (kom. w 1 ml)	Ogólna liczba komórek fitoplanktonu w 1 ml wody	Udział sinic w fitoplanktonie w %
7.08.2006	29080	10770	39850	73
21.08.2006	34721	7330	42051	83
9.07.2007	26492	11033	37525	71
23.07.2007	30431	8886	39317	77
6.08.2007	39500	9036	48536	81
20.08.2007	37402	7319	44721	84
23.06.2008	24390	9022	33412	73
7.07.2008	33020	6192	39212	84
21.07.2008	50332	6904	57236	81
4.08.2008	55039	7092	62131	89
20.07.2009	32044	10372	42416	76
17.08.2009	35300	11038	46338	76

Pomimo dużej liczebności sinic mikrocystyny zostały zidentyfikowane jedynie w 3 próbach. Stężenie mikrocystyny-LR nie przekroczyło $1 \mu\text{g l}^{-1}$. Najwyższe stężenie stwierdzono na początku sierpnia 2008 roku, w czasie największej liczebności sinic w jeziorze (tabela 62).

Tabela 62. Stężenie mikrocystyn w Jeziorze Strykowskim

Data	Mikrocystyna	Mikrocystyna	Mikrocystyna	Suma mikrocystyn
------	--------------	--------------	--------------	------------------

	LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	
7.08.2006	0,000	0,000	0,000	0,000
21.08.2006	0,000	0,000	bd	0,000
9.07.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
23.07.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
6.08.2007	0,000	0,000	0,000	0,000
20.08.2007	0,229	0,000	0,000	0,229
23.06.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
7.07.2008	0,000	0,000	0,000	0,000
21.07.2008	0,553	0,000	0,000	0,553
4.08.2008	0,826	0,000	0,000	0,826
20.07.2009	0,000	0,000	0,000	0,000
17.08.2009	0,000	0,000	0,000	0,000

Skład gatunkowy sinic w Jeziorze Strykowskim był stosunkowo stabilny, w ciągu 4 lat badań odnotowano jedynie 7 gatunków, występujących we wszystkich latach (tabela 63, 64, 65, 66).

Tabela 63. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Strykowskim w roku 2006

Gatunek	7.08.2006	21.08.2006
<i>Aphanizomenon gracile</i>	3299	2177
<i>Aphanizomenon</i> sp.	442	554
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	451	488
<i>Limnothrix redekei</i>	8308	4287
<i>Lyngbya limnetica</i>	5270	13569
<i>Planktothrix agardhi</i>	3990	7337
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	7320	6309
Suma komórek sinic	29080	34721

Tabela 64. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Strykowskim w roku 2007

Gatunek	9.07.2007	23.07.2007	6.08.2007	20.08.2007
<i>Aphanizomenon gracile</i>	449	865	2198	3221
<i>Aphanizomenon</i> sp.	-	228	309	276
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	-	-	115	331
<i>Limnothrix redekei</i>	8392	8554	6066	2907
<i>Lyngbya limnetica</i>	6213	8597	12744	11414
<i>Planktothrix agardhi</i>	4440	7318	11087	16088
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	6998	4869	6981	3165
Suma komórek sinic	26492	30431	39500	37402

Tabela 65. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Strykowskim w roku 2008

Gatunek	23.06.2008	7.07.2008	21.07.2008	4.08.2008
<i>Aphanizomenon gracile</i>	2188	1776	2276	2099
<i>Aphanizomenon</i> sp.	338	-	672	552

<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	-	-	-	1026
<i>Limnothrix redekei</i>	8554	9634	6972	6220
<i>Lyngbya limnetica</i>	1208	5291	12038	12958
<i>Planktothrix agardhi</i>	4669	7598	20042	25973
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	7433	8721	8332	6211
Suma komórek sinic	24390	33020	50332	55039

Tabela 66. Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Strykowskim w roku 2009

Gatunek	20.07.2009	17.08.2009
<i>Aphanizomenon gracile</i>	1092	1529
<i>Aphanizomenon</i> sp.	554	224
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	209	576
<i>Limnothrix redekei</i>	9612	5937
<i>Lyngbya limnetica</i>	5927	7844
<i>Planktothrix agardhi</i>	8028	17092
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	6622	2098
Suma komórek sinic	32044	35300

Parametry fizyko-chemiczne prób wody z Jeziora Strykowskiego były stosunkowo wysokie oraz powtarzalne. Wartość pH zawierała się w granicach 7,6 do 8,2. Przewodnictwo elektrolityczne było z maksymalną wartością 773 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Próby wody charakteryzowały się również wysokim natlenieniem nie schodzącym poniżej 8,3 mg l⁻¹ oraz wysoką temperaturą powyżej 21 °C (tabela 67).

Tabela 67. Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w Jeziorze Strykowskim

Data	pH	Przewodnictwo $\mu\text{S cm}^{-1}$	O ₂ mg l ⁻¹	Temperatura °C
7.08.2006	7,7	723	8,93	22,4
21.08.2006	8,1	755	8,99	22,3
9.07.2007	7,7	653	8,50	21,4
23.07.2007	7,8	688	8,77	21,7
6.08.2007	8,0	773	8,60	22,9
20.08.2007	8,1	735	8,33	22,2
23.06.2008	7,9	677	8,93	23,9
7.07.2008	bd	bd	bd	22,5
21.07.2008	7,8	697	8,88	22,5
4.08.2008	8,2	725	9,10	22,7
20.07.2009	7,6	692	8,70	21,5
17.08.2009	7,9	712	8,90	22,6

4.2 Izolacja DNA

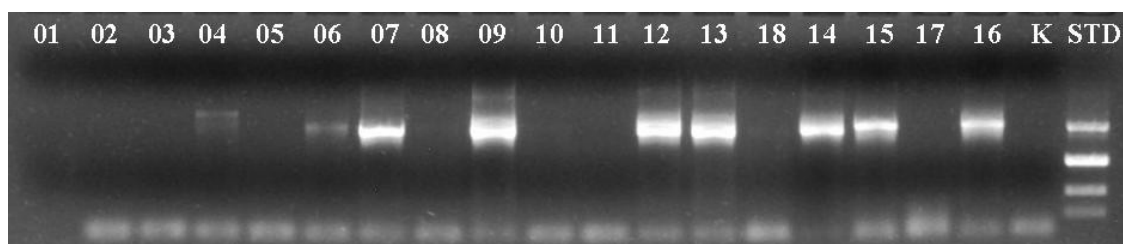
4.2.1 Skuteczność starterów

Badania molekularne pozwoliły przeprowadzić analizę 10 gatunków sinic, których stężenie matrycy było wystarczające do przeprowadzenia dalszych badań (tabela 68).

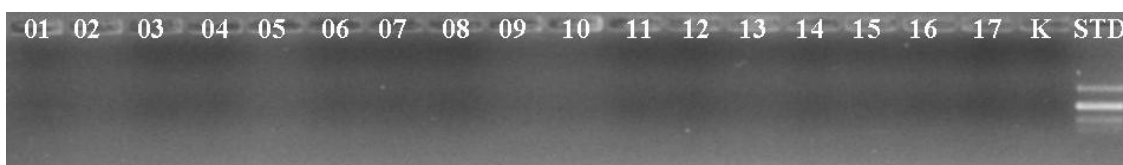
Tabela 68. Skuteczność starterów użytych do reakcji PCR, amplifikujących fragmenty 16S rRNA-23S rRNA i szacowana wielkość (kbp) otrzymanych produktów wg PhotoCapt

Pary starterów		Oznaczenie próby									
		01	04	06	07	09	12	13	14	15	16
CYA359F	23S30R	-	1,929	1,614	1,476	1,491	1,538	1,507	1,522	1,643	1,686
CYA106	781R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CYA359F	781R	0,383	-	-	0,475	0,455	0,400	0,383	-	0,517	-
16S27F	23S30R	1,710	-	-	1,694	1,741	1,820	-	1,785	1,815	1,938
322F	340R	0,600	-	-	0,543	0,620	0,562	0,562	-	0,705	-

Do analizy fragmentów kodujących 16S rRNA-23S rRNA wykorzystano kilka par oligonukleotydowych starterów wykazujących różną efektywność, co przekładało się na jakość otrzymanych produktów PCR. Jak przedstawiono w tabeli 68 oraz rycinach 1 - 5, skuteczność starterów była zróżnicowana.

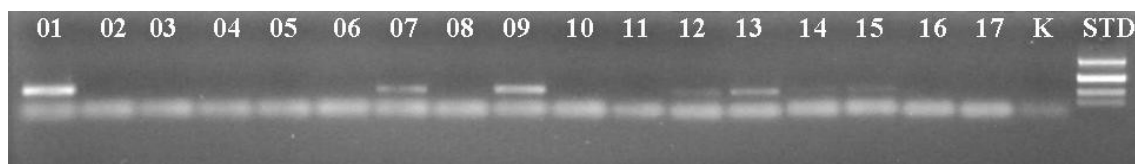


Ryc 1. Produkty amplifikacji z użyciem starterów CYA359F i 23S30R, po elektroforezie przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym

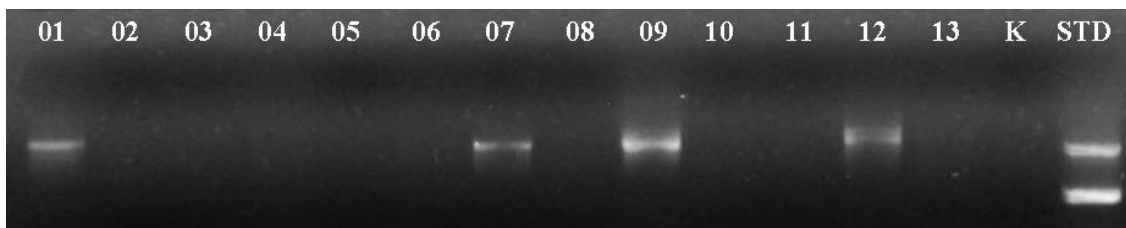


Ryc 2. Produkty amplifikacji z użyciem starterów CYA106F i 781R, po elektroforezie

przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym

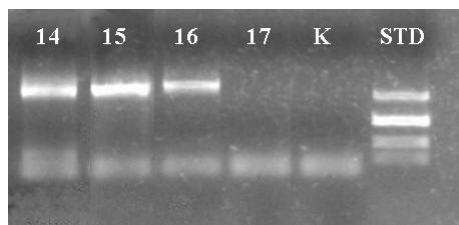


Ryc 3. Produkty amplifikacji z użyciem starterów CYA359F i 781R, po elektroforezie przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym

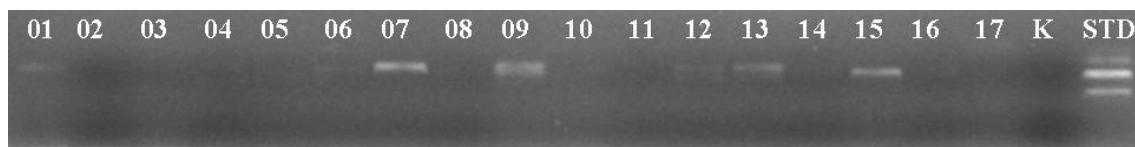


A

B



Ryc 4. Produkty amplifikacji z użyciem starterów 16S27F i 23S30R, po elektroforezie przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym (A: próby 01-13; B: próby 14-17)



Ryc 5. Produkty amplifikacji z użyciem starterów 322F i 340R, po elektroforezie przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym

Najbardziej efektywna okazała się para CYA359F z 23S30R, której działanie nie potwierdziło się jedynie w przypadku próby 01. W 35% skuteczna okazała się para 16S27F i 23S30R, której efektu nie zaobserwowano w trzech przypadkach spośród analizowanych prób: 04, 06 oraz 13. Przy matrycach 04 i 06 nie zadziałały także pozostałe startery.

Starter CYA359F w połączeniu z CYA781R(a) i CYA781R(b), podobnie jak 322F z 340R były skuteczne w sześciu przypadkach.

Zestawienie CYA106 z 781R(a) oraz 781R(b) nie dało efektu na żadnej z matryc.

4.2.2. Analiza sekwencji 16S rRNA

Produkty amplifikacji otrzymane z matrycy 01 w efekcie sekwencjonowania, dały sekwencje krótsze niż 600pz oraz długie liczące 1700 par zasad. Po przyrównaniu ich do pozyskanej z bazy GenBank sekwencji wzorcowej GU935368 o długości 1880pz, otrzymano dwa fragmenty łańcucha DNA.

Pierwszy fragment został złożony z sekwencji uzyskanych ze starterów 16S27F, CYA359F oraz 781R(a), 781R(b) i składał się z 409 par zasad, natomiast wspólny fragment liczył zaledwie 319pz.

Podobieństwo, na odcinku wspólnym dla wszystkich sekwencji, sięgało ponad 98% (tabela 69). Drugi odcinek, złożony z produktów pary starterów 322F i 340R, został przyrównany do tej samej matrycy wzorcowej. Tu jednak zauważono znaczące zmiany w kolejnych egzonach, co przełożyło się jednocześnie na niższe procentowe podobieństwa nici (tabela 70).

Tabela 69. Statystyczne zestawienie podobieństwa pierwszego fragmentu DNA wspólnego dla wszystkich analizowanych sekwencji próby 01

	GU935368	01.16S27F	01.CYA359F	01.781R(b)	01.781R(a)
GU935368	319 0 0	99% 99% 0%	98% 98% 0%	100% 100% 0%	100% 100% 0%
01.16S27F	317 317 0	319 0 0	97% 97% 0%	99% 99% 0%	99% 99% 0%
01.CYA359F	314 314 1	312 312 1	318 0 0	98% 98% 0%	98% 98% 0%
01.781R(b)	319 319 0	317 317 0	314 314 1	319 0 0	100% 100% 0%
01.781R(a)	319 319 0	317 317 0	314 314 1	319 319 0	319 0 0

Tabela 70. Statystyczne zestawienie podobieństwa drugiego fragmentu DNA wspólnego dla wszystkich analizowanych sekwencji próby 01

	GU935368	01.340R	01.322F
GU935368	234 0 0	96% 96% 0%	95% 95% 0%
01.340R	226 226 1	235 0 0	98% 98% 0%
01.322F	225 225	231 231	235 0

	0	0	0
--	---	---	---

Porównanie sekwencji otrzymanej z matrycy 01 z bazą NCBI wykazało 99% podobieństwo do *Synechocystis* sp. Sai002 (GU935368) oraz *Merismopedia glauca* B1448-1. Po analizie mikroskopowej potwierdzono obecność *Synechocystis* sp.

Do analizy matrycy 04 wykorzystano sekwencję uzyskaną z sekwencjonowania produktu amplifikacji starterem 23S30R. Sekwencję długości 506pz przyrównano do sekwencji *Nostoc* sp. V151 (AY827829) pozyskanej z bazy NCBI (tabela 71).

Przy przyrównaniu 04.23S30R z bazą GenBank, za pomocą BLASTN, podobieństwo z *Nostoc* sp. V151 (AY827829) liczyło zaledwie 81%, ze względu na przyrównanie do stosunkowo długiej sekwencji liczącej 990pz.

Tabela 71. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 4.23S30R z AY827829

	AY827829	04.23S30R
AY827829	507 0 0	96% 96% 0%
04.23S30R	489 489 5	506 0 0

W przypadku matrycy 06, jako sekwencji wzorcowej użyto *Planktothrix agardhi* PCC 9637 (GQ351569) o długości 1421pz. Wspólny odcinek przyrównania miał jedynie 276pz. Podobieństwo sekwencji (tabela 72) 06.CYA359F do *Planktothrix agardhi* PCC 9637 (GQ351569) wynosiło 97%.

Tabela 72. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 06.CYA359F z GQ351569

	GQ351569	06.CYA359F
GQ351569	280 0 0	97% 97% 1%
06.CYA359F	273 273 4	276 0 0

W porównaniu z sekwencjami zdeponowanymi w GenBank, podobieństwo wielkości 95% poza sekwencją wzorcową, dotyczyło *Planktothrix agardhi* NIVA-CYA (GQ351563) oraz *Planktothrix agardhi* NIES-596 (AB045958).

Dla próby 07, otrzymano dwie długie sekwencje złożone z ponad 1400 par zasad oraz dwie krótkie, liczące 475-543pz. Uzyskane fragmenty przyrównano do sekwencji zdeponowanych w bazie danych GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) i wyszukano te, wykazujące największe podobieństwo stosując program BLASTN. Jako sekwencję wzorcową

wykorzystano MAU03402 liczącą 1411pz oraz dłuższą (107256pz) AM778951 pochodzące ze szczepu *Microcystis aeruginosa* PCC 7806.

Przyrównanie sekwencji wykazało amplifikację dwóch fragmentów DNA analizowanego gatunku. Odcinek pierwszy, liczący razem 270pz, został złożony z produktów amplifikowanych za pomocą starterów CYA359F, 16S27F oraz 781R(a) i 781R(b). Wszystkie przyrównane sekwencje wykazały się dużym podobieństwem (99%) do sekwencji wzorcowej (tab. 73).

Tabela 73. Statystyczne zestawienie podobieństwa pierwszego fragmentu DNA wspólnego dla wszystkich analizowanych sekwencji próby 07

	MAU03402	07.781R(a)	07.781R(b)	07.16S27F	07.CYA359F
MAU03402	269	99%	99%	99%	99%
	0	99%	99%	99%	99%
	0	0%	0%	0%	0%
07.781R(a)	269	270	100%	100%	99%
	269	0	100%	100%	99%
	1	0	0%	0%	0%
07.781R(b)	269	270	270	100%	99%
	269	270	0	100%	99%
	1	0	0	0%	0%
07.16S27F	269	270	270	270	99%
	269	270	270	0	99%
	1	0	0	0	0%
07.CYA359F	268	269	269	269	270
	268	269	269	269	0
	1	0	0	0	0

W efekcie złożenia fragmentów i przyrównania złożonej sekwencji z bazą GenBank otrzymano wynik 100% podobieństwa m.in. z *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 (AM778951, AM778928) jak również *Microcystis novacekii* (EU541973) czy *Microcystis flos-aquae* UWOC (AF139329).

Drugi fragment łańcucha DNA, otrzymany z amplifikacji matrycy 07 starterami: 23S30R oraz 322F i 340R, liczył 748pz. Otrzymane sekwencje wykazały jednak kilka różnic w stosunku do AM778951.

Jak widać w tabeli 74, liczba identycznych nukleotydów w otrzymanych sekwencjach i w sekwencji wzorcowej była równa bądź przekroczyła 98%.

W tym przypadku przyrównanie z bazą NCBI dało efekt 100% zgodności z *Microcystis* sp. 10-9 (EU015868.1) oraz *Microcystis* sp. CYN10 (EF634466.1), natomiast podobieństwo do *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 (AM778951) było równe 99%.

Tabela 74. Statystyczne zestawienie podobieństwa drugiego fragmentu DNA wspólnego dla wszystkich analizowanych sekwencji próby 07

	AM778951	07.23s30R	07.340R	07.322F
AM778951	462 0 0	99% 99% 0%	98% 98% 0%	99% 99% 0%
07.23s30R	458 458 0	462 0 0	99% 99% 0%	100% 100% 0%
07.340R	456 456 0	460 460 0	462 0 0	99% 99% 0%
07.322F	458 458 0	462 462 0	460 460 0	462 0 0

Ostatecznie próbę 07 oznaczono jako *Microcystis aeruginosa* PCC 7806.

Do przyrównania sekwencji 09 jako sekwencji wzorcowej użyto *Planktothrix agardhii* PCC 9637 (GQ351569) o długości 1421pz. W trakcie analizy okazało się, że sekwencja ta jest za krótka, bowiem otrzymana nić z próby 09 osiągnęła długość 1783 par zasad. Budowały ją produkty starterów CYA359F (z obu zestawów), 16S27F, 322F, 23S30R (z zestawu z CYA359F), 781R(a) oraz 781R(b) (tabela 75).

Tabela 75. Statystyczne zestawienie podobieństwa fragmentów DNA próby 09 wspólnych z GQ351569

	GQ351569	09. CYA359F	09. 16S27F	09. CYA359F	09. 322F	09. 23S30R	09. 781R(a)	09. 781R(b)
GQ351569	1421 0 0	50% 50% 49%	44% 44% 55%	14% 14% 85%	7% 7% 92%	38% 38% 60%	25% 25% 74%	13% 13% 86%
09. CYA359F	714 714 706	715 0 0	22% 22% 77%	28% 28% 71%	0% 0% 100%	0% 0% 100%	30% 30% 69%	26% 26% 72%
09. 16S27F	627 627 792	244 244 854	629 0 0	23% 23% 76%	0% 0% 100%	0% 0% 100%	56% 56% 43%	31% 31% 68%
09. CYA359F	206 206 1215	206 206 509	161 161 513	206 0 0	0% 0% 100%	0% 0% 100%	41% 41% 58%	36% 36% 62%
09. 322F	106 106 1315	0 0 821	0 0 735	0 0 312	106 0 0	23% 23% 73%	0% 0% 100%	0% 0% 100%
09. 23S30R	367 367 1027	71 71 965	0 0 1023	0 0 600	93 93 288	394 0 0	0% 0% 100%	0% 0% 100%
09. 781R(a)	363 363 1058	249 249 578	358 358 276	166 166 237	0 0 469	0 0 757	363 0 0	53% 53% 45%
09. 781R(b)	195 195 1224	191 191 524	195 195 432	108 108 183	0 0 303	0 0 591	195 159 166	197 0 0

Przyrównanie sekwencji (1099pz), za pomocą BLASTN, nie zawierającej odczytów starterów 23S30R oraz 322F, dało efekt 99% podobieństwa m.in. do używanego jako wzorca *Planktothrix agardhii* PCC 9637 (GQ351569), jak również do *Planktothrix agardhii* PCC 10110 (GQ351573). Przy porównaniu całej sekwencji o długości 1783pz, efekt był 98% dla wskazanych wcześniej szczepów.

Produkty amplifikacji matrycy 12 dały obraz sekwencji o długości 1505pz. Matrycą wzorcową była sekwencja *Anabaena variabilis* ATCC 29413 (CP000117), która okazała się podobna do 12 w 73%. Zestawienie podobieństwa z wszystkimi uzyskanymi sekwencjami zebrano w tabeli 76.

Tabela 76. Statystyczne zestawienie podobieństwa wszystkich fragmentów DNA próby 12 z CP000117

	CP000117	12. 781R(a)	12. 781R(b)	12. 16S27F	12. CYA359F	12. 23S30R	12. 340R
CP000117	1158	29%	24%	46%	57%	38%	10%
	0	29%	24%	46%	57%	38%	10%
	0	67%	74%	50%	40%	60%	88%
12. 781R(a)	347	371	80%	53%	21%	0%	0%
	347	0	80%	53%	21%	0%	0%
	787	0	0%	46%	78%	100%	100%
12. 781R(b)	281	300	301	50%	18%	0%	0%
	281	300	0	50%	18%	0%	0%
	857	70	0	49%	81%	100%	100%
12. 16S27F	544	328	294	571	51%	0%	0%
	544	328	294	0	51%	0%	0%
	587	284	284	0	47%	100%	100%
12. CYA359F	670	190	156	431	694	17%	0%
	670	190	156	431	0	17%	0%
	466	683	683	399	0	82%	100%
12. 23S30R	442	0	0	0	175	460	27%
	442	0	0	0	175	0	27%
	698	831	761	1031	804	0	72%
12. 340R	123	0	0	0	0	128	128
	123	0	0	0	0	128	0
	1030	499	429	699	822	332	0

Ostateczne przyrównanie otrzymanych sekwencji z bazą GenBank, dało 98% podobieństwo z *Pseudanabaena* sp. MBIC11161 (AB183572), 96% z *Nostoc commune* NC1 (EU586726) i z *Anabaena augstumalis* 'SCHMIDKE JAHNKE/4a (AJ630458), 95% z *Nodularia sphaerocarpa* BECID36 (AJ781147), natomiast z sekwencją wzorcową *Anabaena variabilis* ATCC 29413 (CP000117) jedynie 94%.

Matryca 13 została odczytana z sekwencji otrzymanych przy użyciu starterów z jednego zestawu: CYA359F oraz 781R(a) i 781R(b). Uzyskany odcinek był stosunkowo krótki (402 pary zasad) i został przyrównany do sekwencji *Calothrix desertica* PCC 7102 (AM230699) (tabela 77).

Ostateczne przyrównanie sekwencji z bazą NCBI dało efekt 100% podobieństwa do *Calothrix* sp. z kilku szczepów, m.in. XP11C (AM230698), XP4B (AM230692) oraz PCC 8909 (AM230693).

Tabela 77. Statystyczne zestawienie podobieństwa fragmentów DNA próby 13 wspólnych z AM230699

	AM230699	13.781R(a)	13.781R(b)	13.CYA359F
AM230699	402 0 0	79% 79% 15%	74% 74% 20%	32% 32% 64%
13.781R(a)	320 320 63	339 0 0	94% 94% 5%	19% 19% 80%
13.781R(b)	300 300 83	319 319 20	319 0 0	14% 14% 85%
13.CYA359F	132 132 259	80 80 322	60 60 342	143 0 0

Sekwencja próby 14 przyrównywana była do tej samej sekwencji AM230699, co wcześniej analizowana matryca 13, gdyż i tu spodziewano się gatunku z rodzaju *Calothrix* (tabela 78).

Tabela 78. Statystyczne zestawienie podobieństwa fragmentów DNA próby 14 wspólnych z AM230699

	AM230699	14.CYA359F	14.16S27F
AM230699	741 0 0	99% 99% 0%	38% 38% 61%
14.CYA359F	739 739 1	742 0 0	38% 38% 61%
14.16S27F	288 288 453	288 288 454	288 0 0

99% podobieństwo matrycy 14 z *Calothrix desertica* PCC 7102, potwierdziło również przyrównanie sekwencji z bazą NCBI, za pomocą BLASTN, w którym najwyższym wynikiem równym 86% był ten sam szczep.

W przypadku matrycy 15, użyto sekwencji z ośmiu starterów, które po przyrównaniu dały dwa odcinki DNA o długości: 551 i 723 par zasad. Całą długość pierwszego fragmentu stanowił produkt amplifikacji startera 16S27F, natomiast pozostałe sekwencje były krótsze i pokrywały się niemal w 100%.

Dla zobrazowania podobieństwa sekwencji wybrano wspólny fragment dla wszystkich

odcinków i statystycznie porównano ze sobą, co przedstawia tabela 79.

Tabela 79. Statystyczne zestawienie podobieństwa pierwszego fragmentu DNA wspólnego dla wszystkich analizowanych sekwencji próby 15

	GU935368	15.CYA359F	15.16S27F	15.781R(a)	15.781R(b)
GU935368	173	100%	100%	100%	100%
	0	100%	100%	100%	100%
	0	0%	0%	0%	0%
15.CYA359F	173	173	100%	100%	100%
	173	0	100%	100%	100%
	0	0	0%	0%	0%
15.16S27F	173	173	173	100%	100%
	173	173	0	100%	100%
	0	0	0	0%	0%
15.781R(a)	173	173	173	173	100%
	173	173	173	0	100%
	0	0	0	0	0%
15.781R(b)	172	172	172	172	172
	172	172	172	172	0
	1	1	1	1	0

W przypadku drugiego fragmentu zgodność przyrównanych sekwencji do wzorca pozyskanego z bazy GenBank, była tylko częściowa (tabela 80).

Tabela 80. Statystyczne zestawienie podobieństwa drugiego fragmentu DNA wspólnego dla wszystkich analizowanych sekwencji próby 15

	GU935368	15.23S30R	15.23S30R	15.340R	15.322F
GU935368	560	69%	68%	69%	69%
	0	69%	68%	69%	69%
	0	0%	0%	0%	0%
15.23S30R	392	561	97%	99%	99%
	392	0	97%	99%	99%
	3	0	0%	0%	0%
15.23S30R	383	549	562	98%	98%
	383	549	0	98%	98%
	2	1	0	0%	0%
15.340R	392	558	551	562	100%
	392	558	551	0	100%
	2	1	0	0	0%
15.322F	392	558	551	562	562
	392	558	551	562	0
	2	1	0	0	0

Przyrównanie sekwencji matrycy 15 do bazy NCBI wskazało 99% podobieństwo z *Synechocystis* sp. PCC 6803 (BA000022).

W przypadku matrycy 16 mimo efektu sekwencjonowania uzyskanego z czterech

starterów nie udało się nałożyć sekwencji na siebie, w efekcie czego sekwencje 16.CYA359F oraz 16.23S30R analizowane były oddzielnie.

W obu przypadkach, jako wzorca użyto sekwencji nukleotydów pochodzących ze szczepu *Synechocystis* sp. Sai001 (GU935367). Analizowana sekwencja 16.CYA359F o długości 707 par zasad wykazała przy przyrównaniu 96% podobieństwo, co potwierdza zestawienie ujęte w tabeli 81.

Tabela 81. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 16.CYA359F z GU935367

	GU935367	16.CYA359F
GU935367	724	96%
	0	96%
	0	2%
16.CYA359F	696	707
	696	0
	17	0

Przyrównanie 16.23S30R do *Synechocystis* sp. Sai001 w bazie NCBI dało efekt 97% identycznych nukleotydów na odcinku długości 276pz, co potwierdziło wynik przyrównania odcinka 16.CYA359F (tabela 82).

Tabela 82. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 16.23S30R z GU935367

	GU935367	16.23S30R
GU935367	280	97%
	0	97%
	0	1%
16.23S30R	273	276
	273	0
	4	0

4.2.3. Wyniki amplifikacji genów odpowiedzialnych za toksyczność

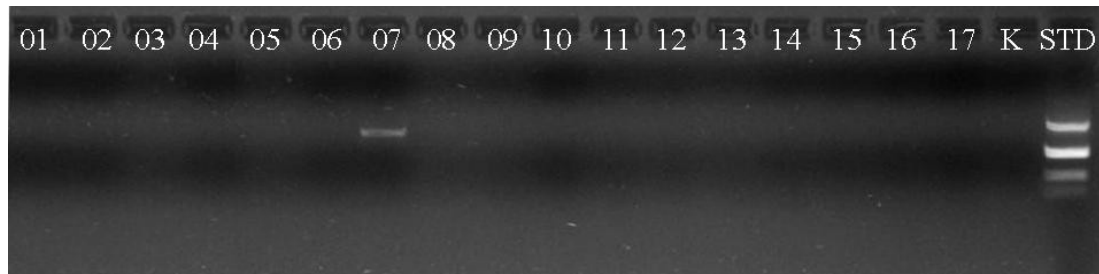
Wszystkie próby DNA były testowane na obecność genów, których produkty zaangażowane są w wydzielanie i transportowanie różnych rodzajów toksyn (tabela 83).

Tabela 83. Skuteczność starterów użytych do reakcji PCR, amplifikujących fragmenty odpowiedzialne za toksyczność

Pary starterów		Oznaczenie próby									
		01	04	06	07	09	12	13	14	15	16
MSF	MSR	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

FAA	RAA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PSCF	PSCR	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
AnamcyE-F2	AnamcyE-12R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
mcyE-F2	AnamcyE-12R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
mcyE-F2	MimcyE-R8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M4	M5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M13	M14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CC1	CC2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CD3	CD4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CB1	CB2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M4	K18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Po przeprowadzonej amplifikacji genu *mcyA* (1491pz), przy użyciu starterów MSF i MSR, w czasie odczytu wyniku na 1% żelu agarozowym, otrzymano tylko jeden prążek z matrycy 07 (ryc. 6, tabela 83).



Ryc. 6. Produkty amplifikacji z użyciem starterów MSF i MSR, po elektroforezie przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym

Otrzymany produkt amplifikacji sekwencjonowano w dwóch kierunkach. Uzyskana sekwencja była bardzo dobrej jakości, dlatego zdecydowano się na wykorzystanie jej do porównania z bazą NCBI.

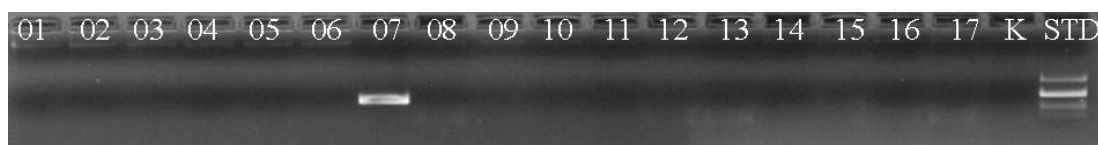
Przyrównanie sekwencji 07.MSR, o długości 460pz wykazało efekt 98% identycznych nukleotydów z sekwencją szczepu *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 (AM778952), odpowiedzialną za syntezę mikrocystyn (tabela 84).

Tabela 84. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 07.MSR z AM778952

	AM778952	07.MSR
AM778952	455	98%
	0	98%
	0	1%
07.MSR	451	460
	451	0
	5	0

Przyrównanie sekwencji 07.MSF z AM778952 było mniej efektywne bowiem przyrównanie 652 zasad dało podobieństwo rzędu 94%. Natomiast przy zestawieniu obu sekwencji razem (1138pz) z bazą GenBank, za pomocą BLASTN, dało obraz 95% dopasowania.

Pozytywny wynik amplifikacji został uzyskany również dla genu *mcyC* (1063pz), przy użyciu starterów PSCF i PSCR, dla matrycy 07 (tabela 83).



Ryc. 7 Produkty amplifikacji z użyciem starterów PSCF i PSCR, po elektroforezie przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym

Sekwencje otrzymane z obu starterów były bardzo dobrej jakości, jednak dały obraz dwóch odcinków, których nie można było nałożyć na siebie. 07.PSCF oraz 07.PSCR były więc analizowane niezależnie. Nić uzyskana ze startera 5' liczyła 718 par zasad i przyrównana do wcześniej już używanej matrycy AM778952, wykazała 96% podobieństwo (tabela 85).

Tabela 85. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 07.PSCF z AM778952

	AM778952	07.PSCF
AM778952	722	96%
	0	96%
	0	0%
07.PSCF	696	718
	696	0
	4	0

Sekwencja 07.PSCR była nieco krótsza bowiem składała się z 562 par zasad. Przyrównanie jej do obszaru 12362-12923 sekwencji szczepu *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 (AM778952) wykazało 99% podobieństwa, co dodatkowo potwierdziło wcześniejsze

wyniki (tabela 86).

Tabela 86. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 07.PSCR z AM778952

	AM778952	07.PSCR
AM778952	562	99%
	0	99%
	0	0%
07.PSCR	558	562
	558	0
	0	0

W trakcie badań wykorzystano jeszcze inne startery, które miały potwierdzić obecność obszarów *mcy*, *cyr* oraz *aoa*, odpowiedzialnych za toksyczność cyjanobakterii, niestety żaden z nich nie dał pozytywnego wyniku w testowanych matrycach.

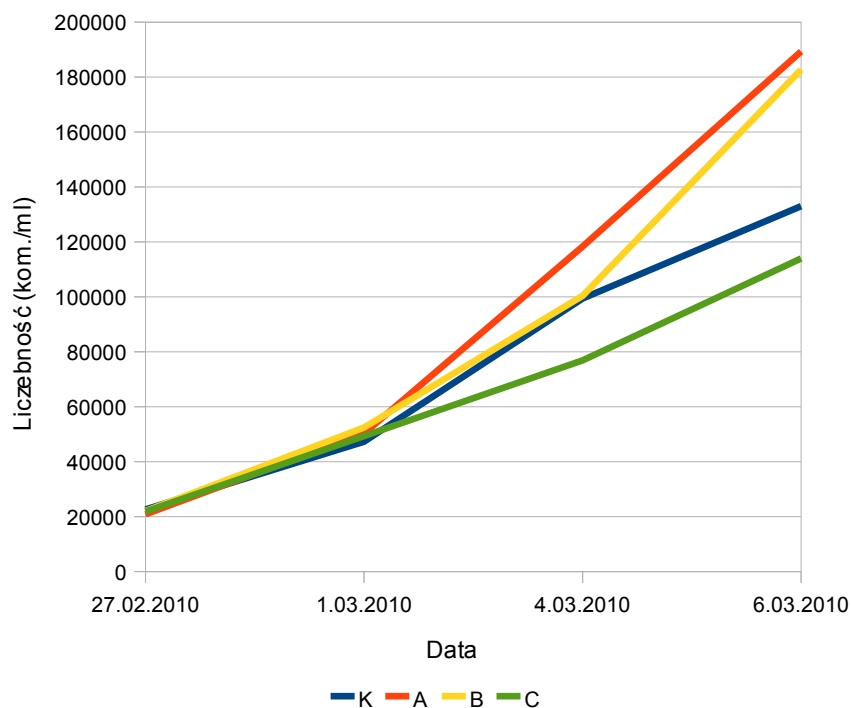
4.3. Wpływ czynników środowiskowych na rozwój sinic i produkcję toksyn

4.3.1. Wpływ stężenia azotu na rozwój sinic i produkcję toksyn

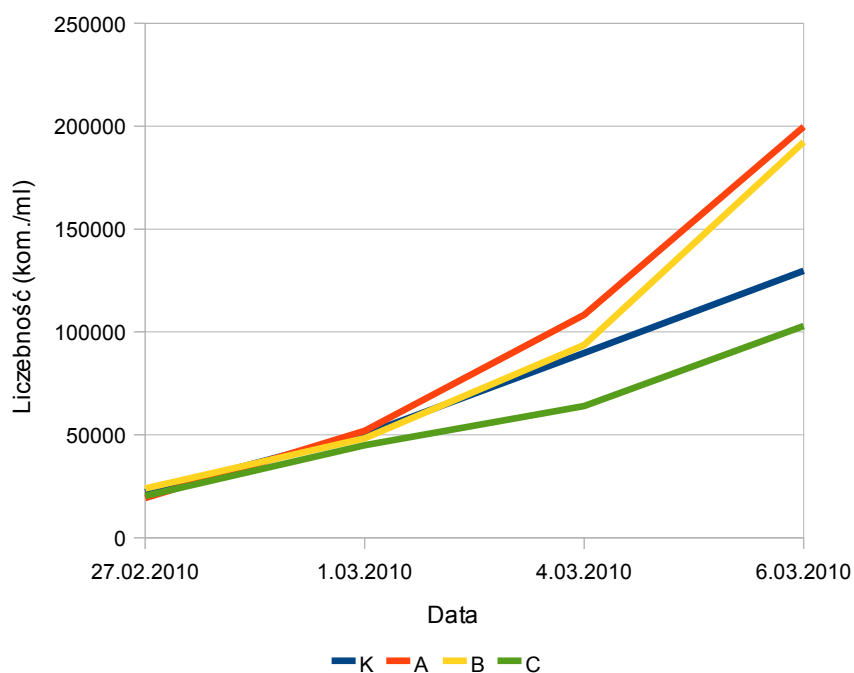
Wpływ azotu na rozwój sinic testowano w następujących stężeniach NaNO_3 w pożywce BG-11: K (próba kontrolna) – 1,5 g/l, A – 0 g/l, B – 0,75 g/l, C – 3,0 g/l.

4.3.1.1. Wpływ stężenia azotu na rozwój *Aphanizomenon gracile*

Sinica *Aphanizomenon gracile* w pierwszych dniach rozwijała się intensywniej w niskich stężeniach azotu, a po tygodniu – w pożywce bez azotanów. Przy najwyższym stężeniu azotu sinica nie rozwijała się tak intensywnie jak w próbie A i B, natomiast jej liczebność była stosunkowo duża (Załącznik 1 i 2). W obydwu powtórzeniach stwierdzono podobne tendencje rozwoju tego gatunku (ryc. 8 i 9).



Ryc. 8. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)



Ryc. 9. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)

Aphanizomenon gracile nie produkował badanych mikrocystyn, gdyż nie stwierdzono ich występowania w żadnej z prób (tabela 87, 88).

Tabela 87. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocystyna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

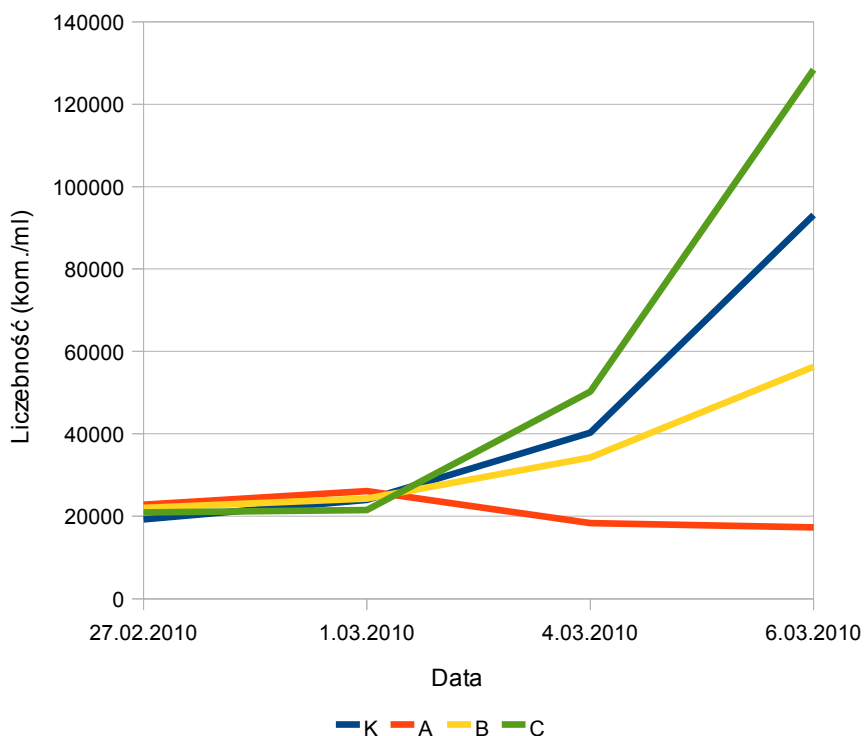
Tabela 88. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocystyna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)

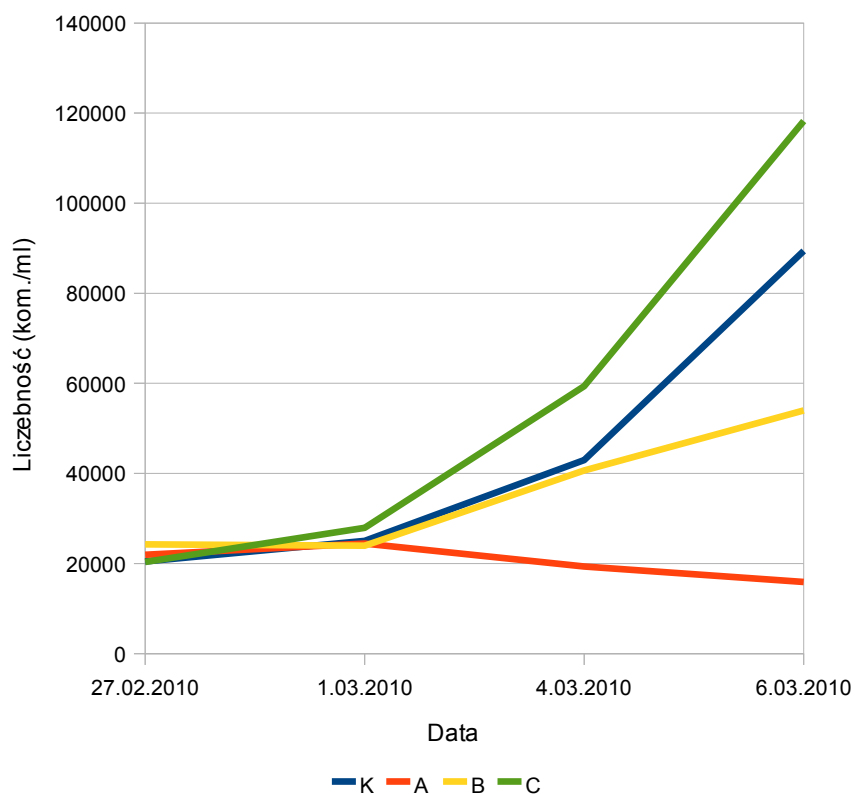
	ba	styna LF ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna LR ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna LW ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna LY ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna RR ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna YR ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.1.2. Wpływ stężenia azotu na rozwój *Calothrix desertica*

Calothrix desertica osiągnęła maksymalną liczebność w próbie z najwyższym stężeniem azotanów. W pozostałych liczebność sinicy była wprost proporcjonalna do stężenia azotu (załącznik 3 i 4). W próbie bez NaNO_3 sinica nie tylko nie zwiększyła swojej liczebności lecz wykazywała wyraźne jej obniżanie się w obydwu prowadzonych seriach badań (ryc. 10 i 11).



Ryc. 10. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)



Ryc. 11. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)

Calothrix desertica nie produkowała badanych mikrocytyn. W żadnej z badanych prób nie wykryto ich obecności (tabela 89, 90).

Tabela 89. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

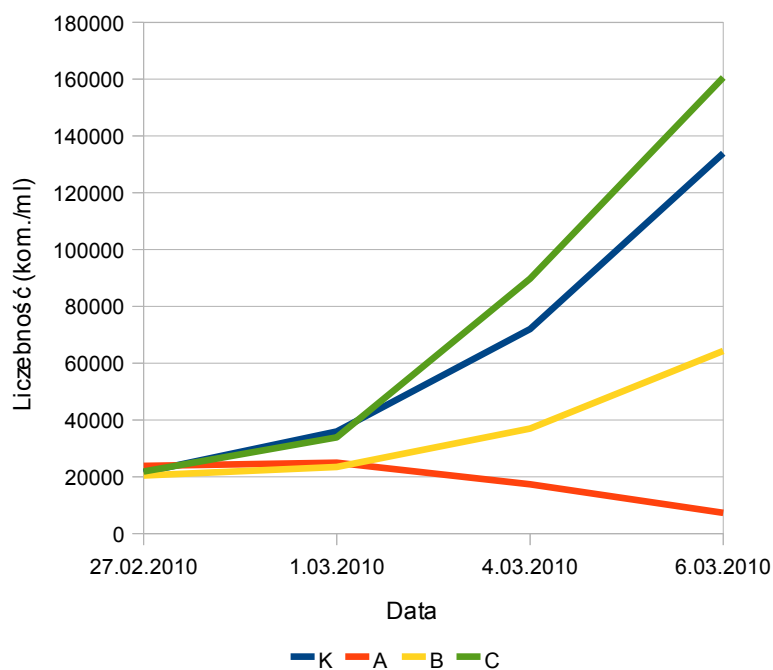
Seria	Próba	Mikrocytyna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 90. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

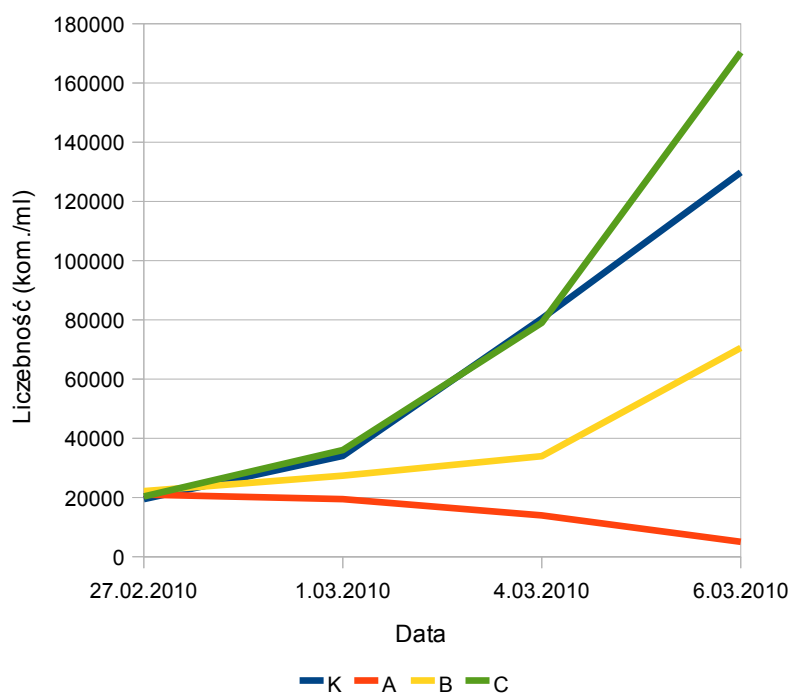
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF (µg/mg s.m.)	Mikrocy- styna LR (µg/mg s.m.)	Mikrocy- styna LW (µg/mg s.m.)	Mikrocy- styna LY (µg/mg s.m.)	Mikrocy- styna RR (µg/mg s.m.)	Mikrocy- styna YR (µg/mg s.m.)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.1.3. Wpływ stężenia azotu na rozwój *Merismopedia glauca*

Brak azotu w próbie A spowodował wyraźne zahamowanie wzrostu *M. glauca* (załącznik 5 i 6). Maksymalną liczebność sinica osiągnęła w próbie z najwyższym stężeniem NaNO_3 (ryc. 12 i 13).



Ryc. 12. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)



Ryc. 13. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)

Merismopedia glauca nie produkowała badanych mikrocytyn, o czym świadczy ich brak we wszystkich badanych próbach (tabela 91, 92).

Tabela 91. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

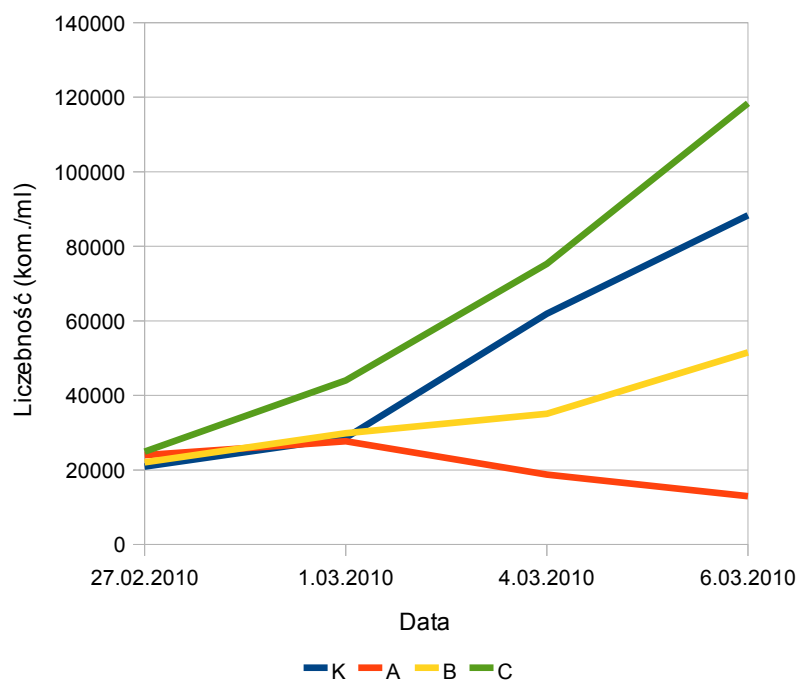
Tabela 92. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocy-styna LF	Mikrocy-styna LR	Mikrocy-styna LW	Mikrocy-styna LY	Mikrocy-styna RR	Mikrocy-styna YR

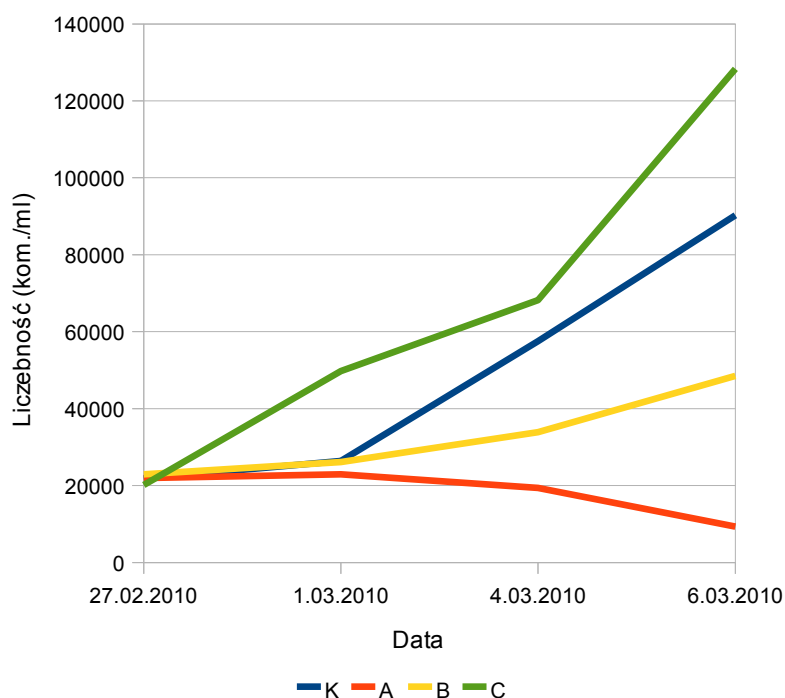
		($\mu\text{g}/\text{mg s.m.}$)	($\mu\text{g}/\text{mg s.m.}$)	($\mu\text{g}/\text{mg s.m.}$)	($\mu\text{g}/\text{mg s.m.}$)	($\mu\text{g}/\text{mg s.m.}$)	($\mu\text{g}/\text{mg s.m.}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.1.4. Wpływ stężenia azotu na rozwój *Microcystis aeruginosa*

Wyniki wzrostu liczebności wyizolowanego szczepu *Microcystis aeruginosa* były proporcjonalne do stężenia NaNO_3 w pożywce (załącznik 7 i 8). Przy braku azotu rozwój sinicy był wyraźnie zahamowany (ryc. 14 i 15).



Ryc. 14. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)



Ryc. 15. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)

Microcystis aeruginosa produkowała toksyny we wszystkich próbach, jednak w teście bez azotu oraz z jego najniższym stężeniem wartości osiągnięte przez mikrocytynę były zdecydowanie niższe niż w próbach z dużą zawartością tego pierwiastka (tabela 93, 94). We wszystkich przypadkach była to tylko mikrocytyna LR.

Tabela 93. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

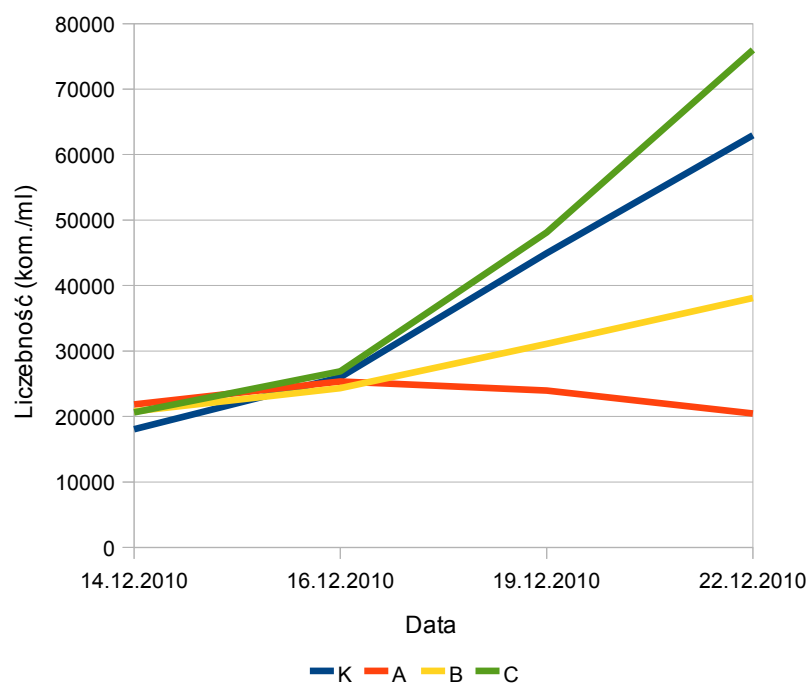
Seria	Próba	Mikrocytyna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,330	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,020	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,400	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,250	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,040	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,660	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 94. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

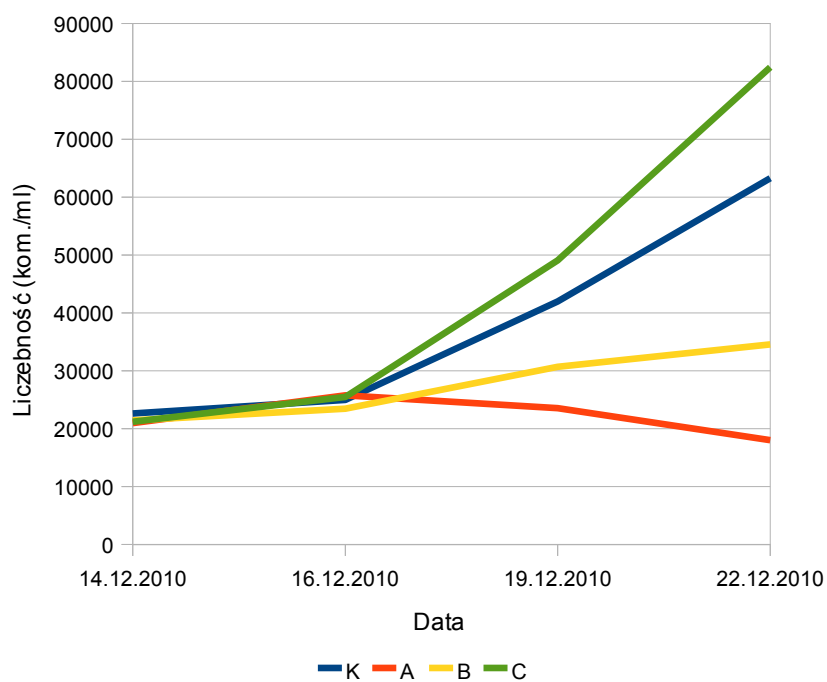
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF (µg/mg s.m.)	Mikrocy- styna LR (µg/mg s.m.)	Mikrocy- styna LW (µg/mg s.m.)	Mikrocy- styna LY (µg/mg s.m.)	Mikrocy- styna RR (µg/mg s.m.)	Mikrocy- styna YR (µg/mg s.m.)
1	K	0,000	1420	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	300	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	550	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1800	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	1360	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	330	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	400	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1620	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.1.5. Wpływ stężenia azotu na rozwój *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205)

Wyniki wzrostu liczebności szczepu *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) uzyskanego z Regionalnego Centrum Sinicowego w Gdyni były proporcjonalne do stężenia NaNO_3 w pożywce (załącznik 9 i 10). Przy braku azotu rozwój tego szczepu był wyraźnie zahamowany po pierwszych dniach hodowli (ryc. 16 i 17). Końcowa liczebność po tygodniu hodowli była niższa od wyjściowej.



Ryc. 16. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 1)



Ryc. 17. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 2)

Badany szczep *Microcystis aeruginosa* nie produkował toksyn w żadnej próbce (tabela 95 i 96).

Tabela 95. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) po zakończeniu testu

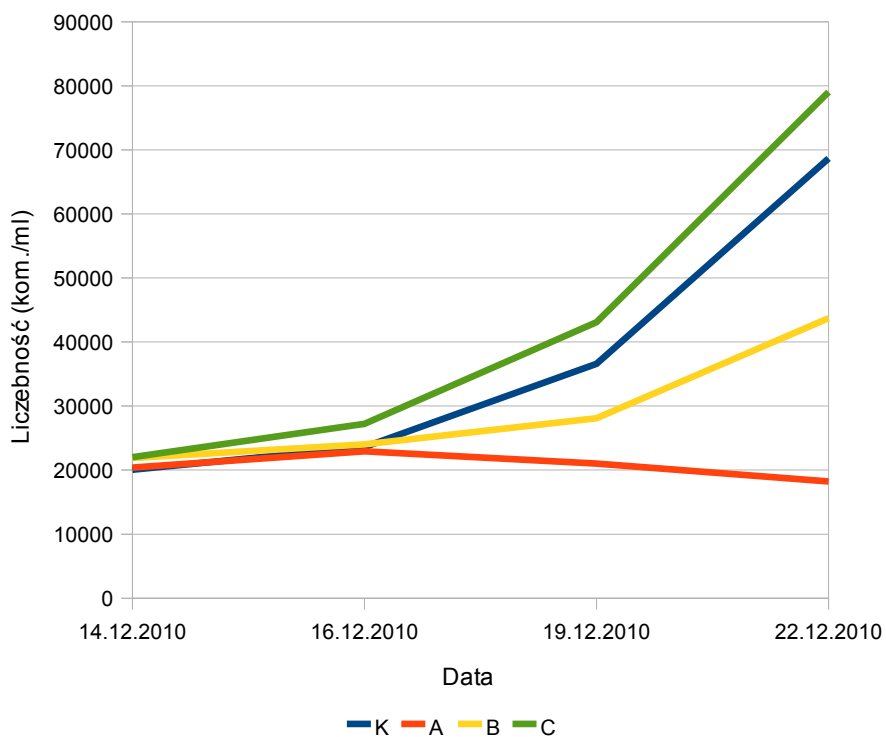
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 96. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) po zakończeniu testu

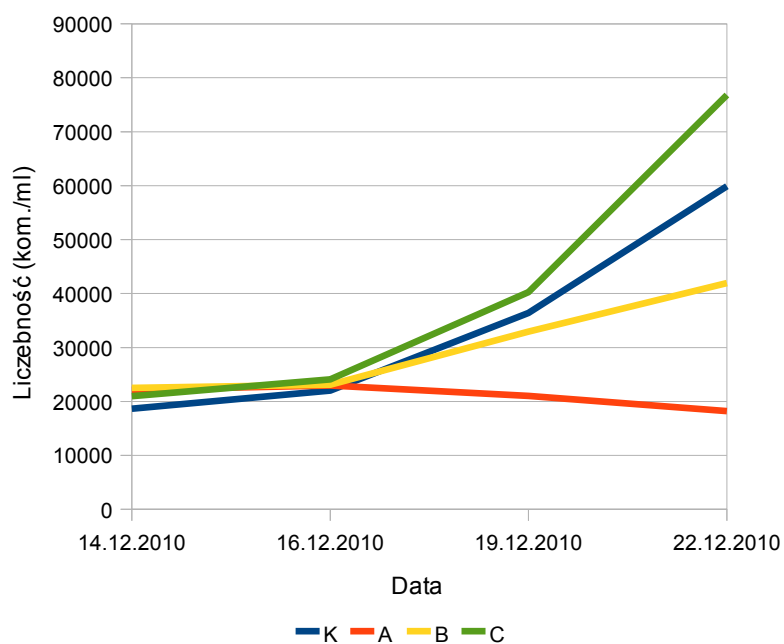
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{gm/g s.m.}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.1.6. Wpływ stężenia azotu na rozwój *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10)

Wzrost liczebności *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) był proporcjonalny do stężenia azotu w pożywce, w pożywce bez NaNO_3 rozwój sinicy był wyraźnie ograniczony (ryc. 18 i 19, załącznik 11 i 12).



Ryc. 18. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 1)



Ryc. 19. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 2)

Microcystis aeruginosa produkowała toksyny we wszystkich próbach, osiągając najwyższe stężenie w próbie z największą ilością azotu. W próbie bez azotu produkcja toksyn była wyraźnie niższa (tabela 97 i 98), wynosząc jedynie $0,010 \mu\text{g l}^{-1}$. Zarówno w przesączu,

jak i w biomacie sinic, wykryto tylko mikrocytynę LR.

Tabela 97. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) po zakończeniu testu

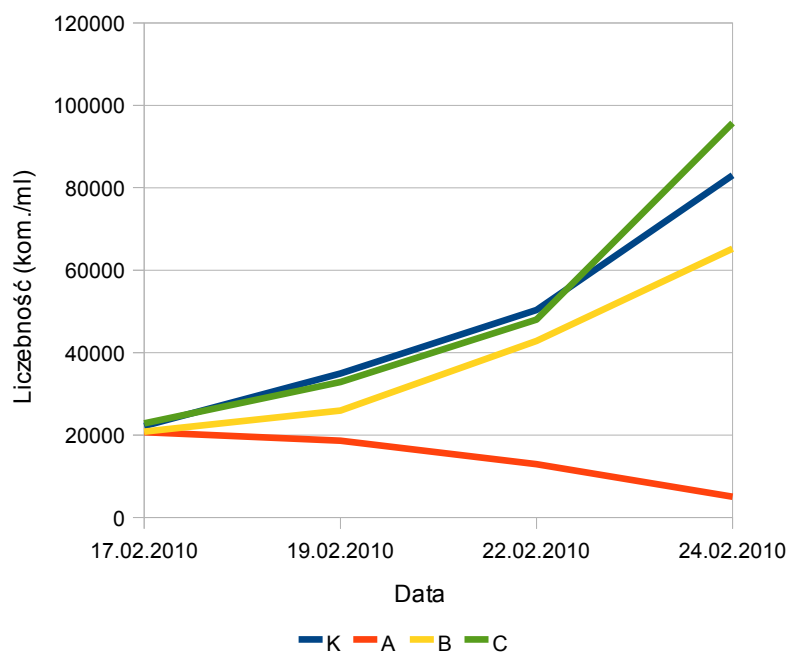
Seria	Prób a	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,200	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,180	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,230	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,120	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,170	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,210	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 98. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) po zakończeniu testu

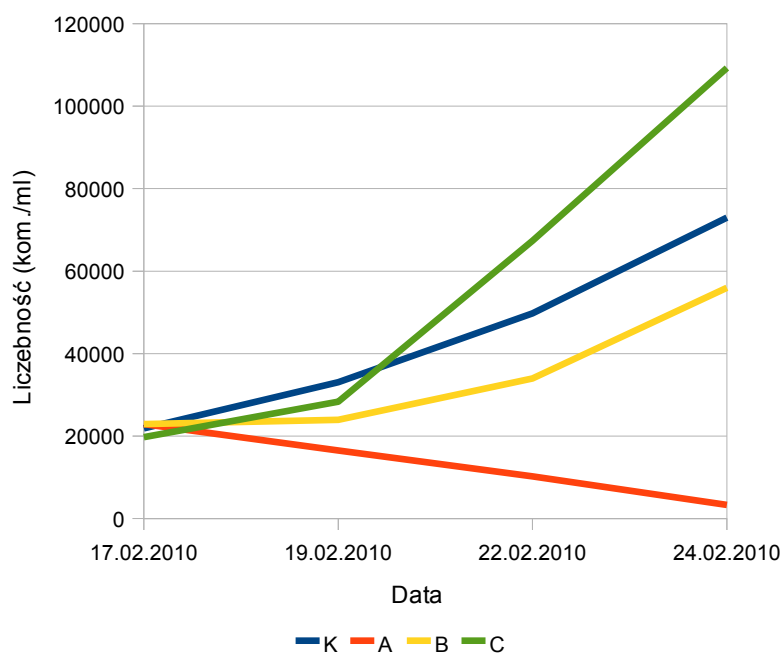
Seria	Prób a	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	1210	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	300	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	1100	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1500	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	1300	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	220	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	1320	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1600	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.1.7. Wpływ stężenia azotu na rozwój szczepu *Planktothrix agardhi* wyizolowanego z kąpieliska

Brak NaNO_3 w pożywce spowodował silne zahamowanie wzrostu liczebności sinicy *Planktothrix agardhi*. W próbach zawierających azot sinica rozwijała się stosunkowo dobrze we wszystkich stężeniach (załącznik 13 i 14). W przypadku próby kontrolnej oraz zawierającej dwukrotnie wyższe stężenie azotu nie stwierdzono istotnej różnicy w liczebności (ryc. 20 i 21).



Ryc. 20. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)



Ryc. 21. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)

Planktothrix agardhi nie produkował badanych mikrocytyn, gdyż w żadnej z prób nie zostały one wykryte, zarówno w przesączu, jak i w biomacie sinic (tabela 99, 100).

Tabela 99. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

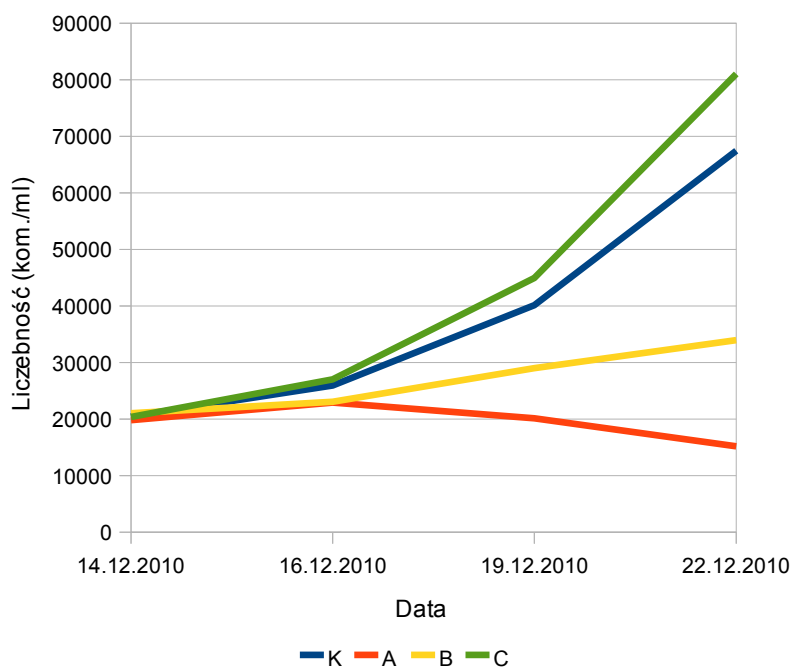
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 100. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

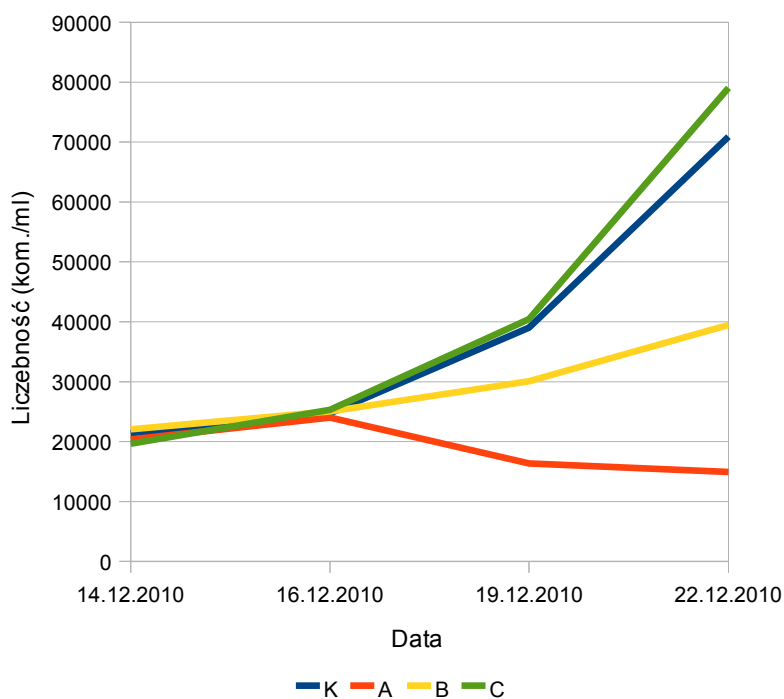
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.1.8. Wpływ stężenia azotu na rozwój *Planktothrix agardhi* CCNP1303

Szczep *Planktothrix agardhi* CCNP1303 uzyskany z Regionalnego Centrum Sinicowego rozwijał się w tempie proporcjonalnym do zawartości azotu w pożywce (ryc. 22 i 23, załącznik 15 i 16).



Ryc. 22. Liczebność *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria1)



Ryc. 23. Liczebność *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria2)

Omawiany szczep *Planktothrix agardhi* produkował mikrocytynę-LR we wszystkich testowanych stężeniach azotu. Najniższe stężenie toksyn stwierdzono w hodowlach na pożywce pozbawionej NaNO_3 . W pozostałych próbach w przesączu po zakończeniu hodowli

uzyskane wartości były zbliżone, z niewielką przewagą ilości toksyn w pożywce zawierającej najwięcej azotu lub w próbie kontrolnej (tabela 101 I 102). W suchej masie sinic stężenie toksyn rosło wraz ze wzrostem ilości użytego azotu, osiągając najwyższe wartości w próbie C, zawierającej największą jego ilość.

Tabela 101. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi* CCNP1303 po zakończeniu testu

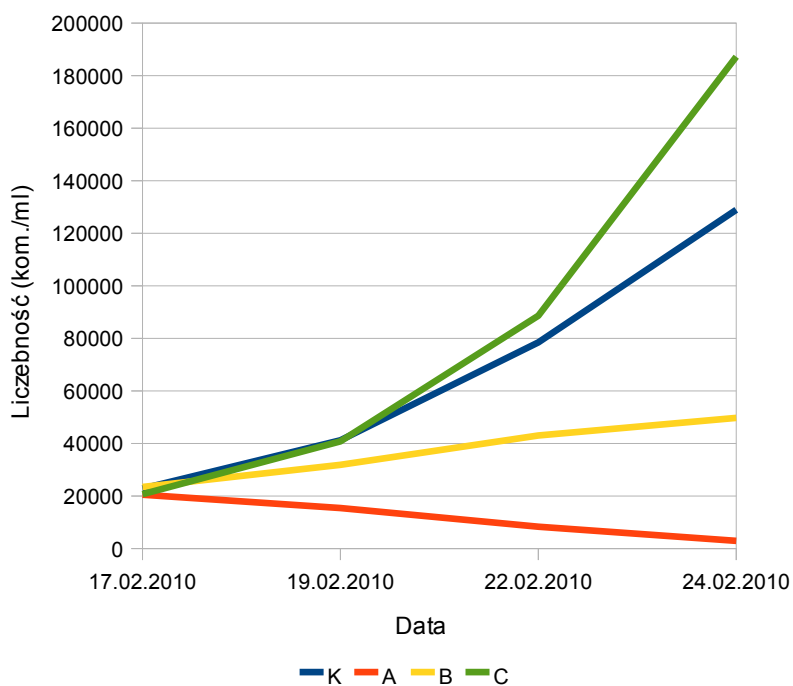
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,340	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,300	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,320	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,320	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,260	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,370	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 102. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* CCNP1303 po zakończeniu testu

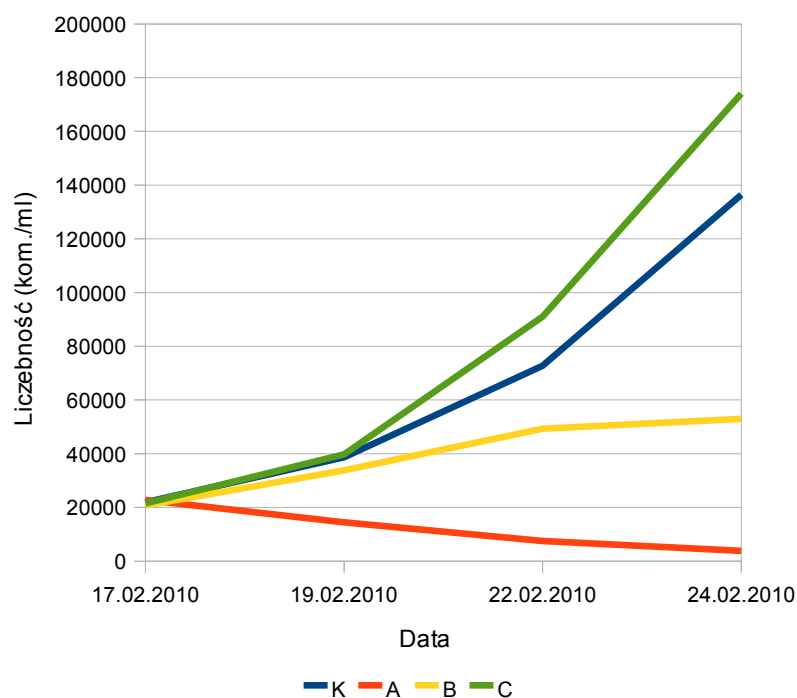
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	1200	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	200	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	1100	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1530	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	1030	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	120	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	900	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1400	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.1.9. Wpływ stężenia azotu na rozwój *Synechocystis* sp.

Wzrost liczebności sinicy *Synechocystis* sp. był wyraźnie zahamowany w próbie bez zawartości azotu (załącznik 17 i 18). Maksymalną liczebność sinica osiągnęła w próbie C, zawierającej najwyższe stężenia NaNO_3 (ryc. 24 i 25).



Ryc. 24. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)



Ryc. 25. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)

Synechocystis sp. nie produkowała badanych mikrocytyn. W żadnej z badanych prób nie stwierdzono ich obecności (tabela 103, 104).

Tabela 103. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocytyna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 104. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocytyna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocytyna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocytyna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocytyna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocytyna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocytyna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)

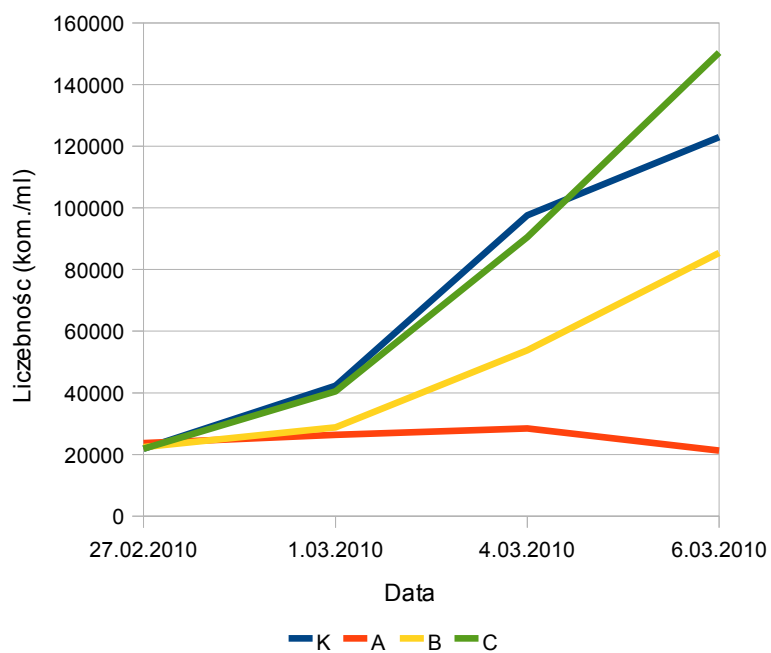
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.2. Wpływ stężenia fosforu na rozwój sinic

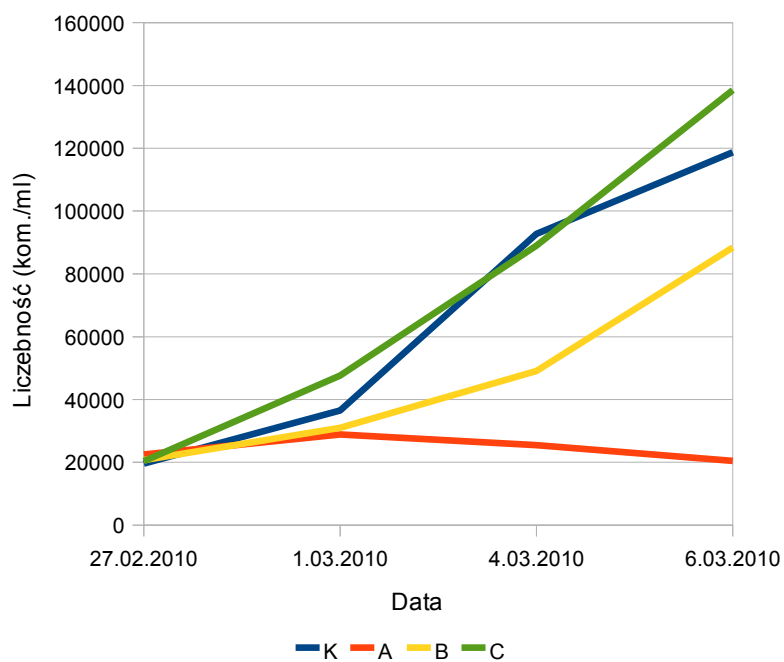
Wpływ fosforu na rozwój sinic testowano w następujących stężeniach: K – próba kontrolna – pożywka BG-11 zawierająca K_2HPO_4 w ilości 3,05 g/l, A – brak fosforu, B – 1,525 g/l K_2HPO_4 , C – 6,10 g/l K_2HPO_4 .

4.3.2.1. Wpływ stężenia fosforu na rozwój *Aphanizomenon gracile*

Wzrost stężenia fosforu w poszczególnych próbach powodował zwiększenie liczebności oraz tempa wzrostu sinicy *A. gracile* (załącznik 19 i 20). W próbie bez fosforu sinica nie zwiększyła swojej liczebności (ryc. 26 i 27).



Ryc. 26. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)



Ryc. 27. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)

Aphanizomenon gracile nie produkował badanych mikrocytyn w żadnej próbie, gdyż nie stwierdzono ich obecności ani w przesączu ani w biomacie sinic (tabela 105,106).

Tabela 105. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

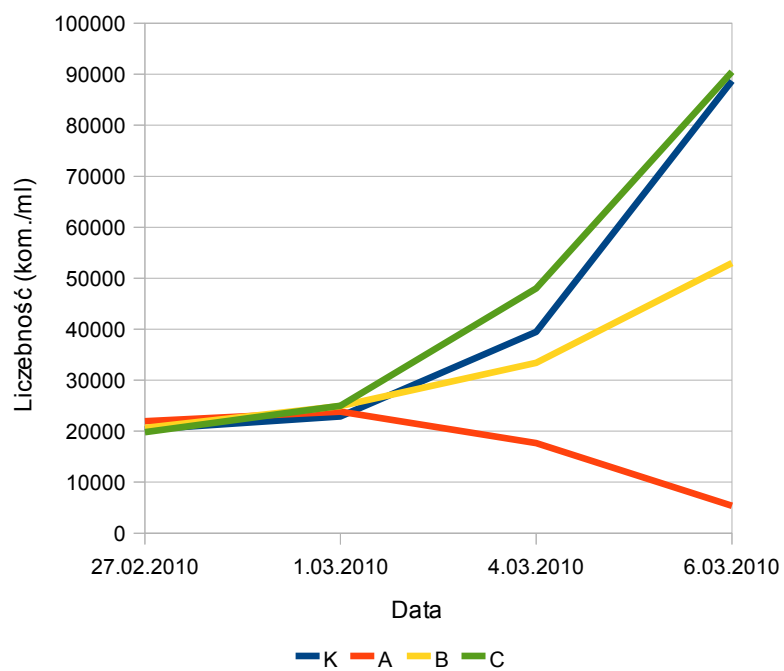
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 106. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

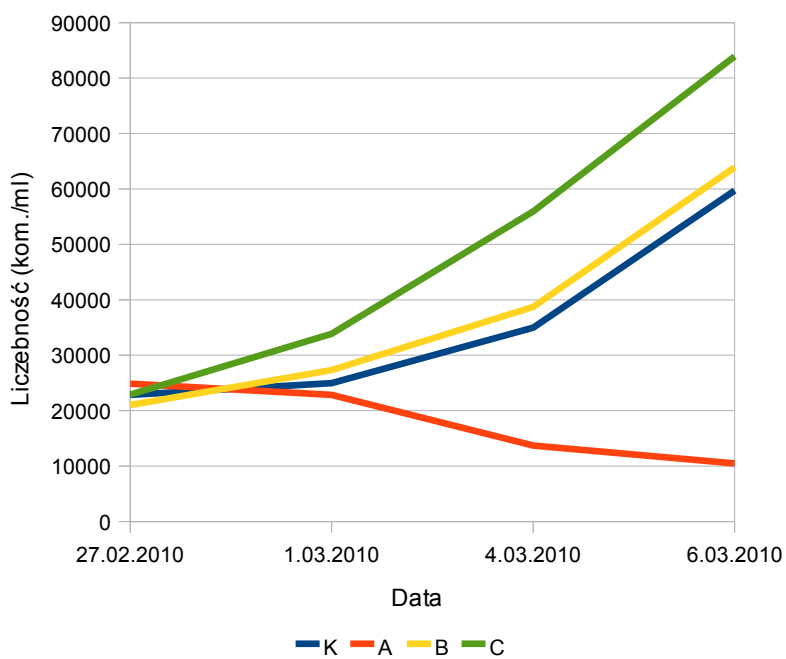
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.2.2. Wpływ stężenia fosforu na rozwój *Calothrix desertica*

Wzrost *Calothrix desertica* był wyraźnie zahamowany w próbie bez fosforu (załącznik 21 i 22). Maksymalną liczebność sinica uzyskała w próbie C – zawierającej najwyższe stężenie fosforu (ryc. 28 i 29).



Ryc. 28. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)



Ryc. 29. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)

Calothrix desertica nie produkowała badanych mikrocytyn we wszystkich próbach (tabela 107, 108).

Tabela 107. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

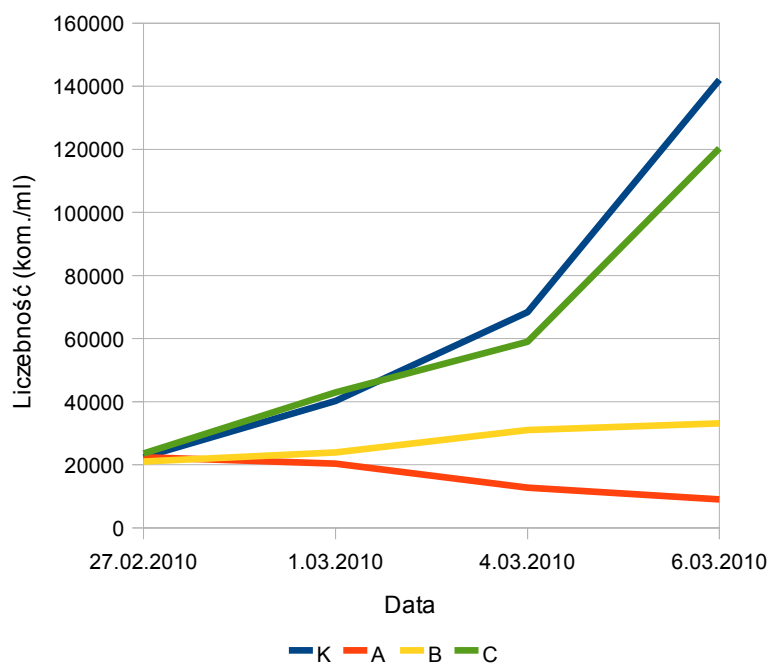
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 108. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

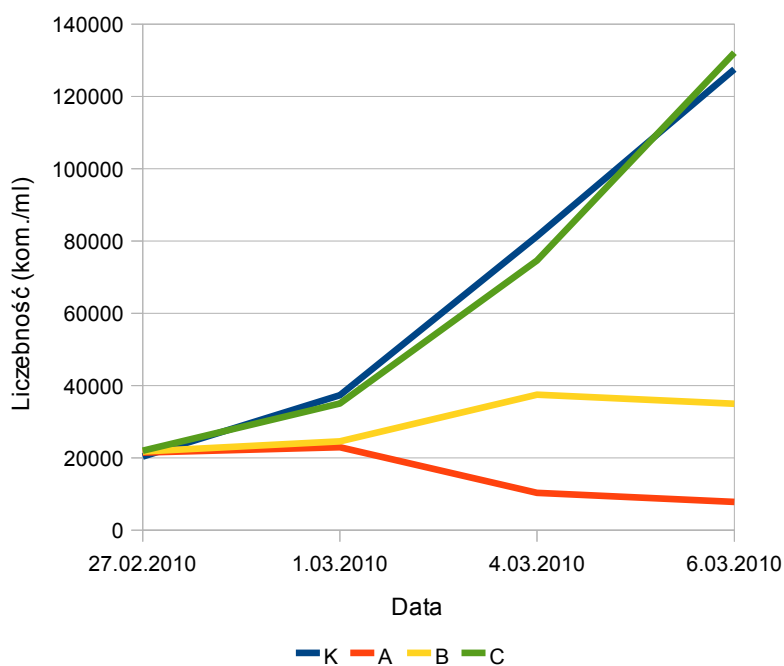
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.2.3. Wpływ stężenia fosforu na rozwój *Merismopedia glauca*

Sinica *Merismopedia glauca* nie rozwijała się w próbie bez fosforu, uzyskała również stosunkowo niską liczebność w próbie z najmniejszym stężeniem fosforu (załącznik 23 i 24). Wyniki uzyskane w testach K oraz C wykazały niewielką różnicą w liczebnościach sinicy, co wskazuje na optymalne dla tego gatunku stężenie fosforu, przyjętego w pożywce BG-11 (ryc. 30 i 31).



Ryc. 30. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)



Ryc. 31. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)

Merismopedia glauca nie produkowała badanych mikrocystyn, gdyż nie stwierdzono jej obecności w żadnej z prób (tabela 109, 110).

Tabela 109. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

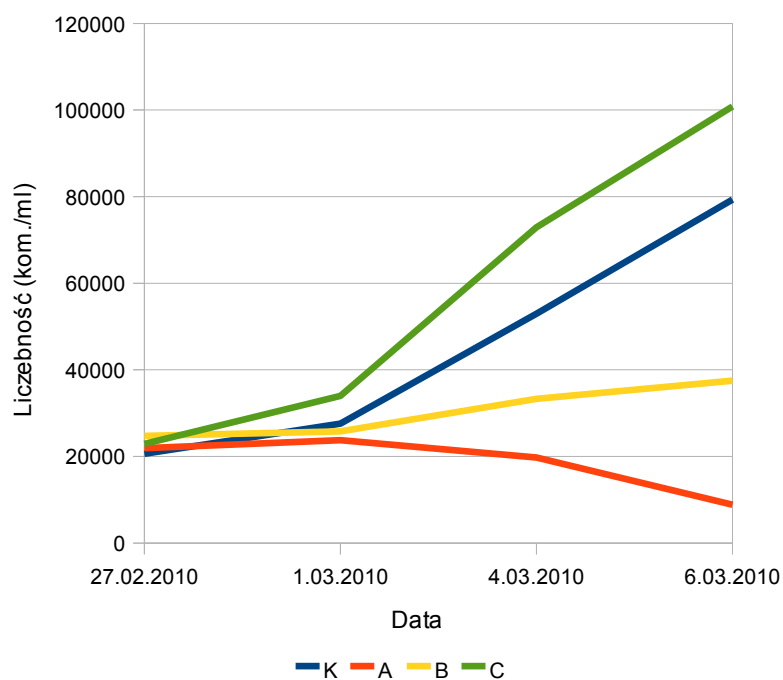
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 110. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

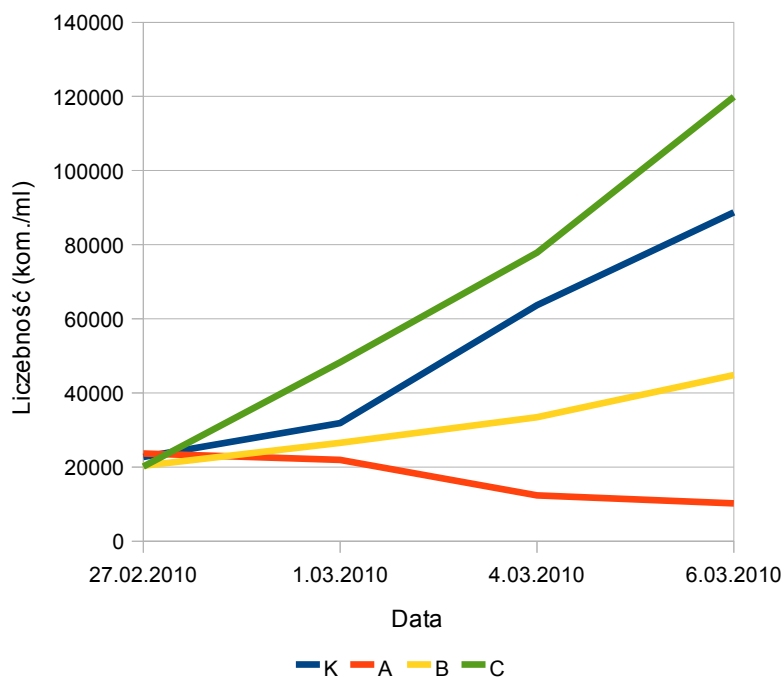
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.2.4. Wpływ stężenia fosforu na rozwój *Microcystis aeruginosa*

Wzrost liczebności szczepu sinicy *Microcystis aeruginosa* wyizolowanego z jeziora Malta nie był zauważalny w próbach bez fosforu (załącznik 25 i 26). Jej liczebność w kolejnych dniach testu wyraźnie zmniejszała się. Największą liczebność odnotowano w próbach z najwyższym stężeniem fosforu (ryc. 32 i 33).



Ryc. 32. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)



Ryc. 33. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)

Microcystis aeruginosa produkowała mikrocytynę-LR w próbach ze wszystkimi stężeniami fosforu. Ilość tej toksyny wzrastała wraz ze stężeniem testowanego pierwiastka (tabela 111, 112). Pozostałych badanych mikrocytyn nie wykryto, zarówno w przesączu, jak i w biomacie sinic.

Tabela 111. Stężenie toksyn sinicowych z przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

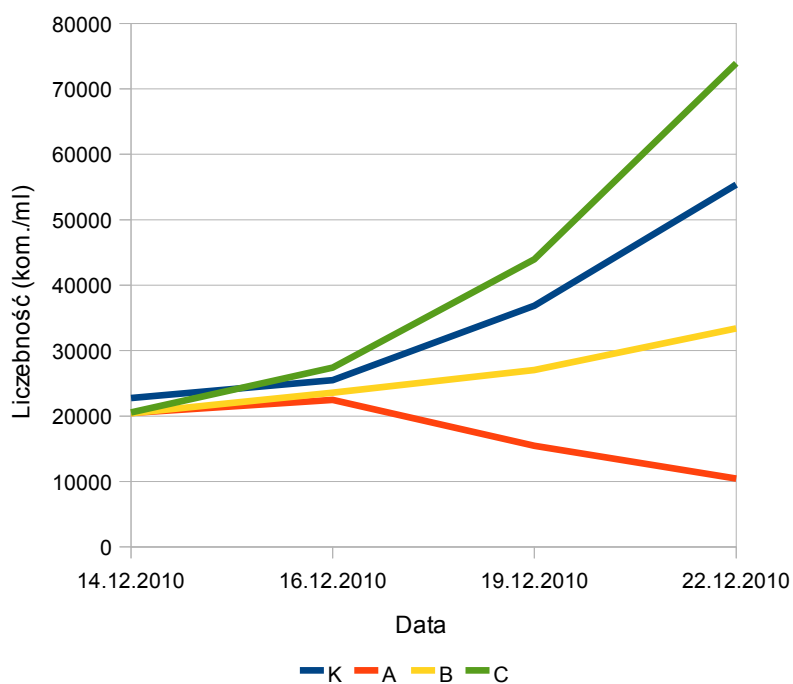
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,280	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,200	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,250	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,360	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,270	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,220	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,400	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 112. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

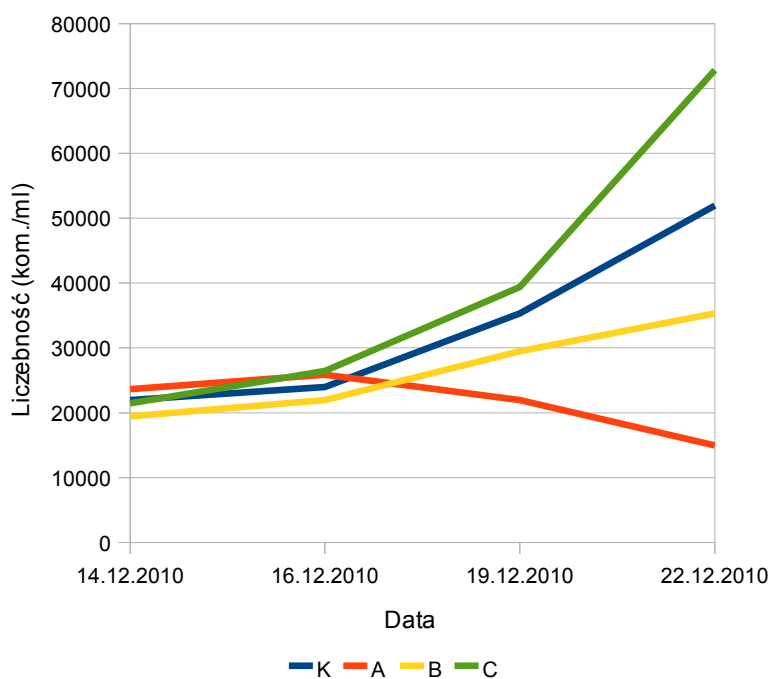
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	300	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	40	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	310	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	560	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	350	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	10	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	250	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	470	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.2.5. Wpływ stężenia fosforu na rozwój *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205)

Wzrost liczebności szczepu sinicy *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) uzyskanej z Regionalnego Centrum Sinicowego był proporcjonalny do zawartości fosforu w pożywce (załącznik 27 i 28). W pożywce bez azotu sinica po zakończeniu testy osiągnęła mniejszą liczebność niż w próbie wyjściowej (ryc. 34 i 35).



Ryc. 34. Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria1)



Ryc. 35. Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria2)

Microcystis aeruginosa nie produkowała mikrocytyn, gdyż w żadnej z badanych prób nie stwierdzono badanych hepatotoksyn (tabela 113 i 114).

Tabela 113. Stężenie toksyn sinicowych z przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) po zakończeniu testu

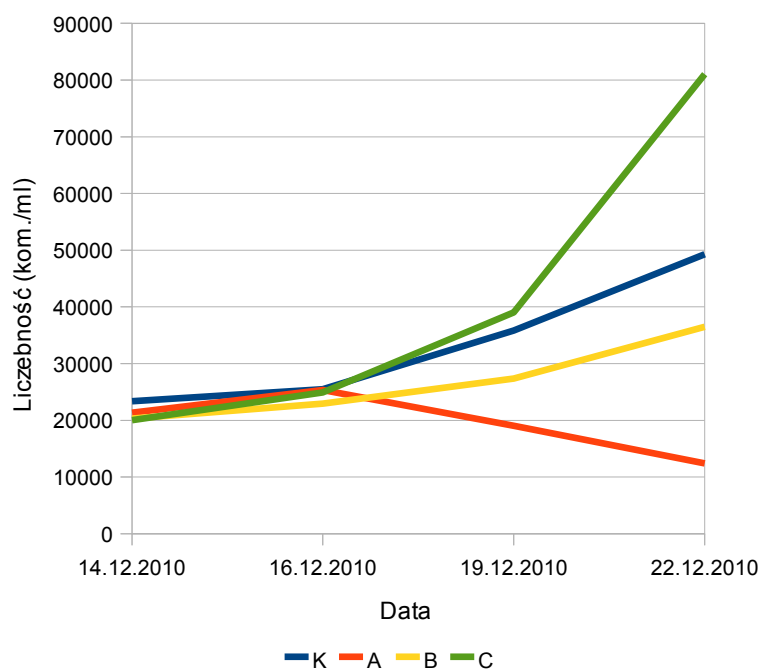
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 114. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) po zakończeniu testu

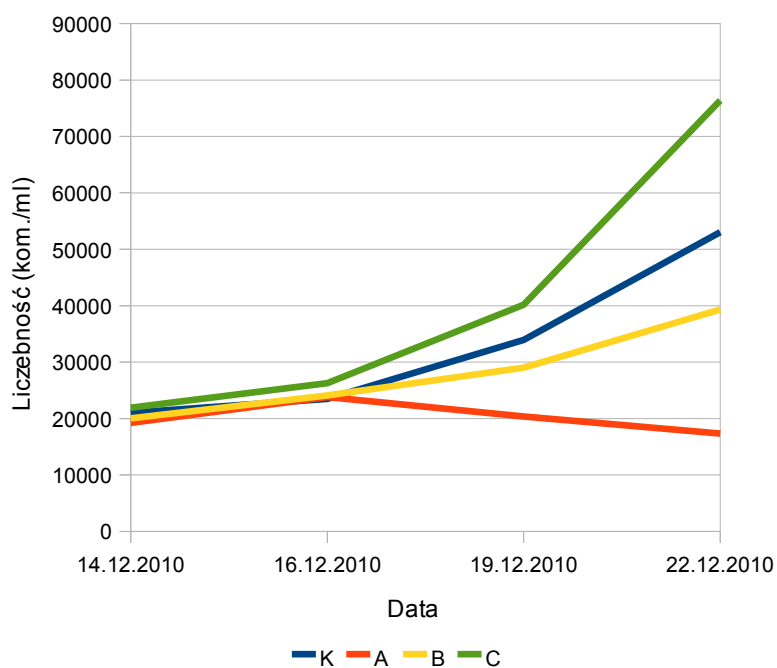
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.2.6. Wpływ stężenia fosforu na rozwój *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10)

Największą liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) odnotowano w próbach z najwyższym stężeniem fosforu. W próbie bez fosforu wzrost jej liczebności był wyraźnie ograniczony po pierwszych dwóch dniach trwania testu (załącznik 29 i 30, ryc. 36 i 37), a końcowa liczebność organizmów była wyraźnie mniejsza od początkowej.



Ryc. 36. Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 1)



Ryc. 37. Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 2)

Microcystis aeruginosa produkowała mikrocytynę-LR przy wszystkich badanych stężeniach fosforu. Ilość toksyn wzrastała wraz ze stężeniem testowanego pierwiastka, zarówno w przesączu, jak i w biomacie sinic po zakończonym doświadczeniu (tabela 115 i 116).

Tabela 115. Stężenie toksyn sinicowych z przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) po zakończeniu testu

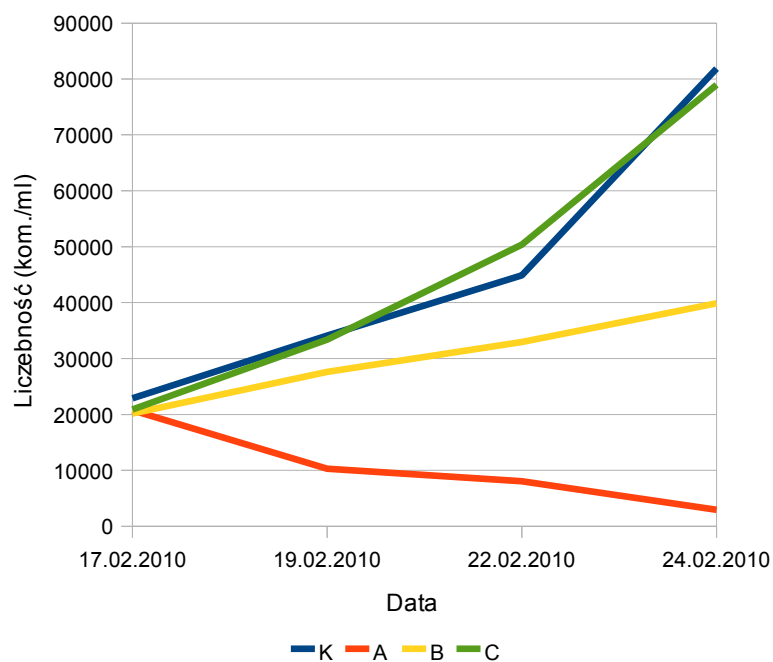
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,150	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,180	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,130	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,060	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,160	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 116. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) po zakończeniu testu

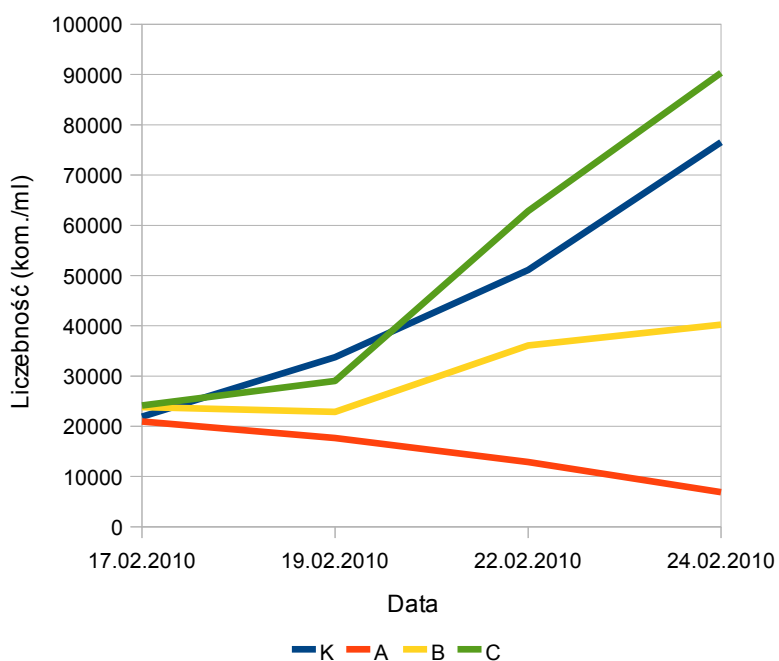
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	1100	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	200	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	440	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1890	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	1480	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	160	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	420	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1600	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.2.7. Wpływ stężenia fosforu na rozwój *Planktothrix agardhi*

Szczep *Planktothrix agardhi* uzyskał największą liczebność w próbie kontrolnej w serii pierwszej, choć jej liczebność była podobna w próbie z najwyższą zawartością fosforu. W serii drugiej największą liczebność uzyskano w próbie z najwyższym stężeniem fosforu (załącznik 31 i 32). W próbie bez fosforu sinica się nie rozwijała, wyraźnie zmniejszając swą liczebność w trakcie trwania testu (ryc. 38 i 39).



Ryc. 38. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)



Ryc. 39. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)

Planktothrix agardhi nie produkowała badanych mikrocystyn. Nie stwierdzono ich obecności w żadnej z prób (tabela 117, 118).

Tabela 117. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

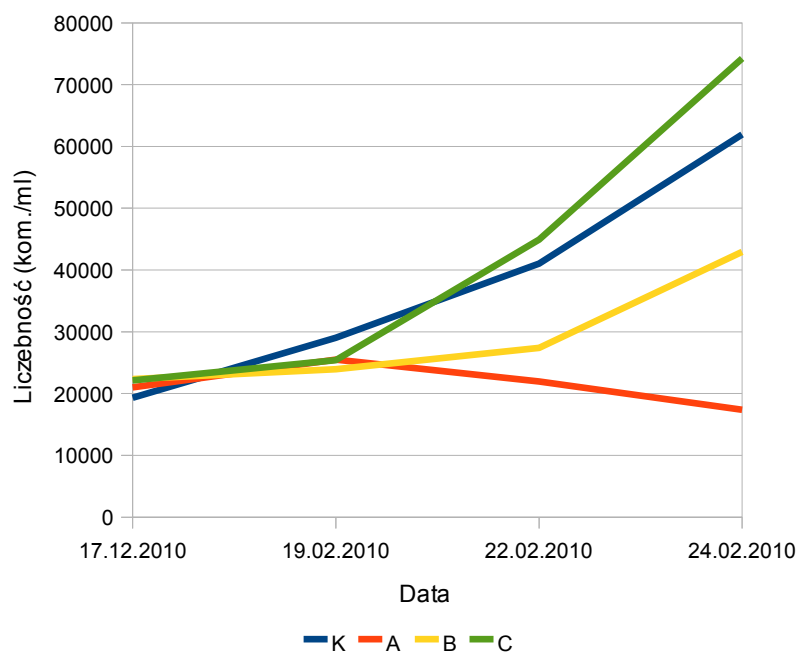
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 118. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

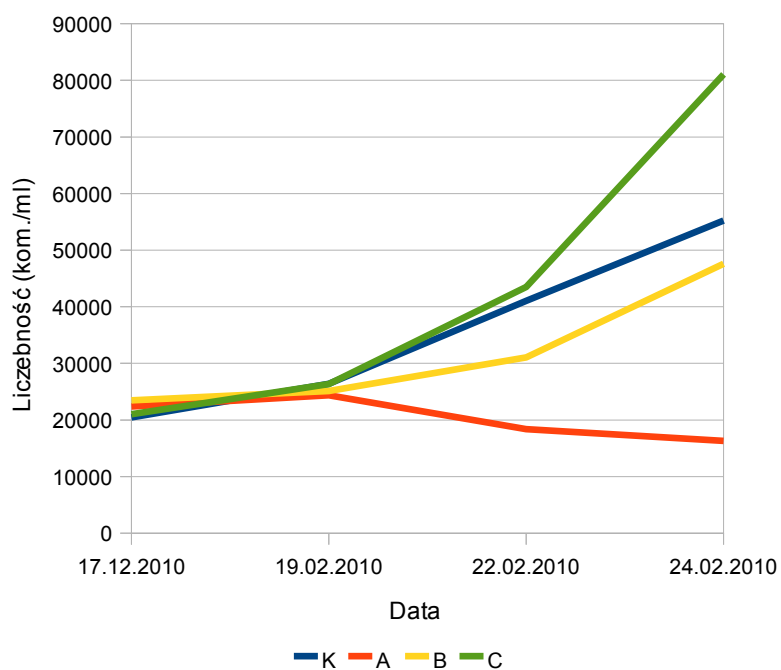
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.2.8. Wpływ stężenia fosforu na rozwój *Planktothrix agardhi* CCNP1303

Omawiany szczep *Planktothrix agardhi* otrzymany z Regionalnego Centrum Sinicowego uzyskał największą liczebność w próbie C (zawierającej najwięcej fosforu) w obu seriach. W próbie bez fosforu sinica się nie rozwijała, zmniejszając swą liczebność od drugiego dnia trwania testu (ryc. 40 i 41, załącznik 33 i 34).



Ryc. 40. Liczebność *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 1)



Ryc. 41. Liczebność *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 2)

Planktothrix agardhi produkował mikrocyistyny w niewielkim zakresie stężeń, jednak ich produkcja była uzależniona od stężenia fosforu w pożywce (tabela 119 i 120). W pożywce bez fosforu produkcja toksyn była ograniczona.

Tabela 119. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi*

CCNP1303 po zakończeniu testu

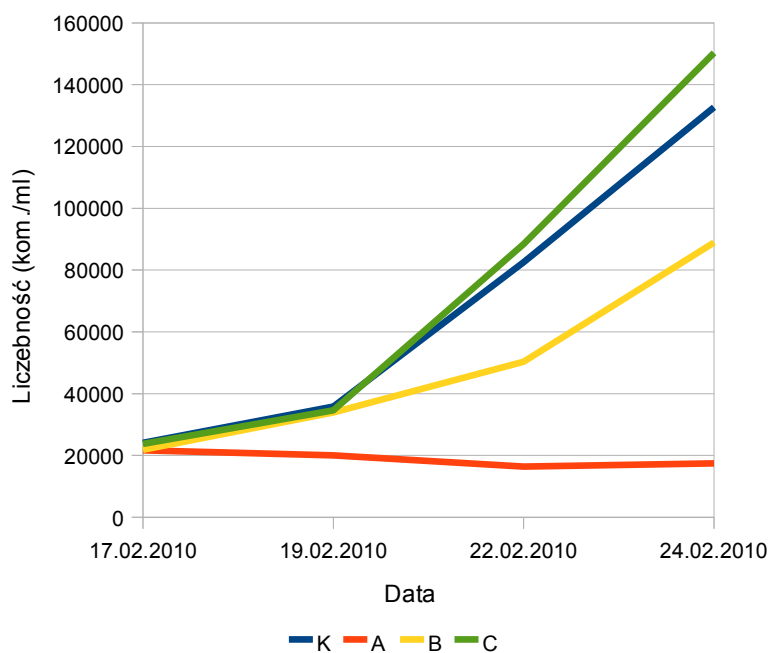
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,220	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,200	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,250	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,200	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,200	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,270	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 120. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* CCNP1303 po zakończeniu testu

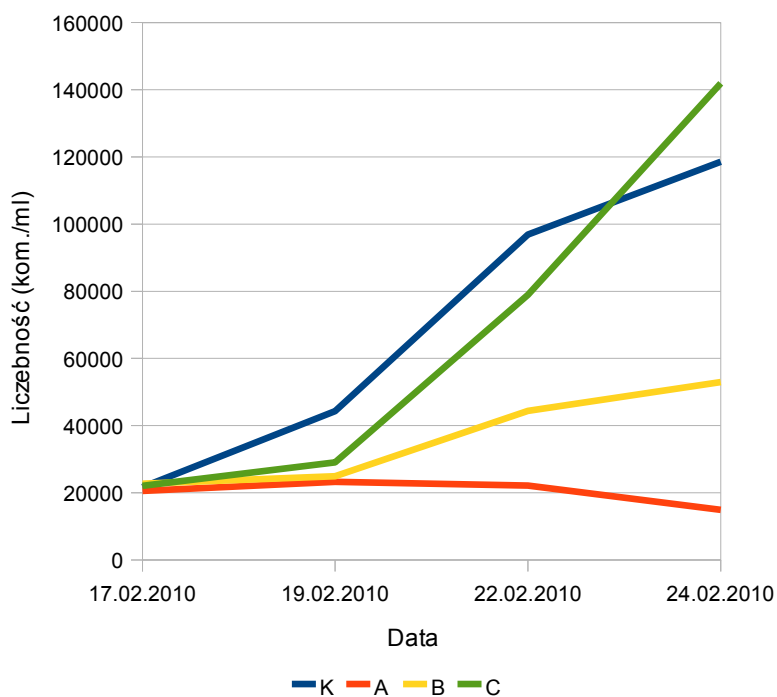
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	1100	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	600	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	1120	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1680	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	1090	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	560	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	880	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1390	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.2.9. Wpływ stężenia fosforu na rozwój *Synechocystis* sp.

Wzrost liczebności *Synechocystis* sp. był proporcjonalny do wzrostu stężenia fosforu w poszczególnych próbach (załącznik 35 i 36, ryc. 42 i 43).



Ryc. 42. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)



Ryc. 43. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)

Synechocystis sp. nie produkował badanych mikrocytyn we wszystkich próbach (tabela 121, 122) obydwu serii badań.

Tabela 121. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 122. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

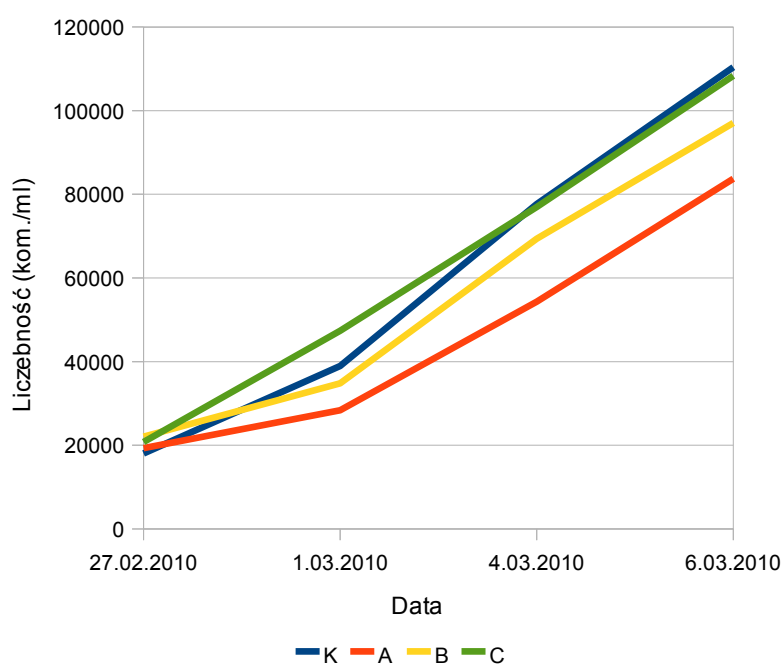
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.3. Wpływ stężenia żelaza na rozwój sinic i produkcję toksyn

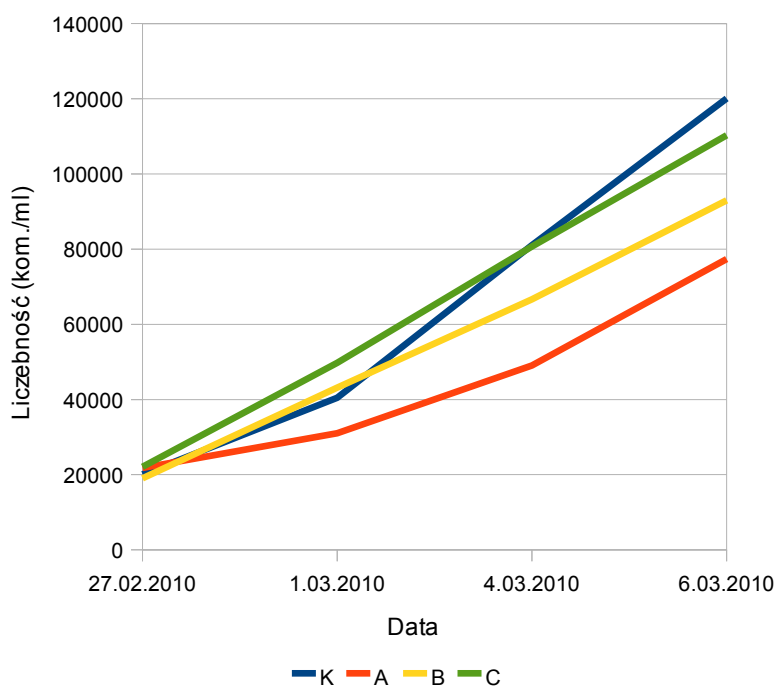
Wpływ żelaza na rozwój sinic testowano w następujących stężeniach cytrynianu amonowo żelazowego z kwasem cytrynowym w pożywce BG-11: K (próba kontrolna) – 0,006 g/l, A – 0 g/l, B – 0,003 g/l, C – 0,012 g/l.

4.3.3.1. Wpływ stężenia żelaza na rozwój *Aphanizomenon gracile*

Sinica *Aphanizomenon gracile* w pierwszych dniach rozwijała się intensywnie we wszystkich testowanych stężeniach żelaza. Największą liczebność po zakończeniu testu sinica uzyskała w pożywce kontrolnej (załącznik 37 i 38, ryc. 44 i 45). Minimalnie mniejszą liczebność odnotowano przy najwyższym stężeniu żelaza. W pożywce bez cytrynianu amonowo żelazowego i kwasu cytrynowego *A. gracile* rozwijała się stosunkowo dobrze, uzyskując na zakończenie testu w obu seriach ok. 80 tys. kom. w 1ml wody.



Ryc. 44. Liczebność *Aphanizomenon gracile* (seria 1)



Ryc. 45. Liczebność *Aphanizomenon gracile* (seria 2)

Aphanizomenon gracile nie produkował badanych mikrocytyn w żadnej z prób (tabela 123, 124).

Tabela 123. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu test

Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

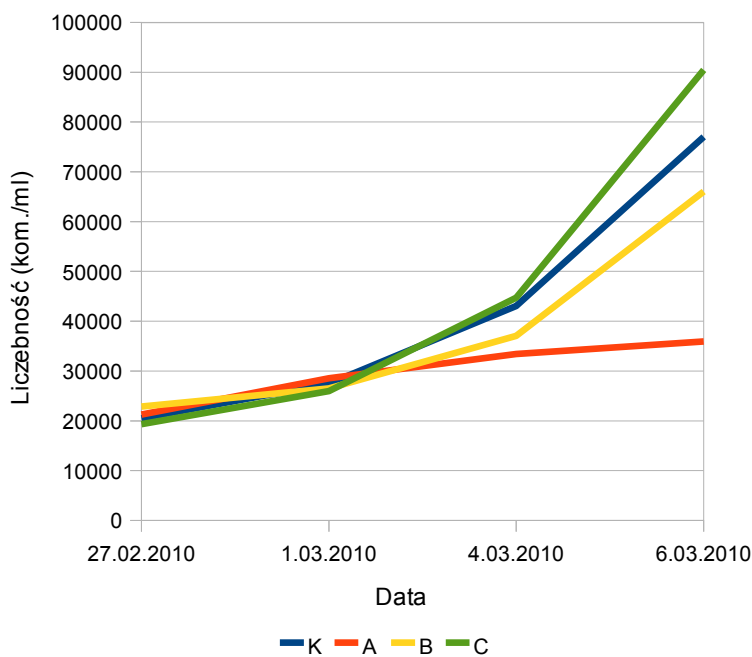
Tabela 124. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

Seria	Pró	Mikrocy-	Mikrocy-	Mikrocy-	Mikrocy-	Mikrocy-	Mikrocy-
-------	-----	----------	----------	----------	----------	----------	----------

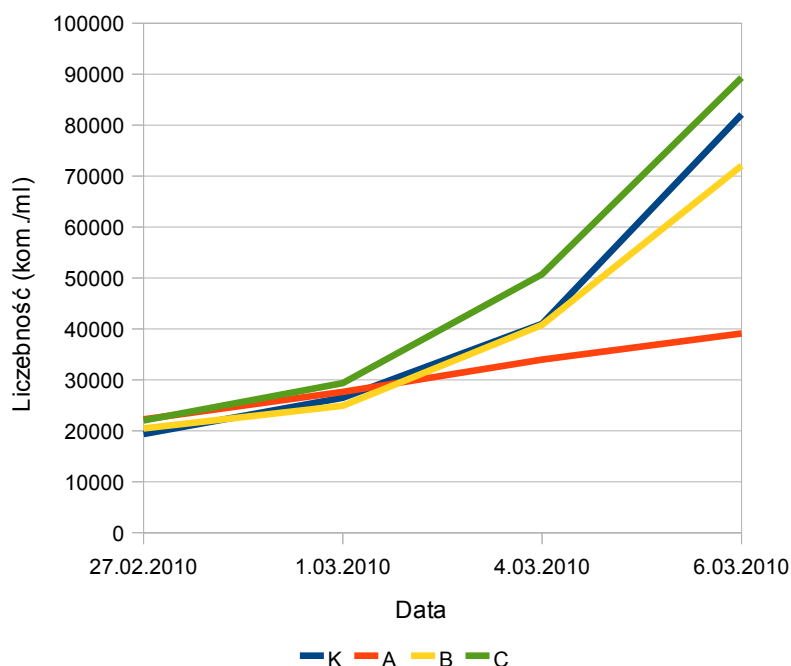
	ba	styna LF ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna LR ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna LW ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna LY ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna RR ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna YR ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.3.2. Wpływ stężenia żelaza na rozwój *Calothrix desertica*

Calothrix desertica osiągnęła maksymalną liczebność w próbie z najwyższym stężeniem żelaza. W pozostałych liczebność sinicy była wprost proporcjonalna do stężenia żelaza. W próbie bez badanych związków żelaza sinica rozwijała się najwolniej, po zakończeniu testu uzyskując liczebność dwukrotnie niższą niż w próbie kontrolnej (ryc. 46 i 47, załącznik 39 i 40).



Ryc. 46. Liczebność *Calothrix desertica* (seria 1)



Ryc. 47. Liczebność *Calothrix desertica* (seria 2)

Calothrix desertica nie produkowała badanych mikrocytyn we wszystkich próbach (tabela 125, 126).

Tabela 125. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocytyna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocytyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

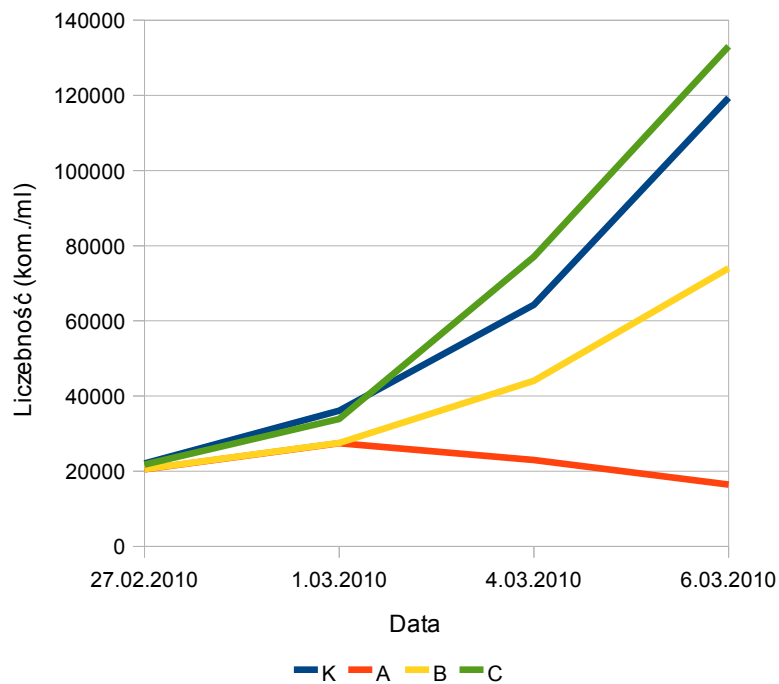
Tabela 126. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocytyna LF ($\mu\text{g/mg}$)	Mikrocytyna LR ($\mu\text{g/mg}$)	Mikrocytyna LW ($\mu\text{g/mg}$)	Mikrocytyna LY ($\mu\text{g/mg}$)	Mikrocytyna RR ($\mu\text{g/mg}$)	Mikrocytyna YR ($\mu\text{g/mg}$)

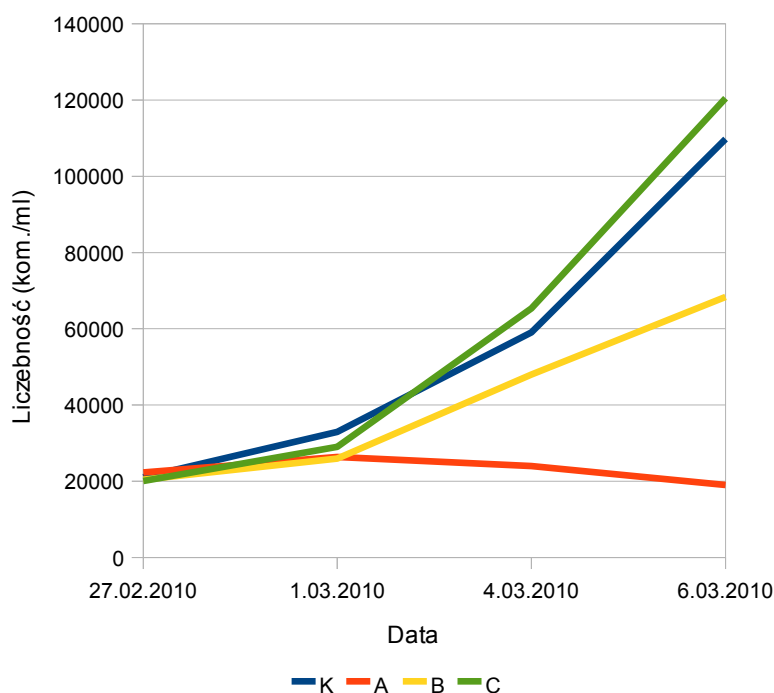
		s.m.)	s.m.)	s.m.)	s.m.)	s.m.)	s.m.)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.3.3. Wpływ stężenia żelaza na rozwój *Merismopedia glauca*

Merismopedia glauca rozwijała się najintensywniej w pożywce z najwyższym stężeniem żelaza. W próbie bez żelaza przez dwa dni testu zwiększała swoją liczebność, po czym w kolejnych dniach następowało zahamowanie jej rozwoju i zmniejszanie się liczebności (ryc. 48 i 49, załącznik 41 i 42).



Ryc. 48. Liczebność *Merismopedia glauca* (seria 1)



Ryc. 49. Liczebność *Merismopedia glauca* (seria 2)

Merismopedia glauca nie produkowała badanych mikrocytyn w żadnej z badanych prób (tabela 127, 128).

Tabela 127. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

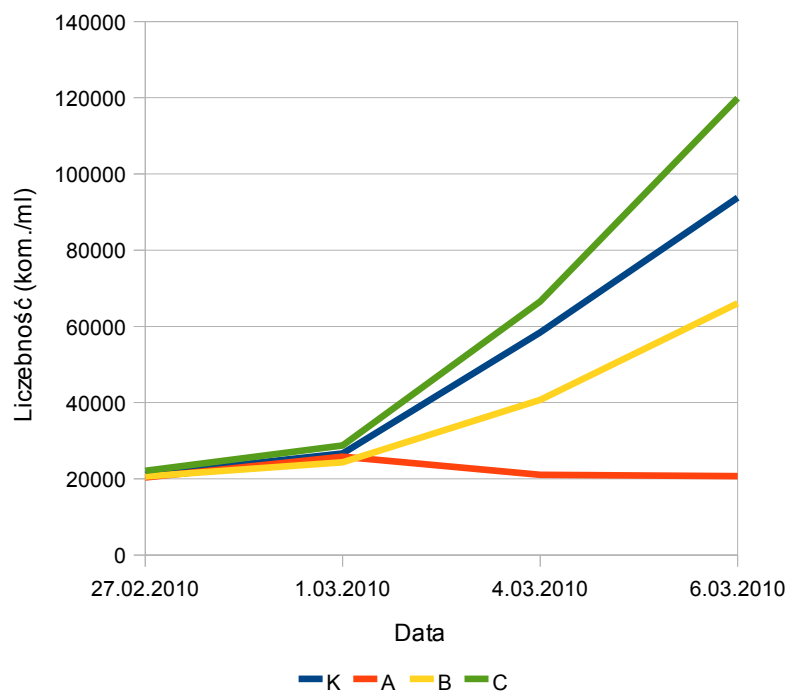
Tabela 128. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocy-	Mikrocy-	Mikrocy-	Mikrocy-	Mikrocy-	Mikrocy-
-------	-------	----------	----------	----------	----------	----------	----------

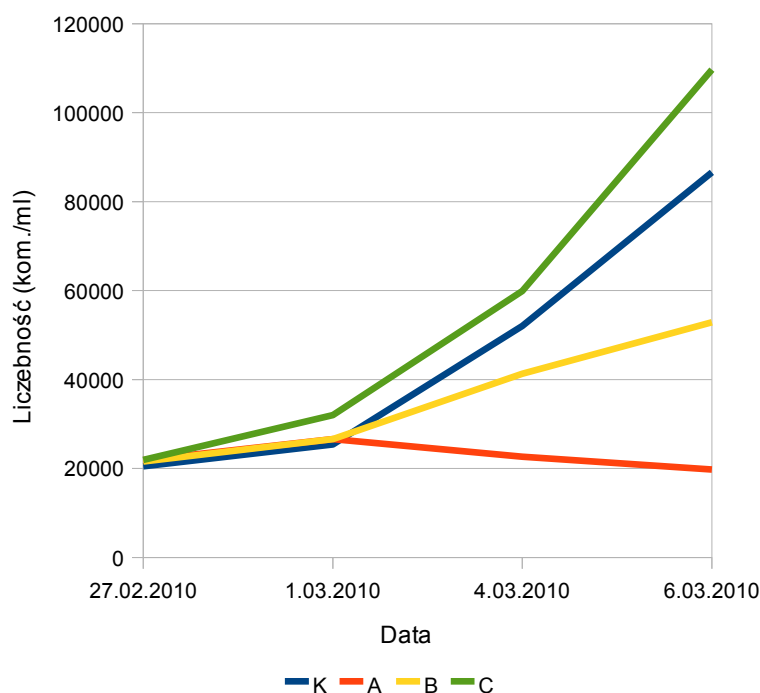
		styna LF ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna LR ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna LW ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna LY ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna RR ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	styna YR ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.3.4. Wpływ stężenia żelaza na rozwój *Microcystis aeruginosa*

Wyniki wzrostu liczebności *Microcystis aeruginosa* były proporcjonalne do stężenia żelaza w testowanych pożywkach (ryc. 50 i 51, załącznik 43 i 44).



Ryc. 50. Liczebność *Microcystis aeruginosa* (seria 1)



Ryc. 51. Liczebność *Microcystis aeruginosa* (seria 2)

Microcystis aeruginosa produkowała toksyny we wszystkich próbach, jednak w teście bez żelaza oraz z jego najniższym stężeniem wartości osiągnięte przez mikrocystynę-LR były zdecydowanie najniższe (tabela 129, 130). Pozostałe badane mikrocystyny nie były produkowane.

Tabela 129. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

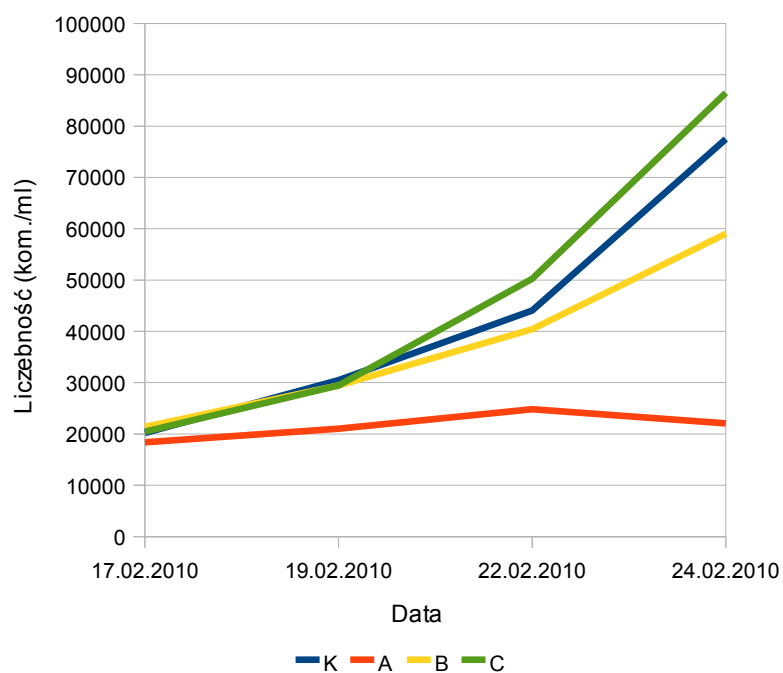
Seria	Próba	Mikrocystyna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,300	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,120	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,450	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,320	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,090	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,340	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 130. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

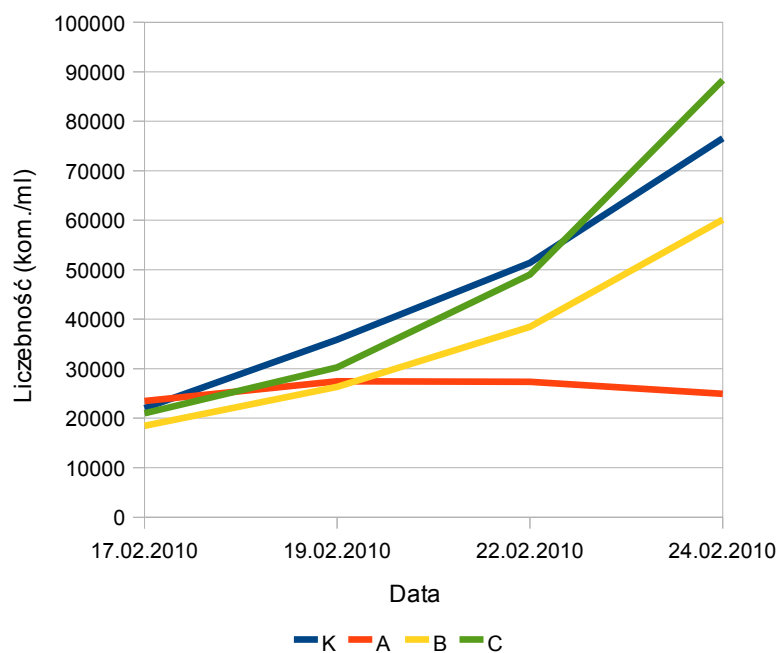
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g}/\text{mg}$ s.m.)
1	K	0,000	1040	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	220	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	670	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1200	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	1300	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	310	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	500	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1450	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.3.5. Wpływ stężenia żelaza na rozwój *Planktothrix agardhi*

Planktothrix agardhi rozwijała się najintensywniej przy najwyższym stężeniu żelaza, natomiast jej liczebność w tych próbach była tylko minimalnie większa w porównaniu do kontroli. W próbach bez testowanego żelaza początkowo obserwowano wolny rozwój *P. agardhi*, jednak począwszy od piątego dnia, a w przypadku serii drugiej już od drugiego dnia, następowało zahamowanie wzrostu liczebności sinicy (ryc. 52 i 53, załącznik 45 i 46).



Ryc. 52. Liczebność *Planktothrix agardhi* (seria 1)



Ryc. 53. Liczebność *Planktothrix agardhi* (seria 2)

Planktothrix agardhi nie produkowała badanych mikrocystyn w żadnej z badanych prób (tabela 131, 132).

Tabela 131. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

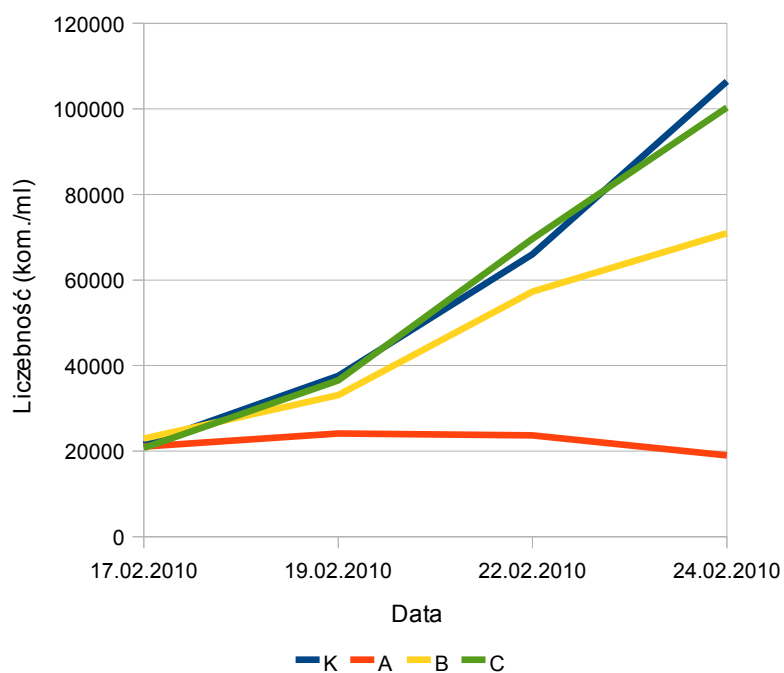
Seria	Próba	Mikrocystyna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 132. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

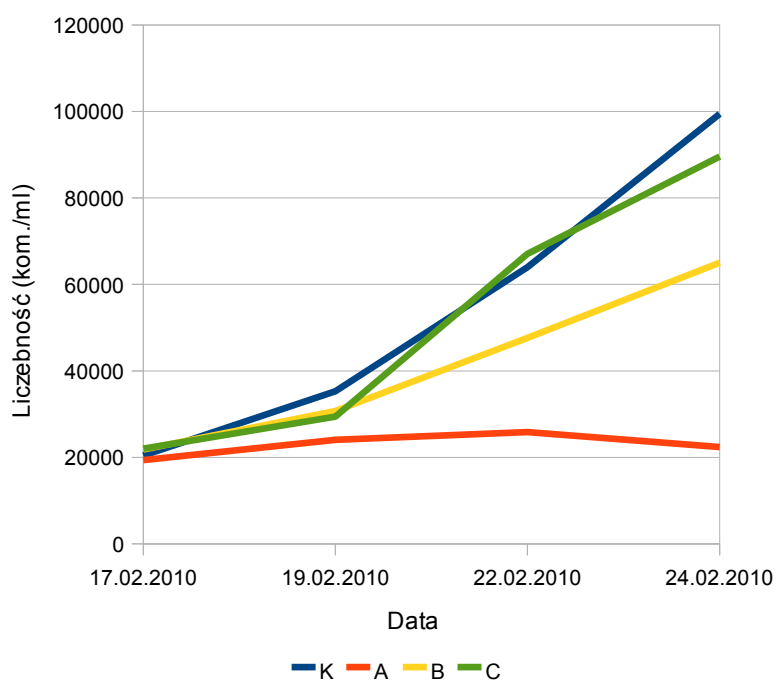
Seria	Próba	Mikrocystyna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocystyna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocystyna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocystyna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocystyna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocystyna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.3.6. Wpływ stężenia żelaza na rozwój *Synechocystis* sp.

Wzrost liczebności sinicy *Synechocystis* sp. był wyraźnie zahamowany w próbie bez zawartości żelaza. Maksymalną liczebność sinica osiągnęła w próbie kontrolnej. W próbie C z maksymalnym stężeniem żelaza rozwój sinicy był zbliżony do próby kontrolnej, choć liczebność była nieco mniejsza (ryc. 54 i 55, załącznik 47 i 48).



Ryc. 54. Liczebność *Synechocystis* sp. (seria 1)



Ryc. 55. Liczebność *Synechocystis* sp. (seria 2)

Synechocystis sp. nie produkowała badanych mikrocytyn w żadnej z badanych prób (tabela 133, 134).

Tabela 133. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocystyna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocystyna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 134. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

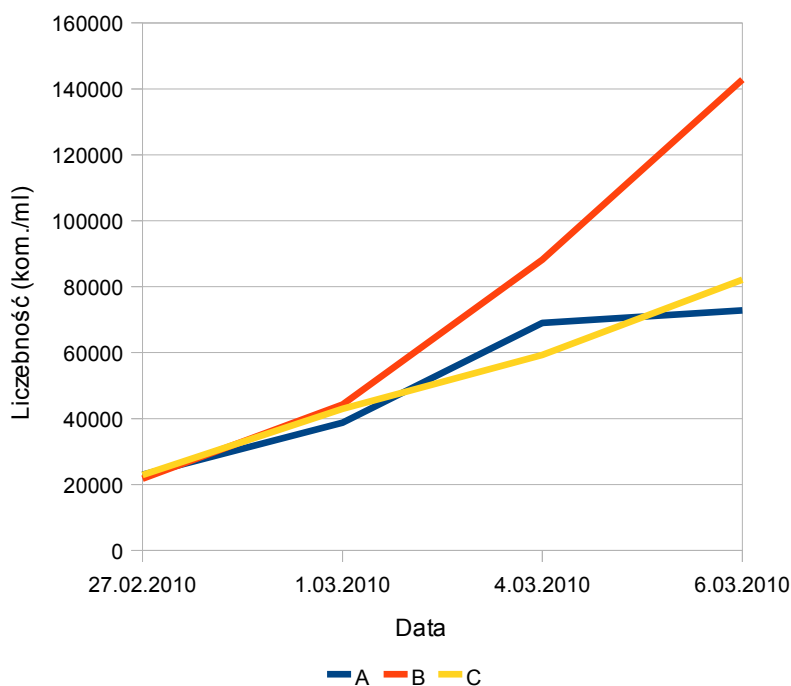
Seria	Próba	Mikrocystyna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocystyna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocystyna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocystyna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocystyna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocystyna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	K	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.4. Wpływ natężenia światła na rozwój sinic

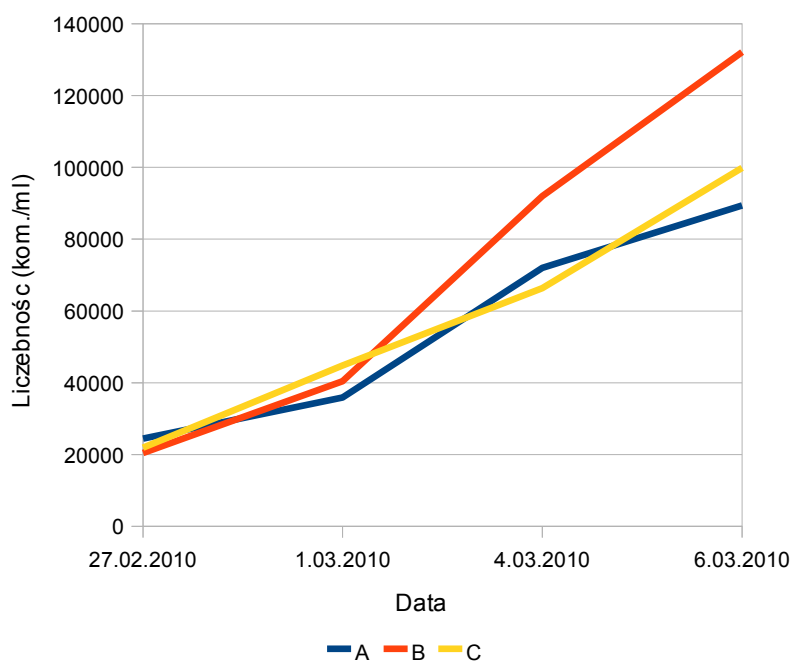
Wpływ natężenia światła na rozwój sinic testowano w następujących warunkach: **A** – $21 \mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$, **B** – $43 \mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$ **C** – $86 \mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

4.3.4.1. Wpływ natężenia światła na rozwój *Aphanizomenon gracile*

Sinica *Aphanizomenon gracile* rozwijała się najlepiej przy natężeniu światła $43 \mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$, wykorzystywanym jako standardowe w próbach kontrolnych innych testów (ryc. 56 i 57). W pozostałych natężeniach wzrost był lekko zahamowany (załącznik 49 i 50).



Ryc. 56. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)



Ryc. 57. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)

Aphanizomenon gracile nie produkował badanych mikrocystyn we wszystkich próbach, niezależnie od natężenia światła (tabela 135, 136).

Tabela 135. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

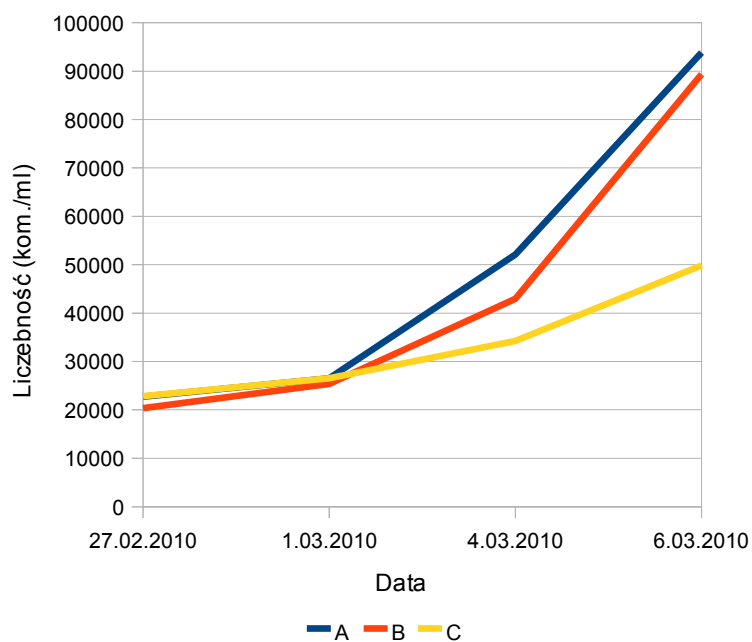
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 136. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

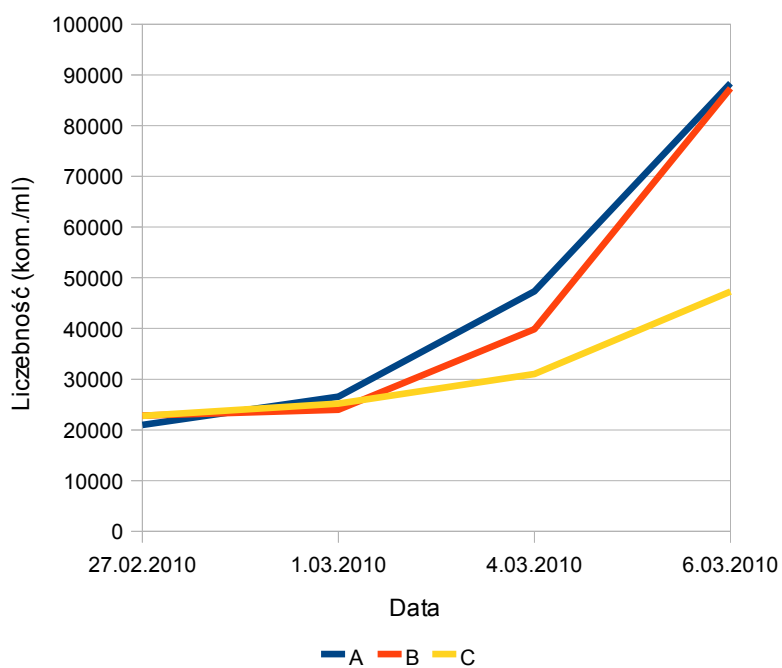
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0

4.3.4.2. Wpływ natężenia światła na rozwój *Calothrix desertica*

Rozwój *Calothrix desertica* był zahamowany w próbach z największym natężeniem światła. W pozostałych próbach liczebność sinicy była porównywalna (załącznik 51 i 52). Rozwój tego gatunku w obydwu seriach badań był podobny (ryc. 58 i 59).



Ryc. 58. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)



Ryc. 59. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)

Calothrix desertica nie produkowała badanych mikrocytyn, niezależnie od natężenia światła, o czym świadczy ich brak we wszystkich próbach (tabela 137, 138).

Tabela 137. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

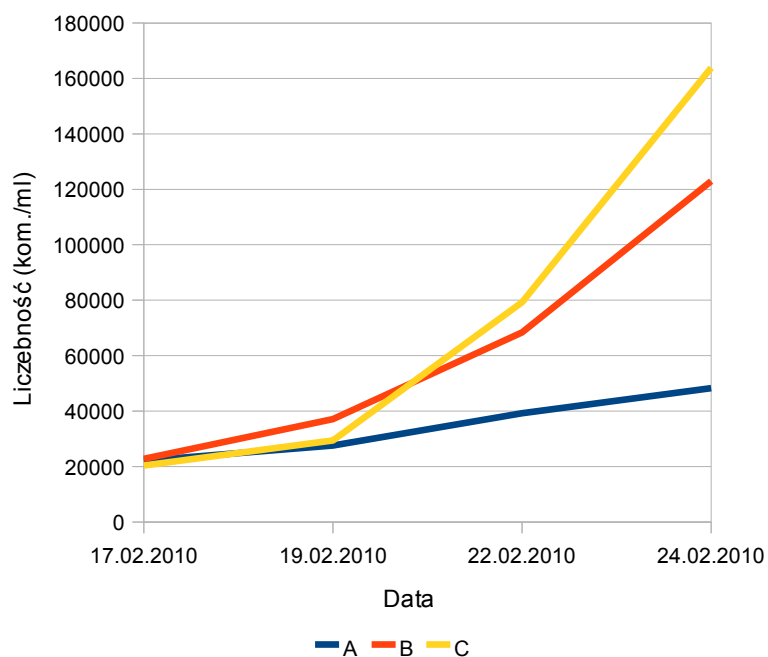
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 138. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

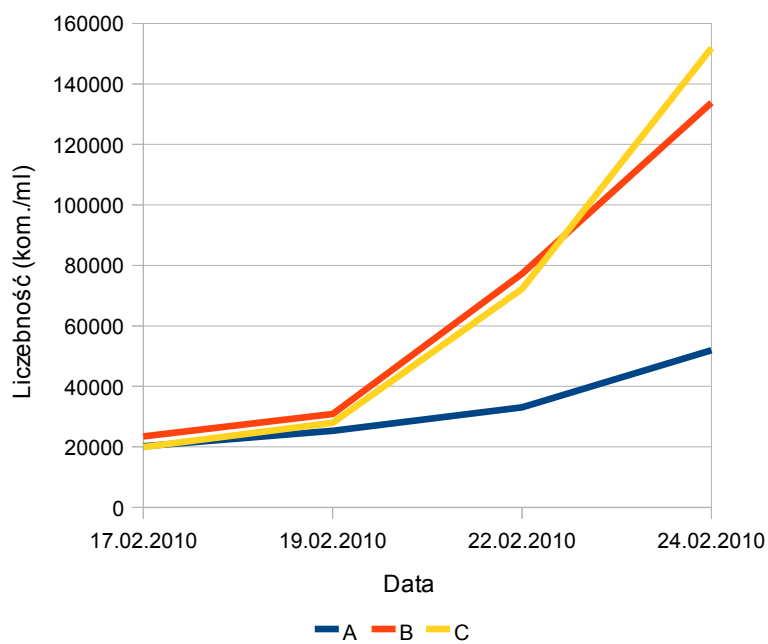
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.4.3. Wpływ natężenia światła na rozwój *Merismopedia glauca*

Wzrost sinicy *Merismopedia glauca* był proporcjonalny do wzrostu natężenia światła (ryc. 60 i 61). Liczebność sinicy przy największym natężeniu światła była trzykrotnie większa niż przy $21\mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (załącznik 53 i 54).



Ryc. 60. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)



Ryc. 61. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)

Merismopedia glauca nie produkowała badanych mikrocystyn niezależnie od natężenia światła, gdyż w żadnej z prób nie stwierdzono ich obecności (tabela 139, 140).

Tabela 139. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

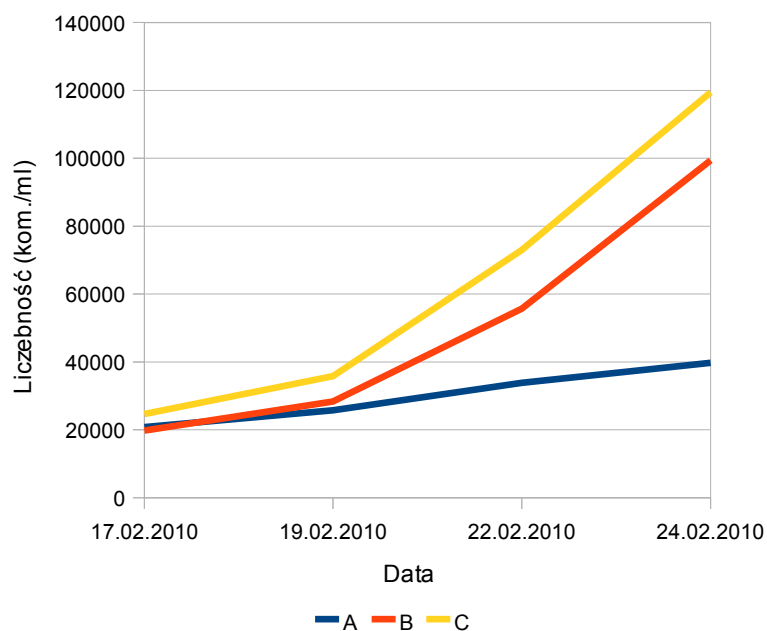
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 140. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

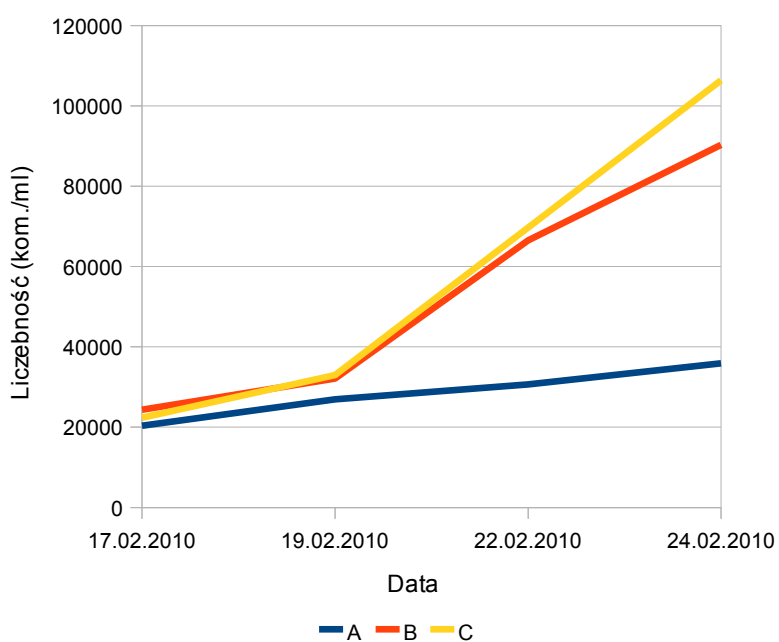
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.4.4. Wpływ natężenia światła na rozwój *Microcystis aeruginosa*

Rozwój *Microcystis aeruginosa* w poszczególnych natężeniach światła był podobny do tempa wzrostu *Merismopedia glauca*. Sinica rozwijała się najintensywniej przy najwyższym natężeniu światła (załącznik 55 i 56). Rozwój ten był zbliżony w obydwu seriach badań (ryc. 62 i 63).



Ryc. 62. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)



Ryc. 63. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)

Mikrocystyna-LR we wszystkich badanych próbach miała zbliżone wartości, niezależne od natężenia światła (tabela 141). W drugiej serii badań jej stężenia były nieco wyższe, w porównaniu do serii pierwszej (tabela 142). Innych mikrocytyn nie wykryto zarówno w badanym przesączu, jak i biomacie sinic.

Tabela 141. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

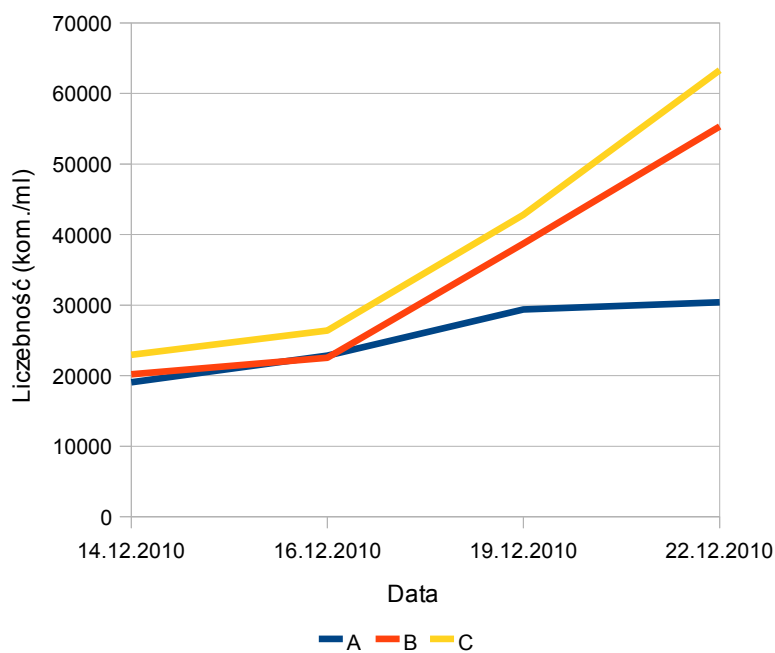
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	A	0,000	0,200	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,220	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,310	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,250	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,230	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,290	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 142. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

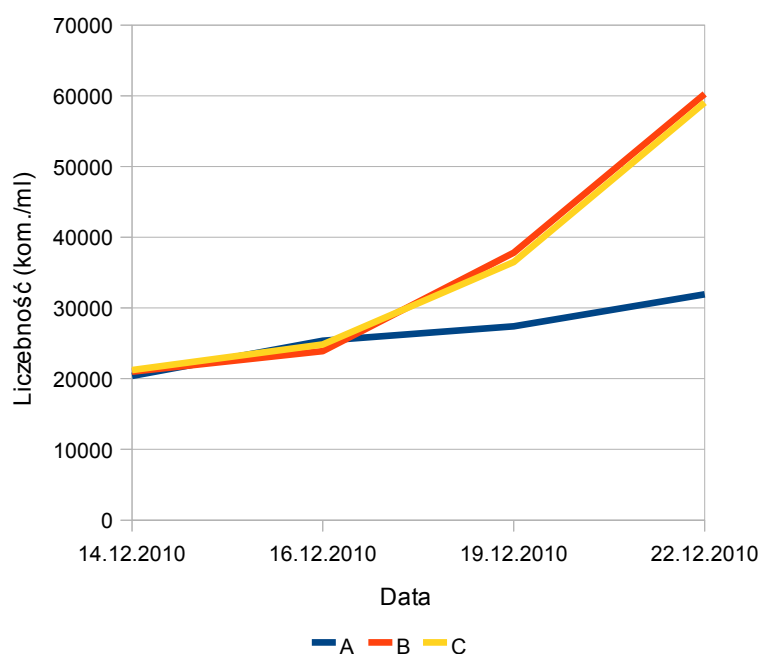
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	A	0,000	0,310	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,310	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,350	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,290	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,330	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,340	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.4.5. Wpływ natężenia światła na rozwój *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205)

Rozwój *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) w 2 najwyższych natężeniach światła przebiegał podobnie, zahamowanie tempa wzrostu o połowę nastąpiło przy najmniejszym oświetleniu (ryc. 64 i 65, załącznik 57 i 58).



Ryc. 64. Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 1)



Ryc. 65. Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 2)

Mikrocystyna-LR, jak również 5 innych jej analogów, nie była produkowana przez omawiany szczep sinicy, o czym świadczy ich brak w badanych próbach po zakończeniu testu (tabela 143, 144).

Tabela 143. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) po zakończeniu testu

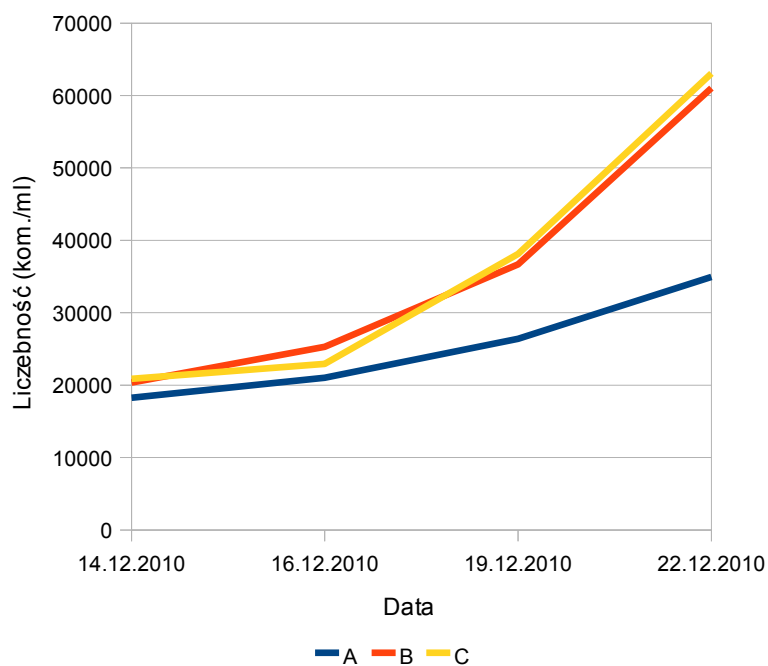
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 144. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) po zakończeniu testu

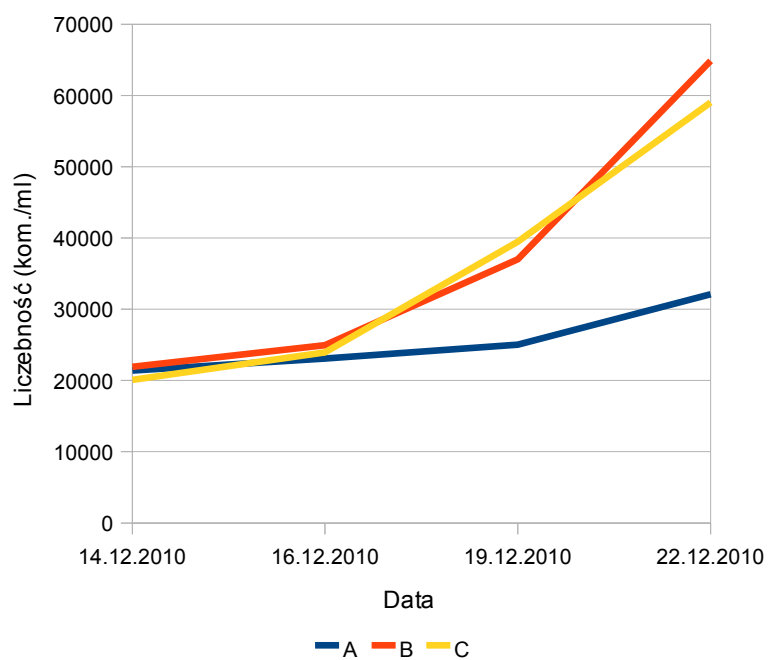
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.4.6. Wpływ natężenia światła na rozwój *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10)

Rozwój *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) w poszczególnych natężeniach światła był podobny do tempa wzrostu szczepu CCNP1102 (MAKR0205). Sinica rozwijała się intensywnie przy dwu wyższych natężeniach światła, natomiast przy najniższym jej liczebność była o połowę niższa (ryc. 66 i 67, załącznik 59 i 60).



Ryc. 66. Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 1)



Ryc. 67. Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 2)

Mikrocystyna-LR we wszystkich badanych próbach miała zbliżone wartości (zwłaszcza w przypadku jej zawartości w biomase sinic), niezależne od natężenia światła (Tabela 145 i 146). Pozostałe badane mikrocystyny nie były produkowane.

Tabela 145. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) po zakończeniu testu

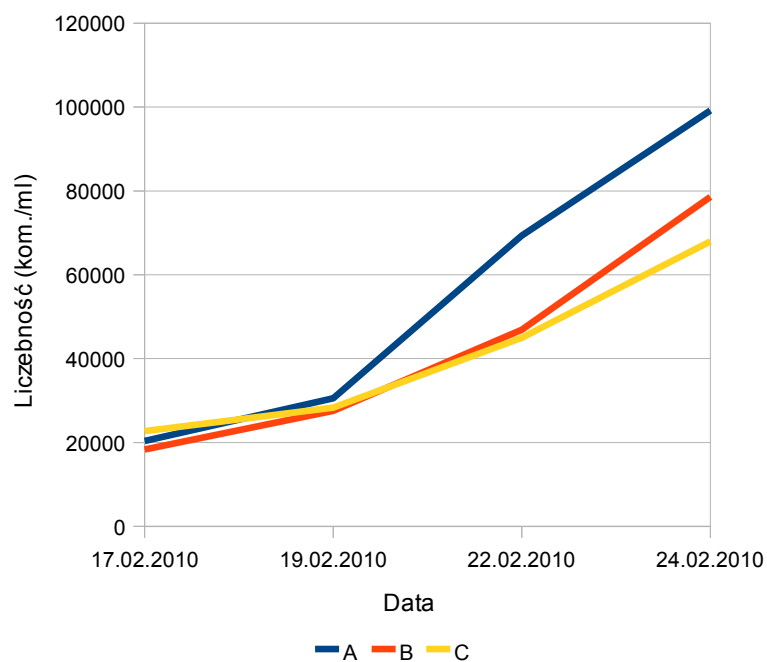
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	A	0,000	0,100	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,250	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,300	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,260	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,210	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 146. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) po zakończeniu testu

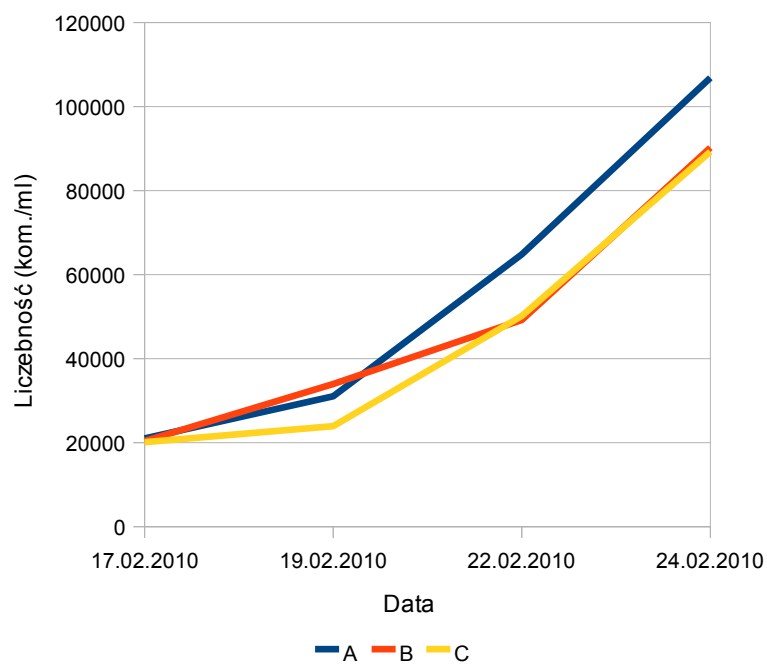
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	A	0,000	1310	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	1300	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1350	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	1270	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	1200	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1110	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.4.7. Wpływ natężenia światła na rozwój *Planktothrix agardhi*

Najintensywniejszy rozwój *Planktothrix agardhi* zaobserwowano przy najniższym natężeniu światła (ryc. 68 i 69). Przy standardowym natężeniu światła oraz najwyższym sinica osiągnęła zbliżoną liczebność, zwłaszcza w drugiej serii badań (załącznik 61 i 62).



Ryc. 68. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)



Ryc. 69. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)

Planktothrix agardhi nie produkowała badanych mikrocytyn, o czym świadczy nie stwierdzenie ich we wszystkich próbach (tabela 147, 148).

Tabela 147. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

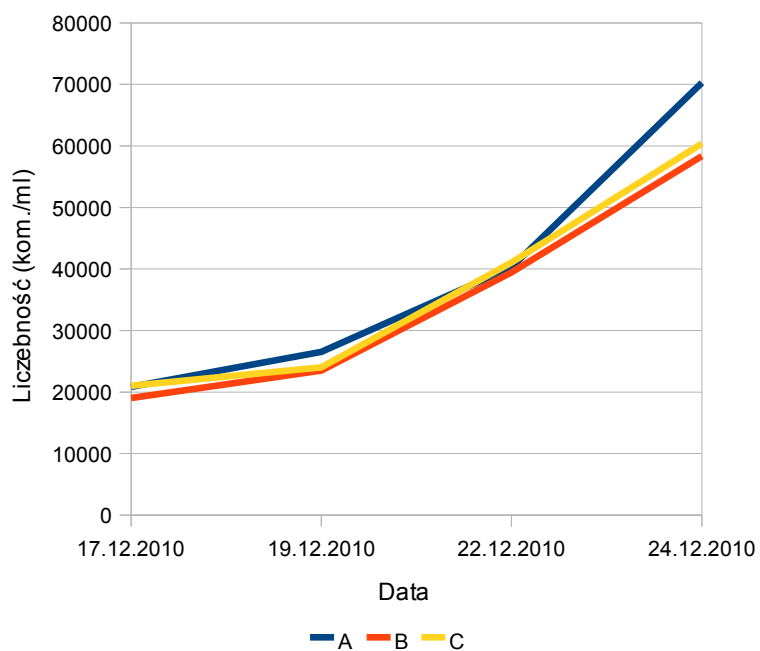
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 148. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

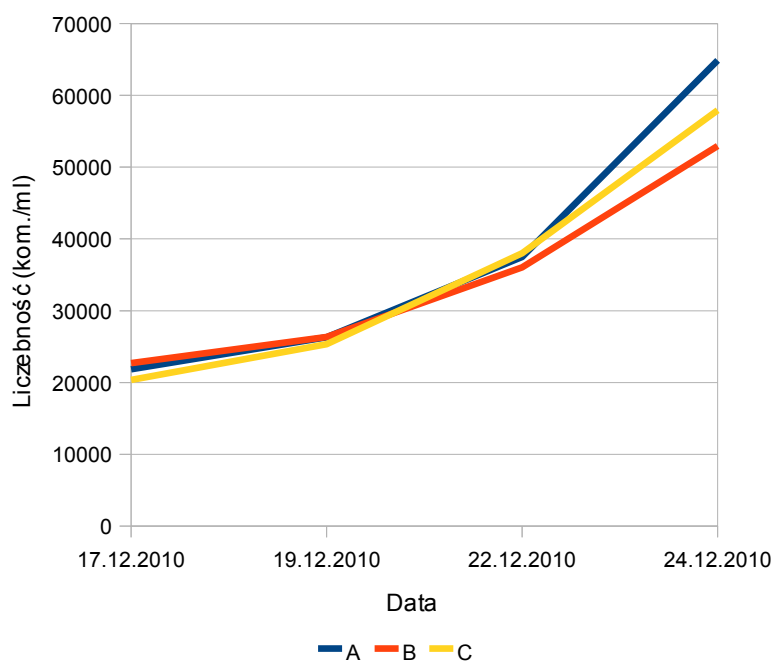
Seria	Próba	Mikrocy-styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy-styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.4.8. Wpływ natężenia światła na rozwój *Planktothrix agardhi* CCNP1303

Najintensywniejszy rozwój *Planktothrix agardhi* zaobserwowano przy najniższym natężeniu światła. Przy standardowym natężeniu światła oraz najwyższym sinica osiągnęła zbliżoną liczebność, jednak wyraźnie niższą niż przy natężeniu najmniejszym (ryc. 70 i 71, załącznik 63 i 64).



Ryc. 70. Liczebność *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 1)



Ryc. 71. Liczebność *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 2)

Planktothrix agardhi CCNP1303 produkował toksyny we wszystkich badanych próbach. Stężenie mikrocystyny nie było zależne od natężenia światła (tabela 149 i 150).

Tabela 149. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi* CCNP1303 po zakończeniu testu

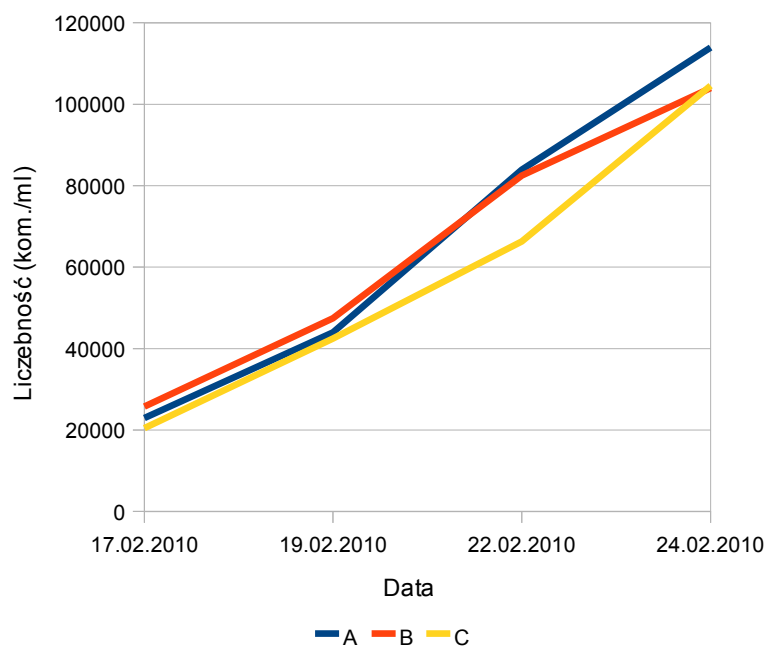
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g l}^{-1}$)
1	A	0,000	0,270	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,300	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,260	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,310	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,290	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,310	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 150. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* CCNP1303 po zakończeniu testu

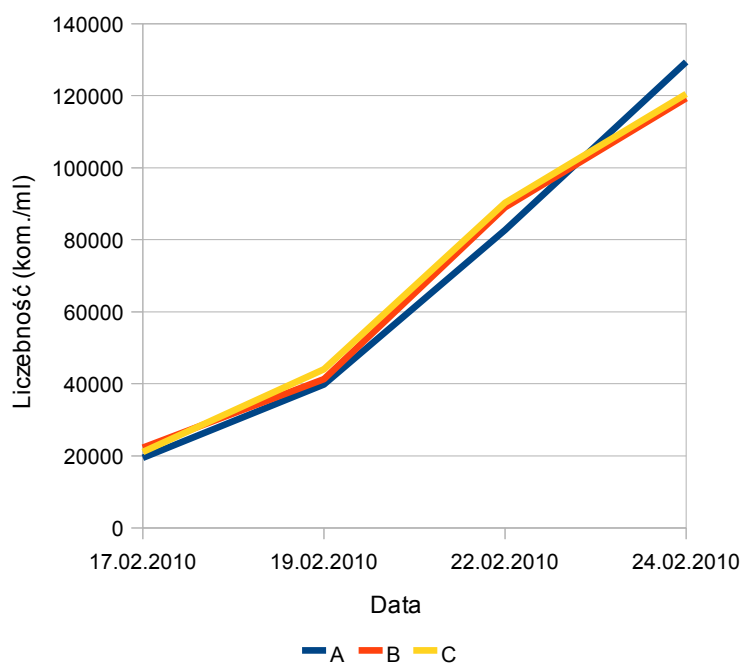
Seria	Próba	Mikrocy- styna LF ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LW ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna LY ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna RR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)	Mikrocy- styna YR ($\mu\text{g/mg s.m.}$)
1	A	0,000	1100	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	1200	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1290	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	1180	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	1020	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	1030	0,000	0,000	0,000	0,000

4.3.4.9. Wpływ natężenia światła na rozwój *Synechocystis* sp.

Synechocystis sp. jako jedyna testowana sinica nie wykazała wyraźnych różnic w liczebności komórek w hodowlach prowadzonych przy różnym natężeniu światła (załącznik 65 i 66). We wszystkich przypadkach tempo wzrostu sinic było intensywne (ryc. 72 i 73).



Ryc. 72. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)



Ryc. 73. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)

Synechocystis sp. nie produkowała badanych mikrocytyn, gdyż nie stwierdzono ich obecności w żadnej z prób (tabela 151, 152).

Tabela 151. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocy-styna LF (µg l ⁻¹)	Mikrocy-styna LR (µg l ⁻¹)	Mikrocy-styna LW (µg l ⁻¹)	Mikrocy-styna LY (µg l ⁻¹)	Mikrocy-styna RR (µg l ⁻¹)	Mikrocy-styna YR (µg l ⁻¹)
1	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 152. Stężenie toksyn sinicowych w biomase *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

Seria	Próba	Mikrocy-styna LF (µg/mg s.m.)	Mikrocy-styna LR (µg/mg s.m.)	Mikrocy-styna LW (µg/mg s.m.)	Mikrocy-styna LY (µg/mg s.m.)	Mikrocy-styna RR (µg/mg s.m.)	Mikrocy-styna YR (µg/mg s.m.)
1	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.4. Przesiewowy test toksyczności ostrej oparty na skorupiakach (*Daphnia magna*)

4.4.1. Wpływ ekstraktu z *Trichormus variabilis* na *D. magna*

W próbie kontrolnej oraz w testowanych najniższych stężeniach ekstraktu z sinicy *T. variabilis* po 24 godz. nie odnotowano żadnej śmiertelności osobników *D. magna* oraz niewielką (15%) po 48 godz. W wyższych koncentracjach ekstraktu już po 24 godz. stwierdzono unieruchomione osobniki *D. magna*. Po upływie 48 godz. odnotowano śmiertelność skorupiaków we wszystkich koncentracjach, w tym niewielką (10%) również w kontroli. Najwyższa śmiertelność została stwierdzona w 100% ekstraktu i wyniosła 70% (tabela 153).

Tabela 153. Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *T. variabilis* (A, B, C, D – powtórzenia testu)

	Kontrola		Koncentr. 5 (6,25%)		Koncentr. 4 (12,5%)		Koncentr. 3 (25%)		Koncentr. 2 (50%)		Koncentr. 1 (100%)	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
Czas (godz.)												
A	5	4	5	5	5	5	5	3	5	3	5	2
B	5	4	5	4	5	4	5	4	4	2	5	1
C	5	5	5	4	5	4	5	4	3	3	5	2
D	5	5	5	4	5	4	5	3	4	3	5	1
Martwe	0	2	0	3	0	3	0	6	4	9	0	14
Efekt (%)	0	10	0	15	0	15	0	30	20	45	0	70

4.4.2. Wpływ ekstraktu z *Aphanizomenon gracile* na *D. magna*

W próbie kontrolnej, pozbawionej ekstraktu z *Aphanizomenon gracile*, w koncentracjach 5, 4 i 3 po upływie 24 h oraz 4 i 3 po upływie 48 h nie odnotowano żadnego martwego osobnika *Daphnia magna* (tabela 142). Najwyższa śmiertelność pojawiła się po 48 h w koncentracjach 1 i 5. Była ona niewielka, gdyż wynosiła kolejno 20% i 15%. Nie odnotowano żadnych zmian po 48 h w próbach przy koncentracji 3 i 4 (wszystkie organizmy przeżyły) (tabela 154).

Tabela 154. Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *A. gracile* (A, B, C, D – powtórzenia testu)

	Kontrola		Koncentr. 5 (6,25%)		Koncentr. 4 (12,5%)		Koncentr. 3 (25%)		Koncentr. 2 (50%)		Koncentr. 1 (100%)	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
Czas (godz.)												
A	5	5	5	4	5	5	5	5	4	4	3	3
B	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
C	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4
D	5	5	5	3	5	5	5	5	5	5	5	4
Martwe	0	0	0	3	0	0	0	0	1	1	2	4
Efekt (%)	0	0	0	15	0	0	0	0	5	5	10	20

4.4.3. Wpływ ekstraktu z *Calothrix desertica* na *D. magna*

Wyniki testu wykazały, że ekstrakt sinicy *C. desertica* nie powodował zwiększonej śmiertelności skorupiaków. Efekt śmiertelności nie przekroczył 5% w żadnym z testowanych stężeń ekstraktu (tabela 155).

Tabela 155. Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *C. desertica* (A, B, C, D – powtórzenia testu)

	Kontrola		Koncentr. 5 (6,25%)		Koncentr. 4 (12,5%)		Koncentr. 3 (25%)		Koncentr. 2 (50%)		Koncentr. 1 (100%)	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
Czas (godz.)												
A	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
B	5	5	4	4	5	5	5	4	5	5	5	5
C	4	4	5	5	4	4	5	5	5	5	5	5
D	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4
Martwe	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1
Efekt (%)	5	5	5	5	5	5	0	5	0	0	0	5

4.4.4. Wpływ ekstraktu z *Cylindrospermopsis raciborskii* na *D. magna*

W próbie kontrolnej, pozbawionej ekstraktu z *Cylindrospermopsis raciborski*, a także w najniższej koncentracji 5 po upływie 24 h nie odnotowano żadnego martwego osobnika *Daphnia magna*. Bardzo niski procent śmiertelności po 24 h wśród *D. magna* pojawił się w koncentracji 4, wynosił 5% i zwiększał się wraz ze wzrostem koncentracji ekstraktu. Po 48 h w próbie z najniższym stężeniem ekstraktu śmiertelność była niska, wynosząc 10%. W przypadku wyższych stężeń w każdej próbie zauważono przynajmniej jednego martwego osobnika. Zdecydowanie najwyższy procent śmiertelności wystąpił w przypadku koncentracji najwyższej, zarówno po 24 h jak i po 48 h, wynosił odpowiednio 50% i 95% (tabela 156).

Tabela 156. Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *C. raciborski* (A, B, C, D – powtórzenia testu)

	Kontrola	Koncentr. 5 (6,25%)	Koncentr. 4 (12,5%)	Koncentr. 3 (25%)	Koncentr. 2 (50%)	Koncentr. 1 (100%)
--	----------	------------------------	------------------------	----------------------	----------------------	-----------------------

Czas (godz.)	24		48		24		48		24		48	
	A	5	5	5	4	5	2	4	2	3	1	3
B	5	5	5	5	4	3	5	2	5	3	3	1
C	5	5	5	5	5	4	3	3	4	3	2	0
D	5	5	5	4	5	4	4	2	3	2	2	0
Martwe	0	0	0	2	1	7	4	11	5	11	10	19
Efekt (%)	0	0	0	10	5	35	20	55	25	55	50	95

4.4.5. Wpływ ekstraktu z *Merismopedia glauca* na *D. magna*

Ekstrakt z sinicy *M. glauca* nie spowodował wyraźnego wzrostu śmiertelności wśród organizmów testowych. Największy efekt śmiertelności odnotowano w najwyższych stężeniach ekstraktu. Wyniósł on dla koncentracji 2 (50% ekstraktu) 15% i dla koncentracji 1 (100% ekstraktu) 20% (tabela 157). W pozostałych stężeniach nie przekroczył 5%.

Tabela 157. Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *M. glauca* (A, B, C, D – powtórzenia testu)

Czas (godz.)	Kontrola		Koncentr. 5 (6,25%)		Koncentr. 4 (12,5%)		Koncentr. 3 (25%)		Koncentr. 2 (50%)		Koncentr. 1 (100%)	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
A	4	4	5	5	5	5	5	5	5	3	4	4
B	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3
C	5	5	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5
D	5	5	5	5	5	5	4	4	5	4	5	4
Martwe	1	1	1	1	0	0	1	1	0	3	1	4
Efekt (%)	5	5	5	5	0	0	5	5	0	15	5	20

4.4.6. Wpływ ekstraktu z *Microcystis aeruginosa* na *D. magna*

Po upływie 24 godz. odnotowano śmiertelność organizmów *D. magna* we wszystkich stężeniach ekstraktu z *M. aeruginosa*. Wraz ze wzrostem stężenia ekstraktu rosła jego toksyczność względem skorupiaków. Najwyższą śmiertelność zaobserwowano w 100%

ekstrakcie, wyniosła ona 60% po upływie 24 godz. oraz 75% po 48 godz. (tabela 158).

Tabela 158. Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *M. aeruginosa* (A, B, C, D – powtórzenia testu)

	Kontrola		Koncentr. 5 (6,25%)		Koncentr. 4 (12,5%)		Koncentr. 3 (25%)		Koncentr. 2 (50%)		Koncentr. 1 (100%)	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
Czas (godz.)	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
A	5	4	4	4	5	4	5	4	5	4	1	0
B	5	4	5	5	4	4	4	4	3	3	4	3
C	4	4	5	4	5	5	4	4	4	4	1	0
D	5	5	5	5	4	4	4	4	5	5	2	2
Martwe	1	3	1	2	2	3	3	4	3	4	12	15
Efekt (%)	5	15	5	10	10	15	15	20	15	20	60	75

4.4.7. Wpływ ekstraktu z *Nostoc* sp. na *D. magna*

Ekstrakt z bentosowej sinicy *Nostoc* sp. nie powodował wyraźnie większej śmiertelności *D. magna* w porównaniu z próbą kontrolną (tabela 159). Jedynie w próbie z ekstraktem 100% odnotowano efekt śmiertelności większy niż 10% (wyniósł on 15%).

Tabela 159. Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *Nostoc* sp. (A, B, C, D – powtórzenia testu)

	Kontrola		Koncentr. 5 (6,25%)		Koncentr. 4 (12,5%)		Koncentr. 3 (25%)		Koncentr. 2 (50%)		Koncentr. 1 (100%)	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
Czas (godz.)	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
A	4	4	5	5	4	4	5	5	4	4	5	5
B	5	5	5	5	5	5	5	4	4	4	5	5
C	5	5	5	5	4	4	5	4	5	5	5	3
D	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4
Martwe	1	1	0	0	2	2	0	2	2	2	0	3
Efekt (%)	5	5	0	0	10	10	0	10	10	10	0	15

4.4.8. Wpływ ekstraktu z *Oscillatoria* sp. na *D. magna*

Śmiertelność skorupiaków w teście wykorzystującym ekstrakt z sinicy *Oscillatoria* sp. wzrastała proporcjonalnie ze stężeniem ekstraktu oraz czasu ekspozycji. Najwyższy efekt śmiertelności wynoszący 40% uzyskano w próbie zawierającej 100% ekstraktu po 48 godz., przy zaledwie 10% zaobserwowanych w tej samej próbie po 24 godz. W najniższym testowanym stężeniu (koncentracja 5) efekt śmiertelności wyniósł 0% po 24 godz. i 10% po upływie 48 godz. (tabela 160).

Tabela 160. Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *Oscillatoria* sp. (A, B, C, D – powtórzenia testu)

Czas (godz.)	Kontrola		Koncentr. 5 (6,25%)		Koncentr. 4 (12,5%)		Koncentr. 3 (25%)		Koncentr. 2 (50%)		Koncentr. 1 (100%)	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
A	5	5	5	4	5	5	5	5	4	4	5	3
B	5	5	5	4	5	3	4	4	4	3	4	3
C	5	5	5	5	5	5	5	3	4	4	5	2
D	5	5	5	5	5	3	5	4	4	4	5	4
Martwe	0	0	0	2	0	4	1	4	4	5	2	8
Efekt (%)	0	0	0	10	0	20	5	20	20	25	10	40

4.4.9. Wpływ ekstraktu z *Planktothrix agardhi* na *D. magna*

W próbie kontrolnej, pozbawionej ekstraktu z *Planktothrix agardhi*, a także w koncentracji 5, 4 i 3 po upływie 24 godz. nie odnotowano żadnego martwego osobnika *Daphnia magna*. Po 48 godz. w próbie kontrolnej, zaobserwowano jednego unieruchomionego osobnika. Po 48 godz. także w przypadku wszystkich testowanych koncentracji zauważono przynajmniej jednego martwego osobnika. Najwyższy procent śmiertelności wystąpił w przypadku ekstraktu 100%, zarówno po 24 godz. jak i po 48 godz. - wynosił on odpowiednio 25% i 60% (tabela 161).

Tabela 161. Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *P. agardhi* (A, B, C, D – powtórzenia testu)

	Kontrola		Koncentr. 5 (6,25%)		Koncentr. 4 (12,5%)		Koncentr. 3 (25%)		Koncentr. 2 (50%)		Koncentr. 1 (100%)	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
Czas (godz.)	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
A	5	5	5	5	5	5	5	4	5	5	4	2
B	5	5	5	5	5	3	5	3	4	2	3	1
C	5	4	5	5	5	5	5	5	5	3	4	1
D	5	5	5	4	5	3	5	4	5	3	4	3
Martwe	0	1	0	1	0	4	0	4	1	7	5	12
Efekt (%)	0	5	0	5	0	20	0	20	5	35	25	60

4.4.10. Wpływ ekstraktu z *Synechocystis* sp. na *D. magna*

Test wykazał stosunkowo niski wpływ *Synechocystis* sp. na śmiertelność *D. magna*. Ekstrakt z tej sinicy we wszystkich stężeniach nie spowodował śmiertelności testowanych skorupiaków powyżej 50%, osiągając maksymalny efekt śmiertelności wynoszący 40% przy najwyższym stężeniu ekstraktu sinicowego po upływie 48 godz. Przy czasie ekspozycji na ekstrakt wynoszącym 24 godziny maksymalna śmiertelność wyniosła 20% (tabela 162).

Tabela 162. Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *Synechocystis* sp. (A, B, C, D – powtórzenia testu)

	Kontrola		Koncentr. 5 (6,25%)		Koncentr. 4 (12,5%)		Koncentr. 3 (25%)		Koncentr. 2 (50%)		Koncentr. 1 (100%)	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
Czas (godz.)	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
A	5	5	5	5	5	4	5	5	4	4	4	4
B	4	4	5	5	5	5	4	4	4	4	4	2
C	5	5	5	5	5	5	5	3	5	3	5	4
D	5	5	5	5	4	3	5	5	5	2	3	2
Martwe	1	1	0	0	1	4	1	3	2	7	4	8
Efekt (%)	5	5	0	0	5	20	5	15	10	35	20	40

4.5. Wpływ sinic na rozwój zielenicy *Scenedesmus quadricauda*

Test hamowania wzrostu zielenicy *Scenedesmus quadricauda* wykonano z wykorzystaniem 9 gatunków sinic planktonowych i bentosowych. Testy były przeprowadzone w dwóch powtórzeniach (seriach). Wyniki przedstawione w tabelach mają następujące oznaczenia:

S – czysta kultura testowanej sinicy

Z - czysta kultura zielenicy *S. quadricauda*

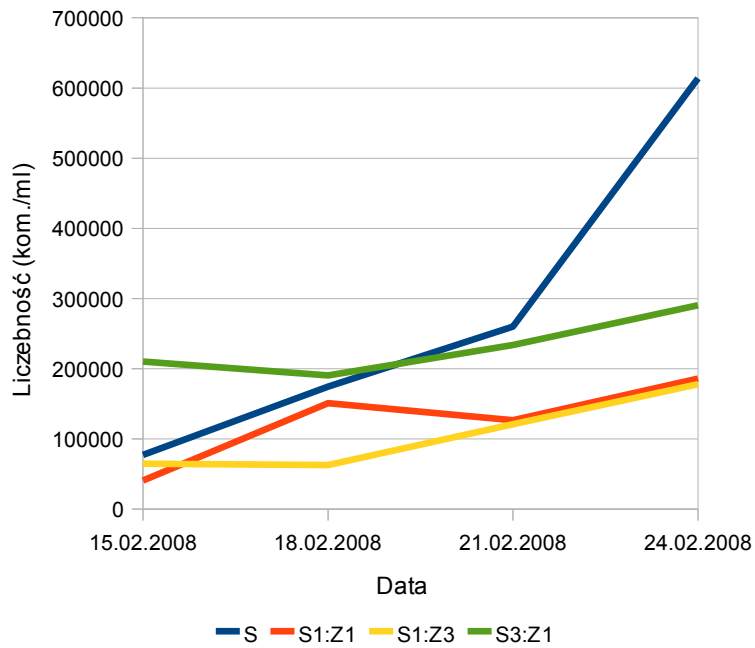
S1:Z1 – hodowla mieszana w stosunku 1:1

S1:Z3 – hodowla mieszana w stosunku 1:3

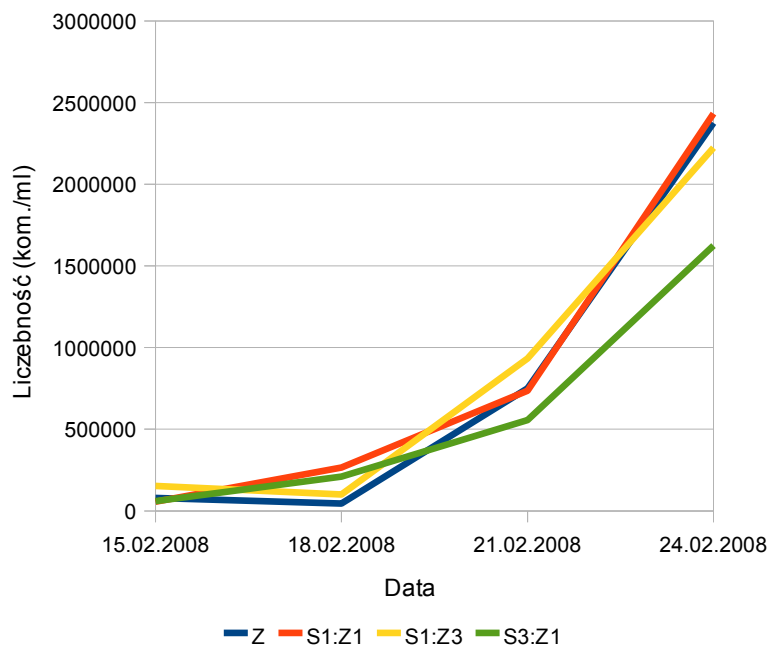
S3:Z1 – hodowla mieszana w stosunku 3:1

4.5.1. Wpływ sinicy *Trichormus variabilis* na rozwój zielenicy *Scenedesmus quadricauda*

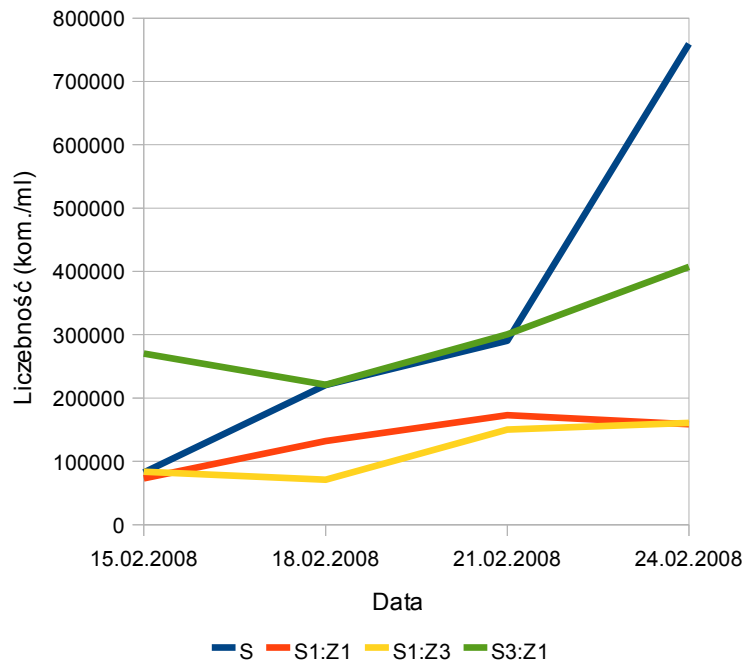
Rozwój w próbach kontrolnych *Scenedesmus quadricauda* oraz *Trichormus variabilis* przebiegał intensywnie, liczba komórek zwiększała się proporcjonalnie wraz z upływem czasu trwania testu (załącznik 67 i 68). *S. quadricauda* we wszystkich próbach rozwijał się stosunkowo szybko. W zasadzie nie był widoczny negatywny wpływ obecności sinicy. Jedynie w hodowli mieszanej zdominowanej przez sinice (S3:Z1), *S. quadricauda* rozwijał się nieco wolniej niż w pozostałych próbach (ryc. 75 i 77). Natomiast wzrost *T. variabilis* we wszystkich próbach przebiegał zdecydowanie wolniej w porównaniu do kontroli (ryc. 74 i 76), choć w przypadku hodowli mieszanej zdominowanej przez sinice, różnica w stosunku do kontroli nie była tak duża.



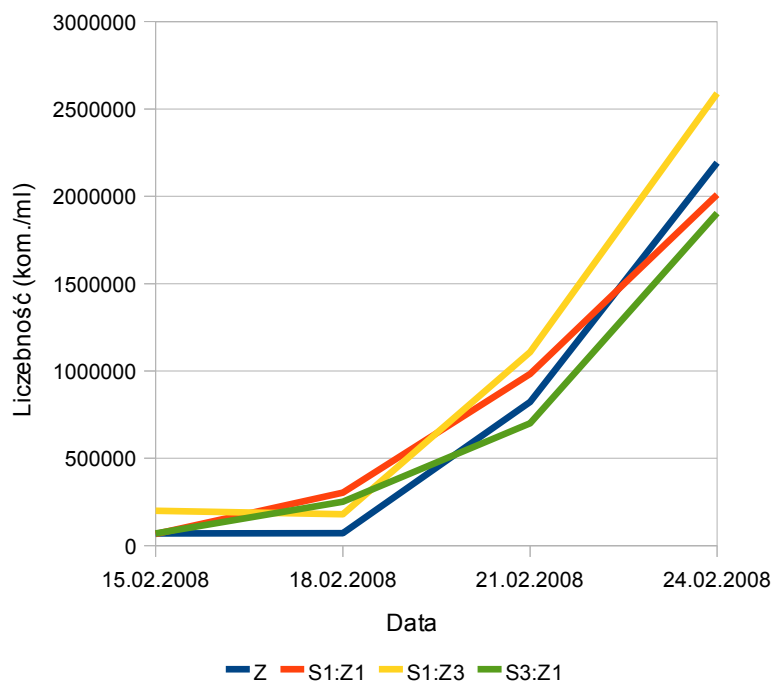
Ryc. 74. Liczebność sinicy *Trichormus variabilis* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 75. Liczebność zielonicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 76. Liczebność sinicy *Trichormus variabilis* (kom./ml) (2 seria)



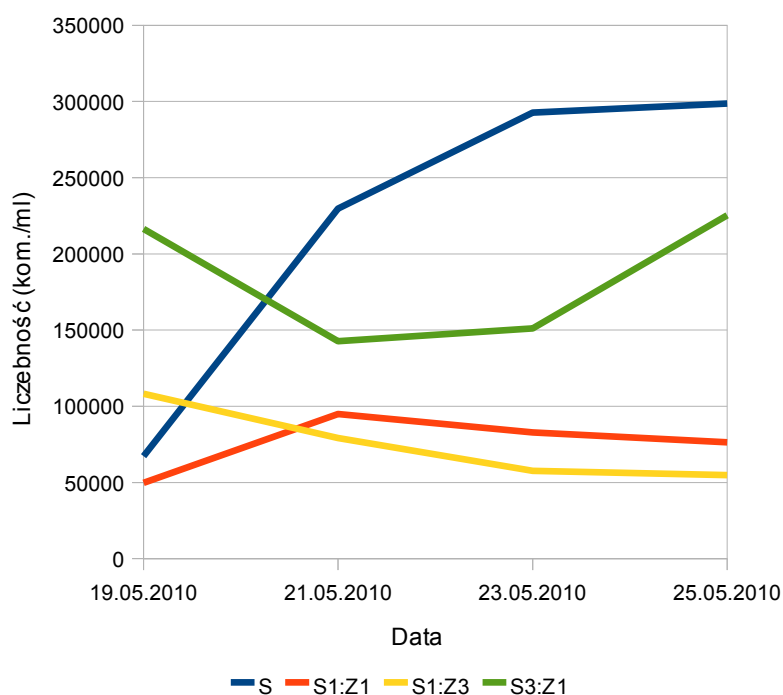
Ryc. 77. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)

4.5.2. Wpływ sinicy *Aphanizomenon gracile* na rozwój zielenicy *Scenedesmus quadricauda*

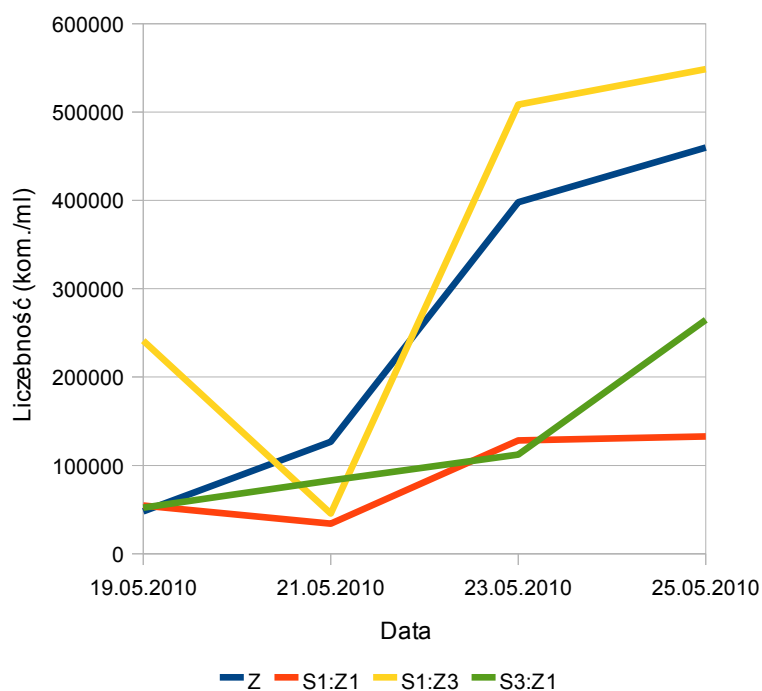
Wzrost zielenicy *S. quadricauda* w hodowlach z sinicą *A. gracile*, podobnie jak w

przypadku *Trichormus variabilis*, nie był wyraźnie zahamowany. W próbach z dużą ilością sinicy (S1:Z1 oraz S3:Z1) zielenica osiągała wprawdzie liczebność zdecydowanie mniejszą niż w hodowli testowej, jednak jej liczebność wzrastała proporcjonalnie z upływem czasu. W próbie zdominowanej przez zielenicę (S1:Z3) rozwój *S. quadricauda* przebiegał znacznie intensywniej niż w kontroli (ryc. 79 i 81).

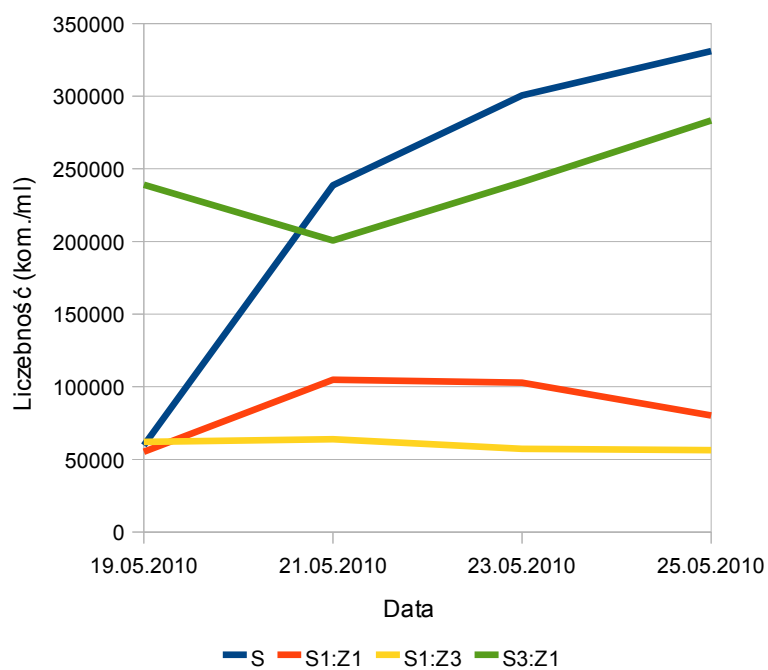
Liczebność komórek sinicy zmniejszała się zdecydowanie w porównaniu do hodowli kontrolnej. Najwyraźniejsze hamowanie wzrostu sinicy zaobserwowano w próbie S1:Z3, gdzie po upływie 7 dni testu pierwszego liczba komórek *A. gracile* zmniejszyła się dwukrotnie (załącznik 69). W drugiej serii badań obniżenie to było jednak znacznie niższe, wynosząc 9% liczebności wyjściowej (załącznik 70). Najslabiej efekt hamowania rozwoju sinicy widoczny był w próbie zdominowanej przez *A. gracile* (S3:Z1) (ryc. 78 i 80).



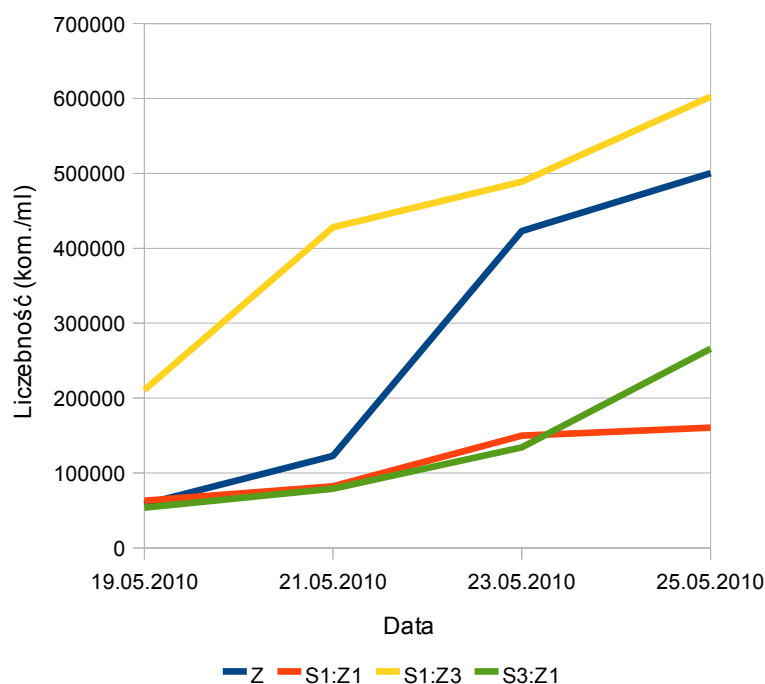
Ryc. 78. Liczebność sinicy *Aphanizomenon gracile* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 79. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)



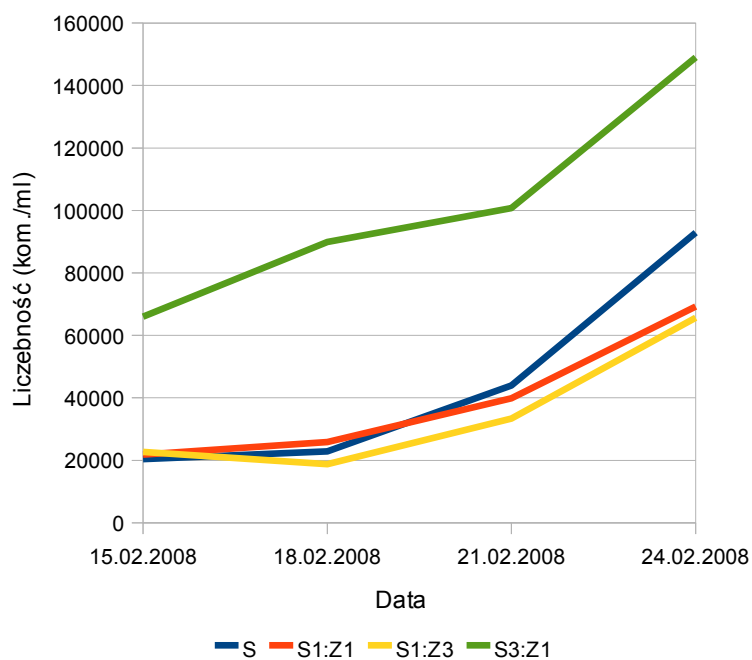
Ryc. 80. Liczebność sinicy *Aphanizomenon gracile* (kom./ml) (2 seria)



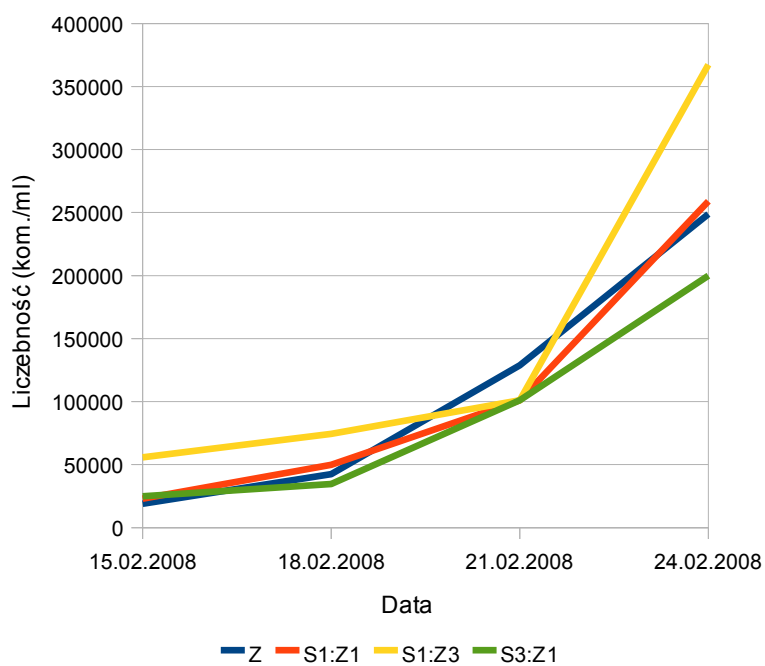
Ryc. 81. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)

4.5.3. Wpływ sinicy *Calothrix desertica* na rozwój zielenicy *Scenedesmus quadricauda*

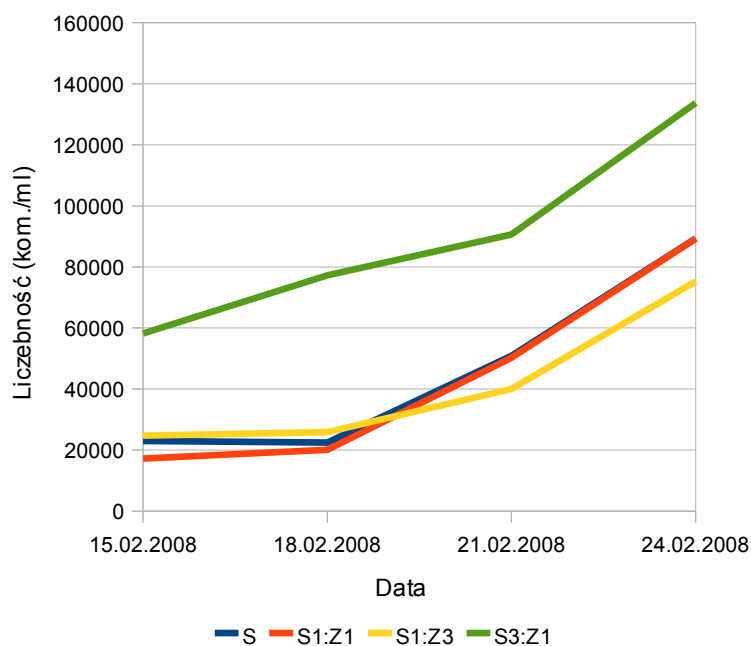
Wzrost zielenicy *S. quadricauda* w hodowli z sinicą *C. desertica* nie wykazywał zahamowania rozwoju. W próbie mieszanej zdominowanej przez zielenicę (S1:Z3), zwłaszcza w drugiej serii badań, można było nawet zaobserwować stymulację rozwoju *S. quadricauda*, gdyż rozwijał się on znacznie intensywniej niż w kontroli (ryc. 83 i 85). Również rozwój sinicy nie ulegał zahamowaniu. *C. desertica* rozwijała się zdecydowanie wolniej niż ekspansywna zielenica, natomiast w próbach mieszanych o dużej ilości zielenicy jej wzrost był podobny do próby kontrolnej (załącznik 71 i 72). W próbie zdominowanej przez sinicę (S3:Z1) rozwijały się one intensywniej niż w kontroli (ryc. 82 i 84).



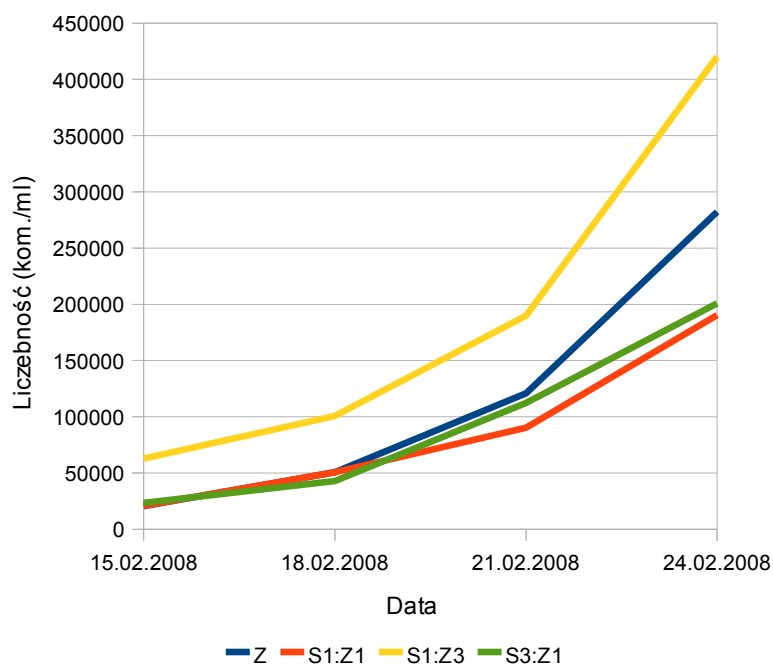
Ryc. 82. Liczebność sinicy *Calothrix desertica* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 83. Liczebność zieleńicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 84. Liczebność sinicy *Calothrix desertica* (kom./ml) (2 seria)



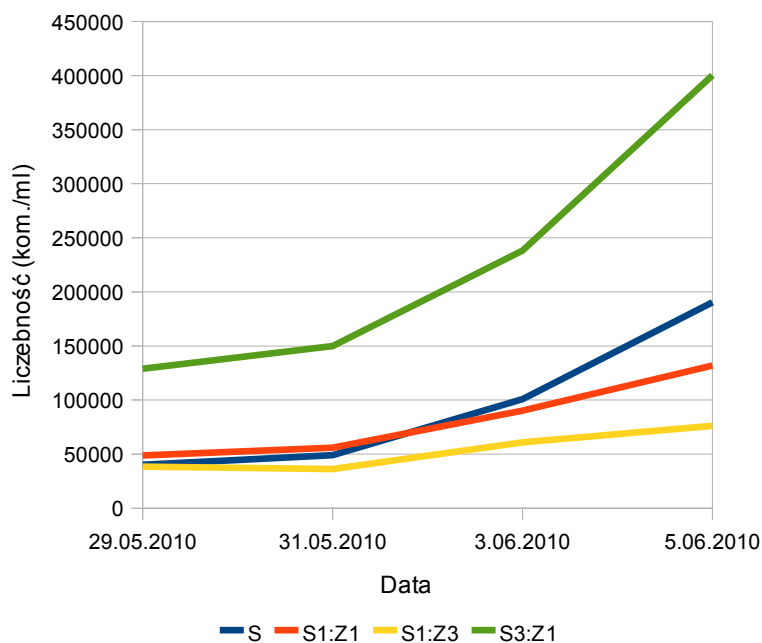
Ryc. 85. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)

4.4.4. Wpływ sinicy *Merismopedia glauca* na rozwój zielenicy *Scenedesmus quadricauda*

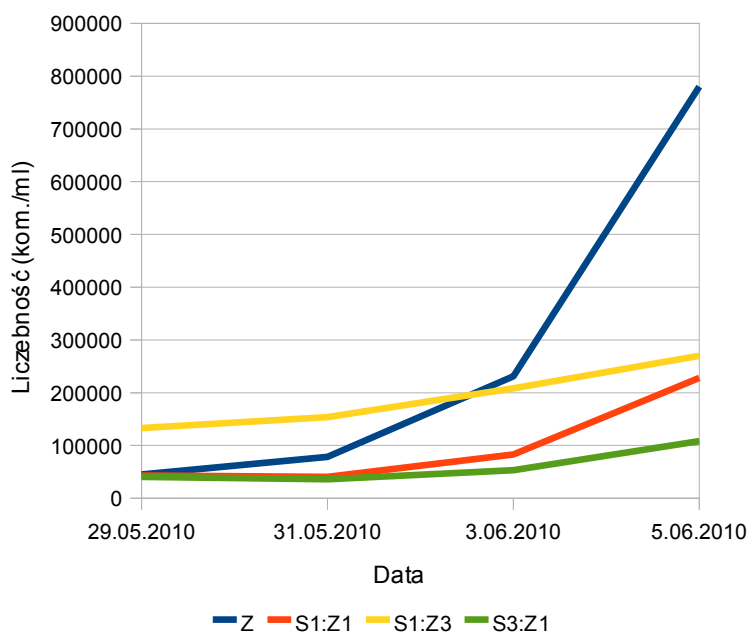
W próbach kontrolnych zielenica *S. quadricauda* osiągnęła zdecydowanie większą liczebność niż sinica *M. glauca* (załącznik 73 i 74). W próbach mieszanych zauważalny był

negatywny wpływ obecności sinicy na wzrost zielenicy, szczególnie w próbach zdominowanych przez *M. glauca* (S3:Z1). Zielenice w próbach mieszanych osiągały zdecydowanie mniejsze liczebności niż w próbie kontrolnej, szczególnie w ostatnich dniach trwania testu (ryc. 87 i 89).

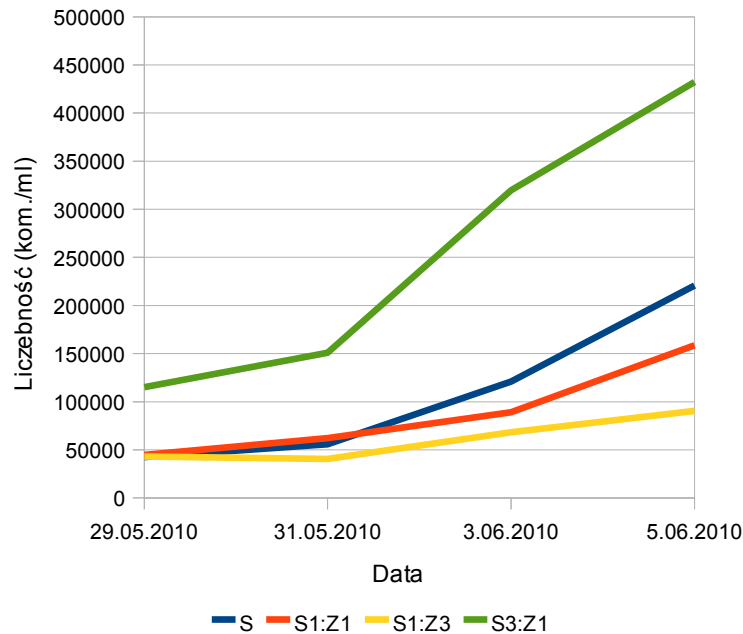
W próbach mieszanych sinica rozwijała się stosunkowo dobrze. Zauważalne było tylko niewielkie hamowanie jej rozwoju w próbie zdominowanej przez zielenice (S1:Z3), natomiast wyraźna stymulacja rozwoju sinic w próbach zdominowanych przez *M. glauca* (ryc. 86 i 88).



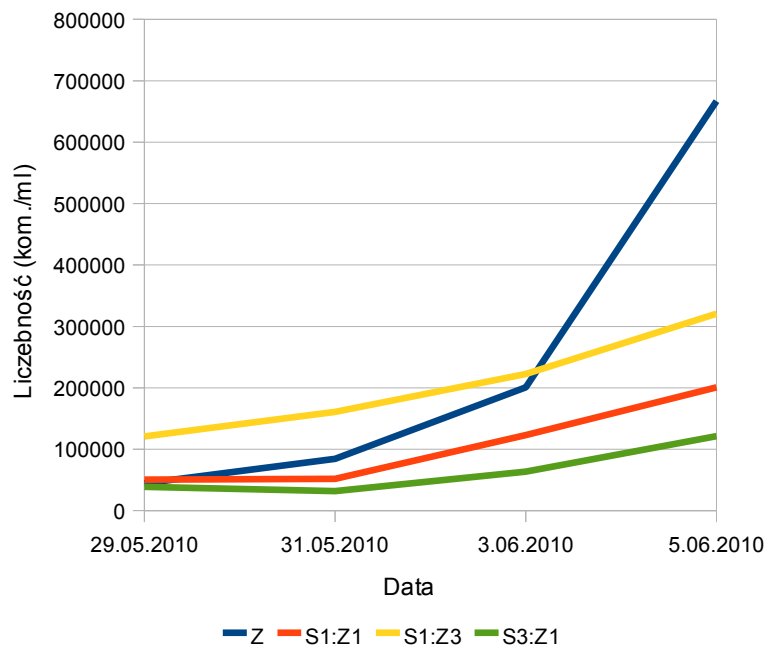
Ryc. 86. Liczebność sinicy *Merismopedia glauca* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 87. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 88. Liczebność sinicy *Merismopedia glauca* (kom./ml) (2 seria)



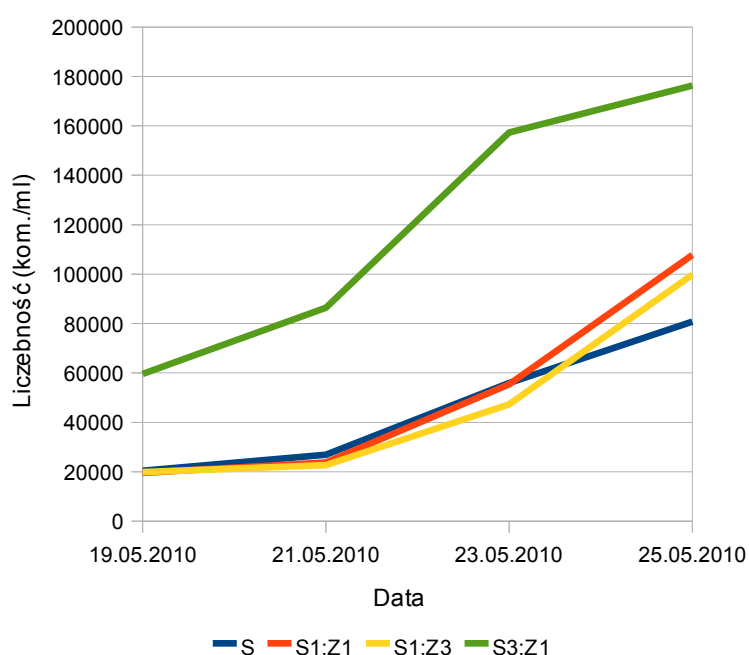
Ryc. 89. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)

4.4.5. Wpływ sinicy *Microcystis aeruginosa* na rozwój zielenicy *Scenedesmus quadricauda*

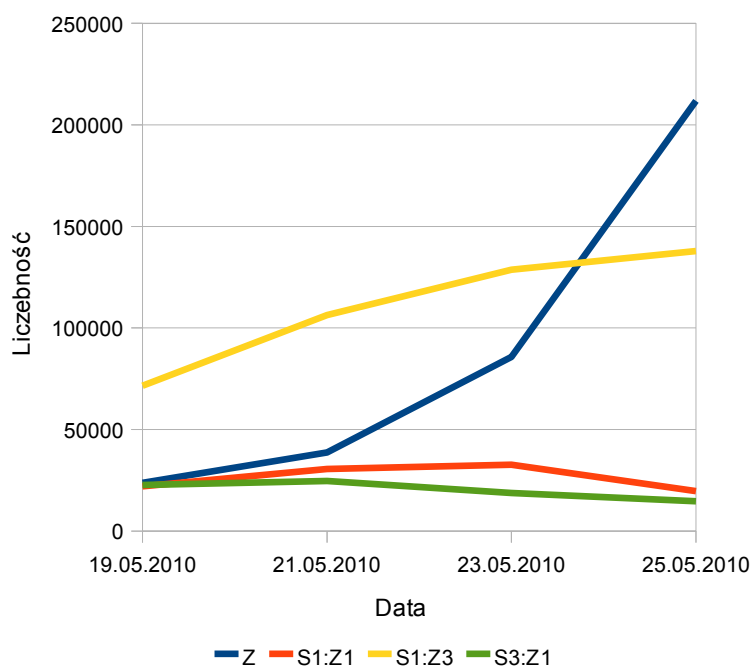
Microcystis aeruginosa rozwijał się stosunkowo wolno w próbie kontrolnej w porównaniu do wzrostu liczebności *Scenedesmus quadricauda*, natomiast we wszystkich próbach zawierających oba te gatunki zauważalne było hamowanie rozwoju zielenicy przez

sinicę. Szczególnie silny był on w próbach zawierających dużą liczebność sinic w stosunku do zielenic (S3:Z1 oraz S1:Z1), w których końcowa zawartość zielenic była mniejsza niż wyjściowa (załącznik 75 i 76). W próbie zdominowanej przez zielenicę najpierw można było zaobserwować stymulację rozwoju *S. quadricauda*, jednak pod koniec testu jego rozwój ulegał spowolnieniu, a liczebność w stosunku do kontroli znacznie się zmniejszała (ryc. 91 i 93).

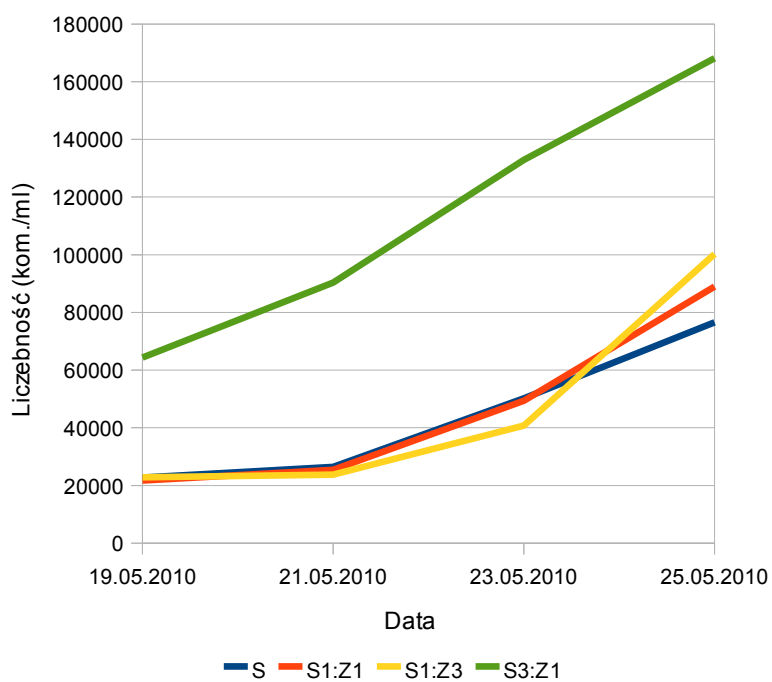
Sinica w próbach mieszanych z zielenicą nie wykazywała spowolnionego rozwoju, a w próbie zdominowanej przez *M. aeruginosa* (S3:Z1) widoczna była wyraźna stymulacja jej rozwoju (ryc. 90 i 92).



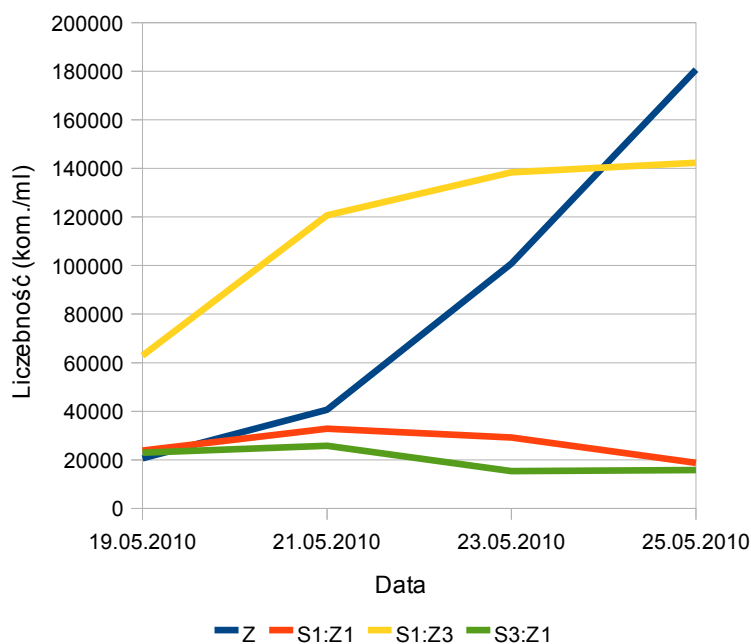
Ryc. 90. Liczebność sinicy *Microcystis aeruginosa* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 91. Liczebność zieleńcy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 92. Liczebność sinicy *Microcystis aeruginosa* (kom./ml) (2 seria)

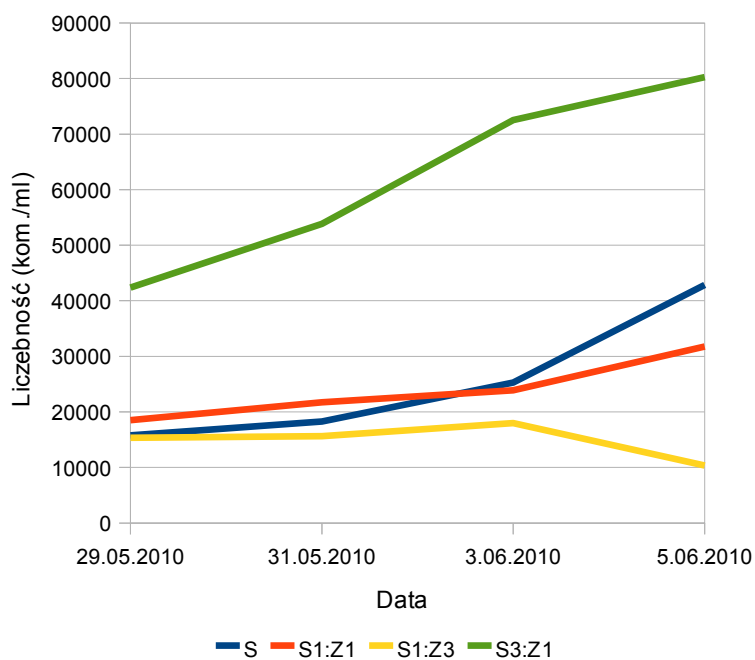


Ryc. 93. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)

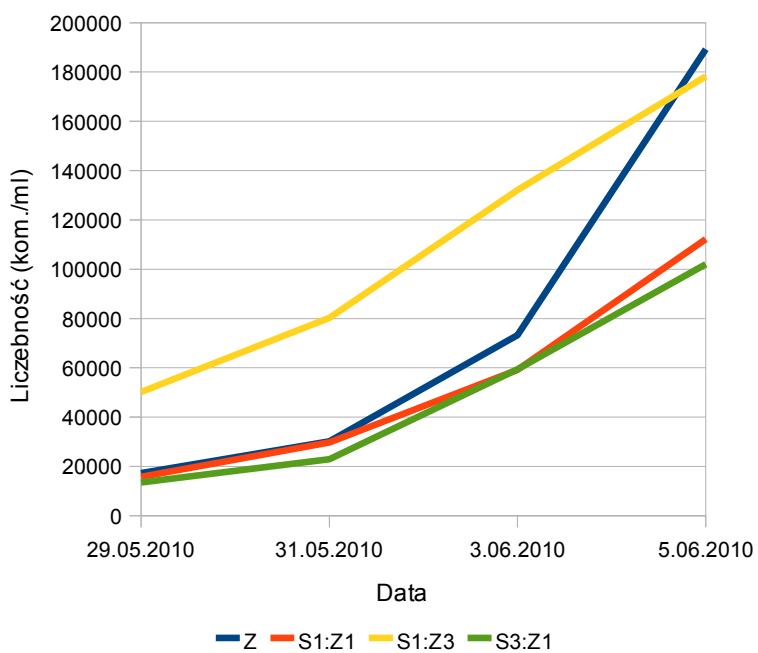
4.4.6. Wpływ sinicy *Nostoc* sp. na rozwój zielenicy *Scenedesmus quadricauda*

Próba kontrolna *Nostoc* sp. wykazała stosunkowo wolne tempo wzrostu sinicy w porównaniu do zielenicy *S. quadricauda* (załącznik 77 i 78). Testy hodowli z obydwoma gatunkami nie wykazały zahamowania wzrostu zielenicy, choć w próbach z dużą ilością sinicy rozwój zielenicy był nieco wolniejszy niż w kontroli. W próbie zdominowanej przez zielenicę (S1:Z3) dochodziło natomiast do wyraźnej stymulacji rozwoju *S. quadricauda* (ryc. 95 i 97).

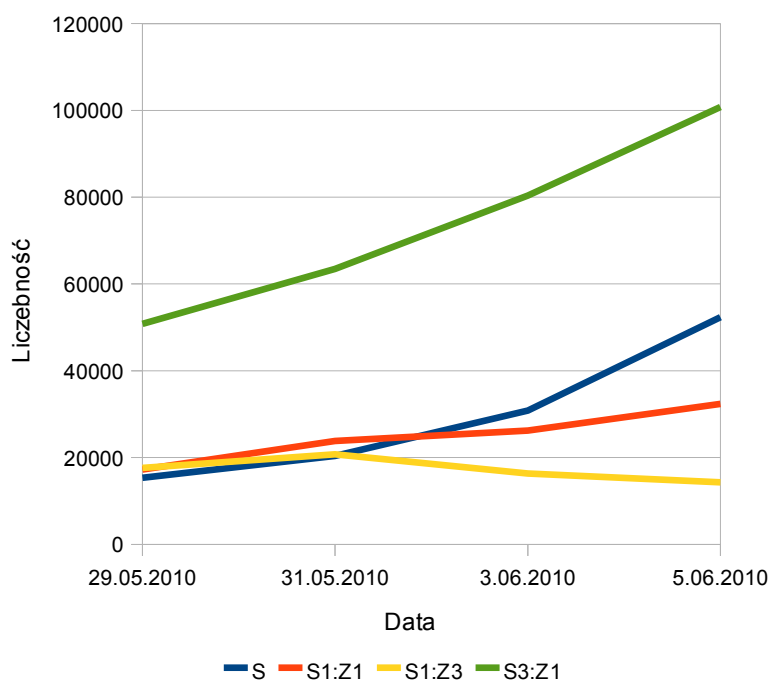
W próbach, w których liczebność zielenicy była na początku testu 3-krotnie wyższa niż *Nostoc* sp., wyraźnie widać było zmniejszone tempo wzrostu sinicy. W obydwu seriach badań jej liczebność na końcu testu była mniejsza od wyjściowej. W próbie zdominowanej przez sinicę (S3:Z1) dochodziło natomiast do wyraźnego stymulowania ich wzrostu. W końcu testu liczebność *Nostoc* sp. była w tym przypadku prawie dwukrotnie wyższa niż w kontroli (ryc. 94 i 96).



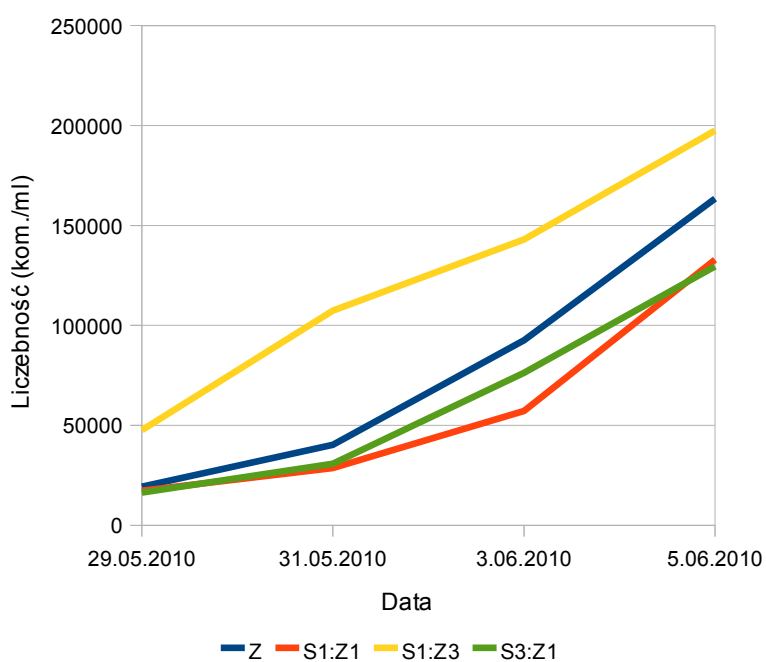
Ryc. 94. Liczebność sinicy *Nostoc* sp. (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 95. Liczebność zieleńicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 96. Liczebność sinicy *Nostoc* sp. (kom./ml) (2 seria)



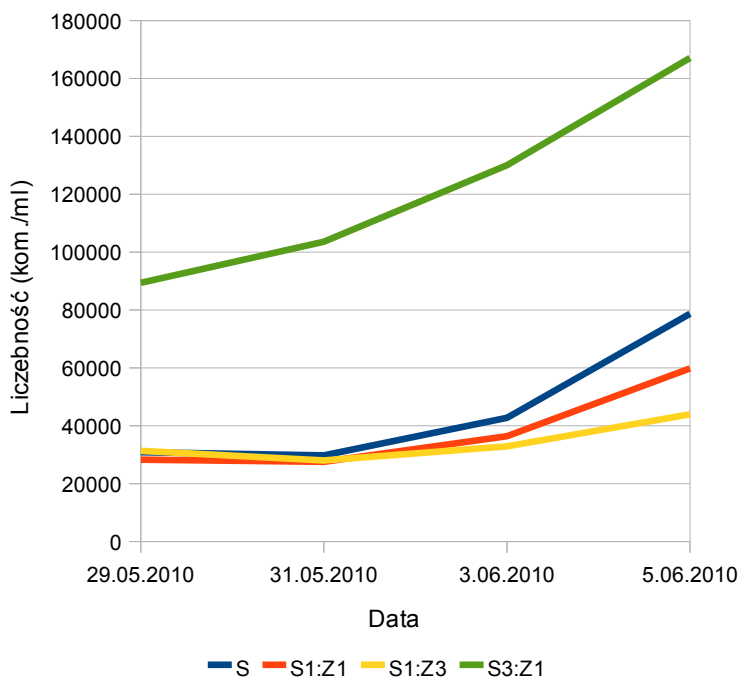
Ryc. 97. Liczebność zieleńcy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)

4.5.7. Wpływ sinicy *Oscillatoria* sp. na rozwój zieleńcy *Scenedesmus quadricauda*

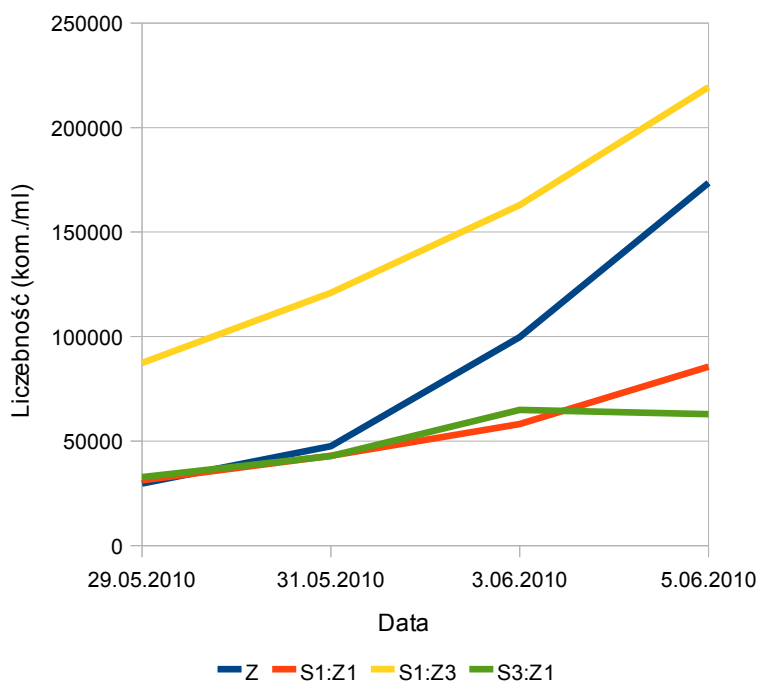
Zielenica *S. quadricauda* w porównaniu do próby kontrolnej w testach z obecnością sinicy *Oscillatoria* sp. wykazała ok. 50% spadek tempa wzrostu. Jedynie w próbie, w której stosunek sinicy do zieleńcy wynosił 1:3, *S. quadricauda* uzyskała wysoką liczebność,

przewyższającą kontrolę (ryc. 99 i 101).

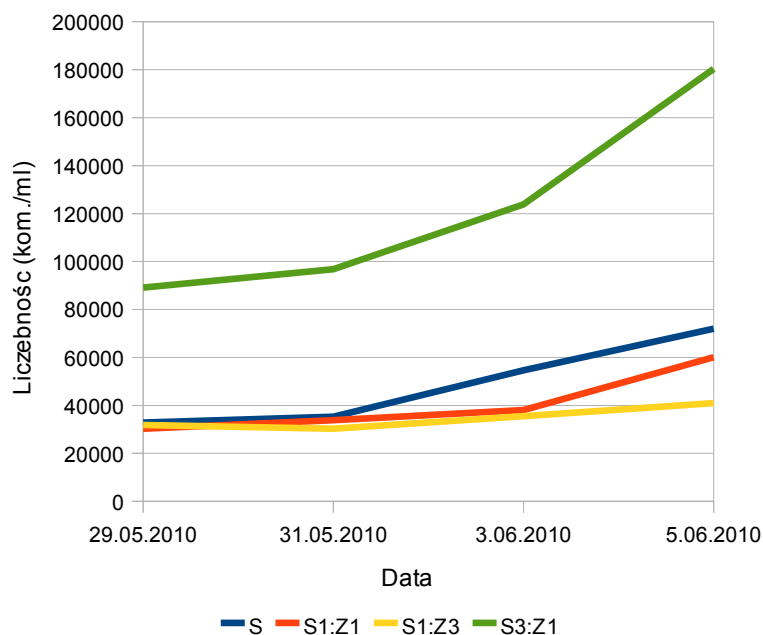
Sinica w większości prób miała porównywalne liczebności (załącznik 79 i 80). Jedynie w próbie mieszanej zdominowanej przez sinice (S3:Z1) *Oscillatoria* sp. wykazywała znacznie intensywniejszy wzrost niż w próbie kontrolnej (rys. 98 i 100).



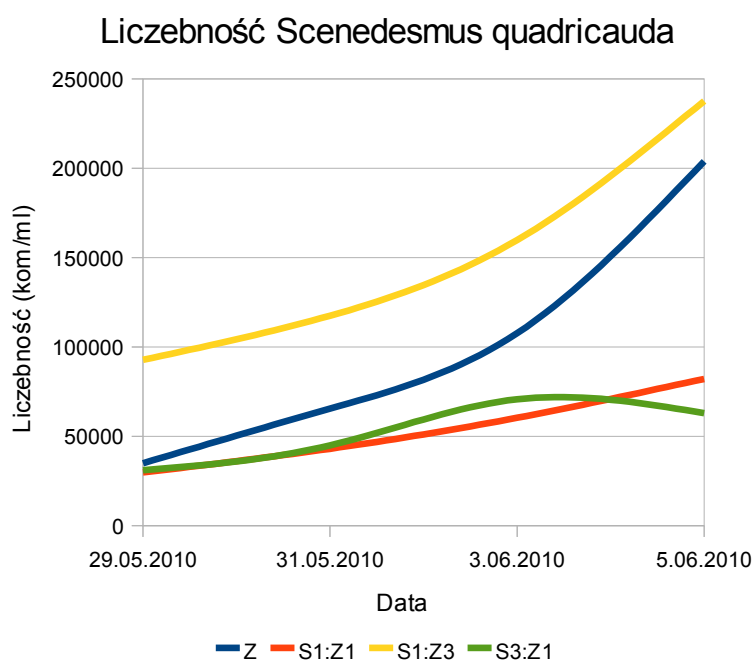
Ryc. 98. Liczebność sinicy *Oscillatoria* sp. (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 99. Liczebność zieleńnicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 100. Liczebność sinicy *Oscillatoria* sp. (kom./ml) (2 seria)



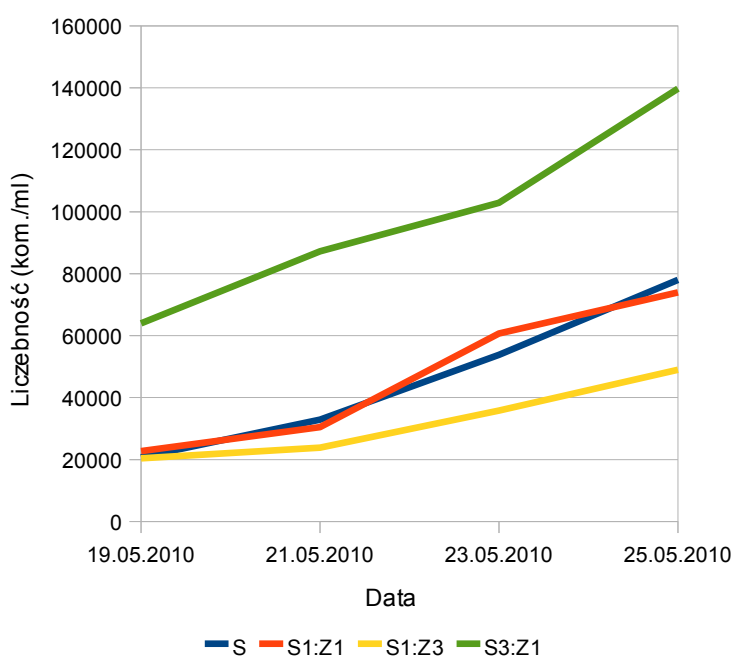
Ryc. 101. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)

4.4.8. Wpływ sinicy *Planktothrix agardhi* na rozwój zielenicy *Scenedesmus quadricauda*

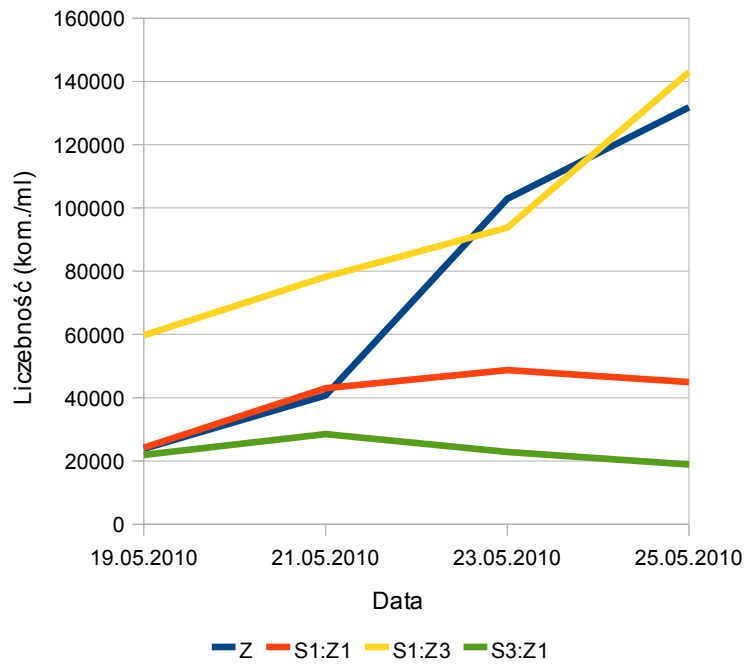
Tempo wzrostu zielenicy *S. quadricauda* było wyraźnie niższe w większości prób z obecnością sinicy *P. agardhii*. W teście, w którym stosunek sinicy do zielenicy wynosi 3:1

liczba komórek zielenicy w ostatnim dniu testu jest mniejsza niż na jego początku w doświadczeniu pierwszym (załącznik 81) i zbliżona do wyjściowej w serii 2 (załącznik 82). W próbach mieszanych zdominowanych przez zielenice (S1:Z3) początkowo można było zaobserwować stymulację ich rozwoju, jednak po czterech dniach trwania testu liczebność *S. quadricauda* zrównała się z kontrolą (ryc. 103 i 105).

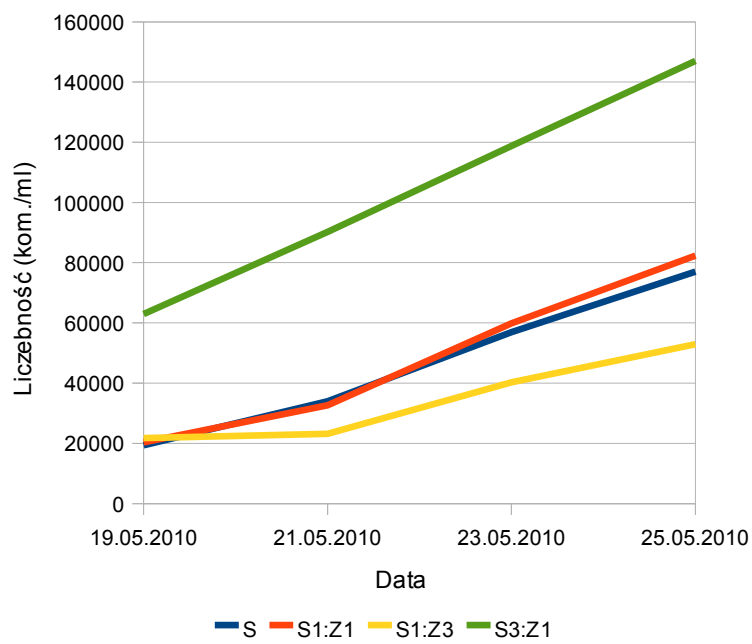
Rozwój sinicy w próbach mieszanych w zasadzie uległ niewielkiemu spowolnieniu, jednak w próbie zdominowanej przez *Planktothrix agardhi* (S3:Z1) zaobserwować było można wyraźną stymulację jego rozwoju (ryc. 102 i 104).



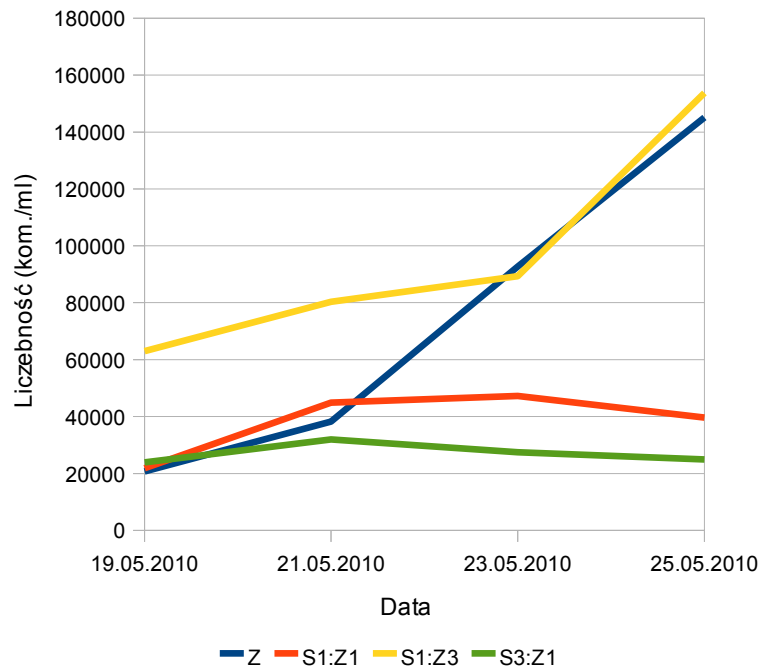
Ryc. 102. Liczebność sinicy *Planktothrix agardhi* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 103. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 104. Liczebność sinicy *Planktotrrix agardhi* (kom./ml) (2 seria)

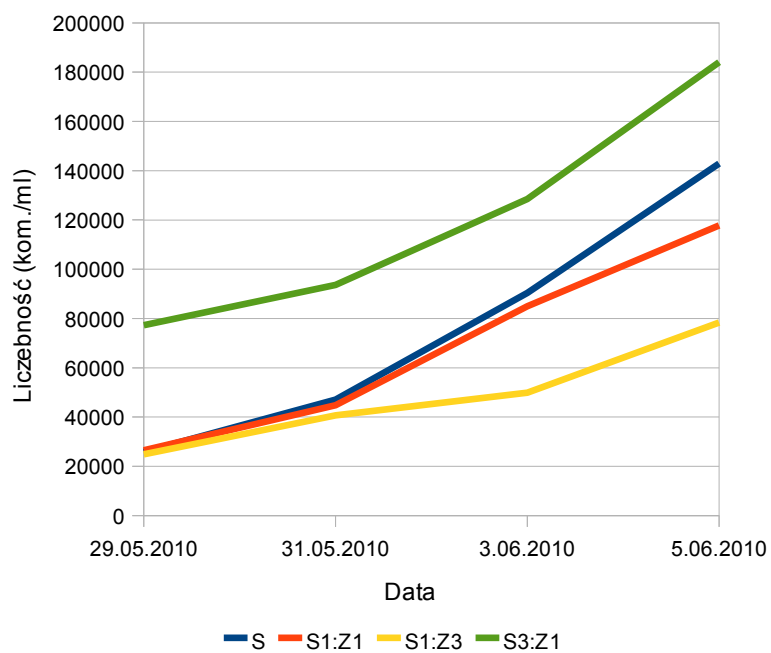


Ryc. 105. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)

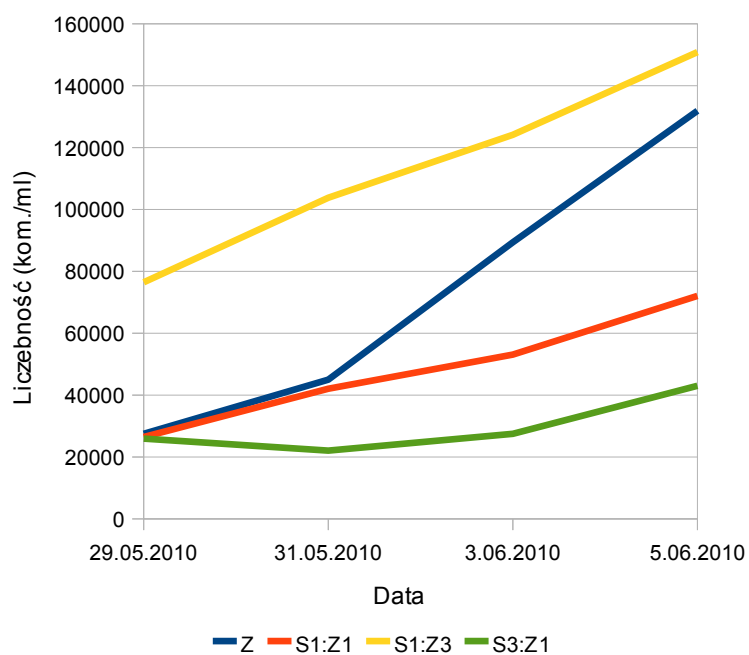
4.4.9. Wpływ sinicy *Synechocystis* sp. na rozwój zielenicy *Scenedesmus quadricauda*

Synechocystis sp. wyraźnie wpływał na zahamowanie wzrostu *S. quadricauda*. Jedynie w próbie, w której w pierwszym dniu liczebność zielenicy była 3 razy większa od testowanego gatunku sinicy, *S. quadricauda* osiągał liczebność wyższą niż sinica (załącznik 83 i 84). Najsilniejsze hamowanie rozwoju zielenicy miało miejsce w próbie mieszanej zdominowanej przez sinicę (S3:Z1) (ryc. 107 i 109).

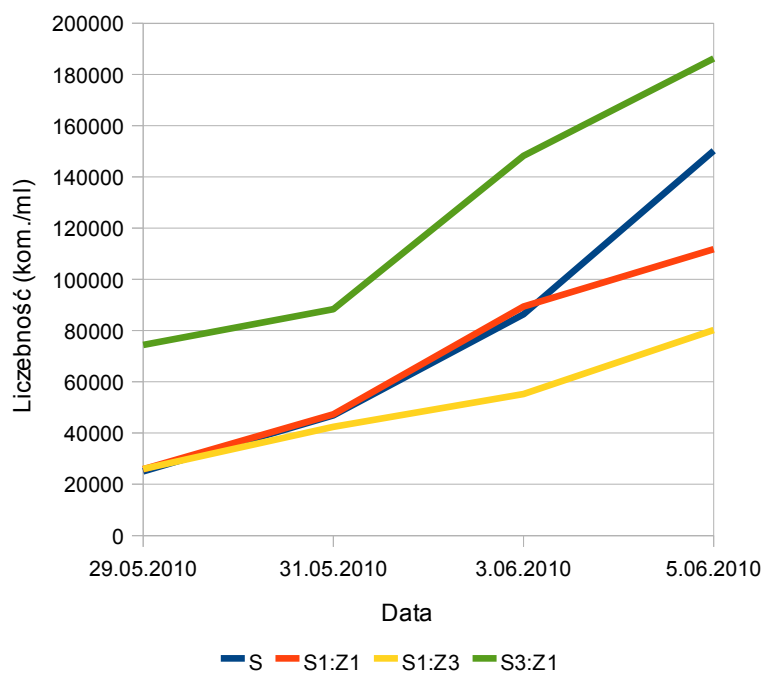
Rozwój *Synechocystis* sp. przebiegał podobnie do *S. quadricauda*, choć hamowanie rozwoju sinicy w próbach zdominowanych przez zielenicę nie było tak intensywne (ryc. 106 i 108). Wyraźną stymulację rozwoju *Synechocystis* sp. można było zaobserwować w próbach mieszanych, zdominowanych przez tę sinicę (106 i 108).



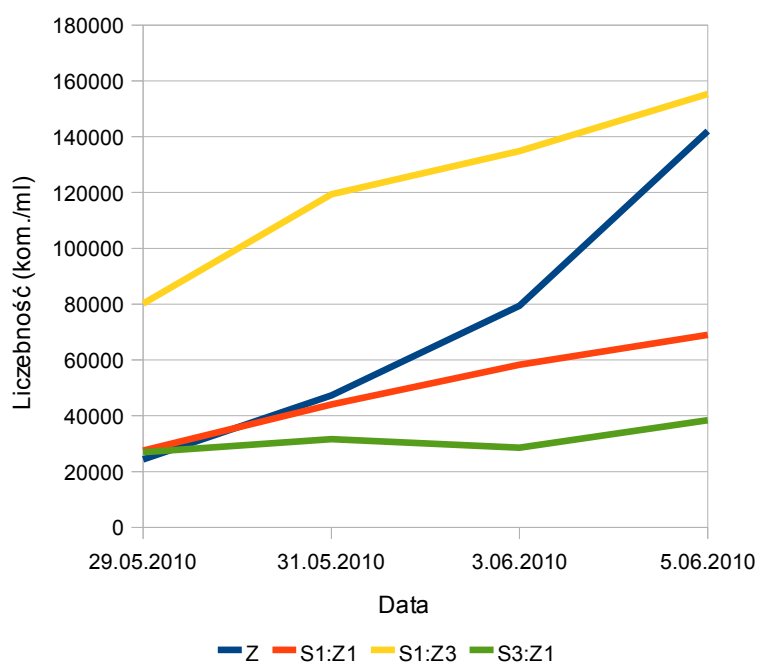
Ryc. 106. Liczebność sinicy *Synechocystis* sp. (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 107. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)



Ryc. 108. Liczebność sinicy *Synechocystis* sp. (kom./ml) (2 seria)



Ryc. 109. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)

5. Dyskusja

5.1. Badanie próbek środowiskowych

W zdecydowanej większości spośród 96 przebadanych prób zaobserwowano masowe pojawienie się sinic, czyli ponad 1000 osobników na 1 ml wody (Starmach, 1976). Jedynie w 2 próbach liczebność cyjanobakterii nie przekroczyła powyższej wartości, miało to miejsce w próbach pobranych z Jeziora Biezdruchowskiego w lipcu 2007 roku oraz w czerwcu 2008 roku. W obu wyżej wymienionych próbach nie wykryto badanych hepatotoksyn. Gatunkami dominującymi były w nich *Planktothrix prolifica* oraz *Planktothrix agardhi* w roku 2007 i *Chroococcus minimus* w roku 2008, a więc gatunki potencjalnie toksyczne (Wiedner i in. 2001). Brak toksyn w wodzie związany był prawdopodobnie ze zbyt małą liczebnością tych gatunków lub występowaniem szczepów nietoksycznych.

We wszystkich pobranych próbach udało się oznaczyć łącznie 29 gatunków sinic. Najwięcej gatunków pochodziło z rodzajów *Anabaena* oraz *Aphanizomenon*, spośród których wiele gatunków wytwarza toksyny (Mazur-Marzec i in. 2009). Największa różnorodność gatunków została stwierdzona w Jeziorze Dymaczewskim (17) oraz w Jeziorze Kórnickim (15), nie miało to jednak przełożenia na stężenie mikrocytyn w wodzie.

Według proponowanego limitu toksycznych zakwitów sinicowych na kąpieliskach, wyróżnia się trzy stopnie zagrożenia (Falconer i in., 1999, Tarczyńska i Mankiewicz 2003, Mankiewicz i in., 2004). Spośród pobranych prób 53 kwalifikuje się do I stopnia zagrożenia. Są to próby z kąpielisk znajdujących się na jeziorach najbardziej podatnych na degradację i zeutrofizowanych. Na I stopień zagrożenia, w którym liczebność sinic wynosi ponad 20 000 komórek/ml wody, wskazują wszystkie próby z jezior: Bnińskiego, Kórnickiego, Strykowskiego oraz 10 prób z jeziora Malta, 11 prób z Jeziora Niepruszewskiego i 2 próby z jeziora Rusalka. Do II stopnia zagrożenia (ponad 100 000 komórek/ml wody) oraz III stopnia zagrożenia (kożuch sinicowy) nie zakwalifikowano żadnej próby. Według autorów proponowanego limitu przy I stopniu zagrożenia można się spodziewać 2-4 $\mu\text{g l}^{-1}$ mikrocytyn, jeżeli w wodzie dominują sinice odpowiedzialne za produkcję hepatotoksyn, a przy II stopniu zagrożenia 20-50 $\mu\text{g l}^{-1}$ mikrocytyn, jeżeli w wodzie dominują sinice z rodzaju *Microcystis*. Przy dominacji sinic z rodzaju *Planktothrix* poziom toksyczności może być dwukrotnie wyższy.

W próbach z monitorowanych jezior o I stopniu zagrożenia nie wykryto aż tak wysokich stężeń mikrocytyn. Ich wartość mieściła się w zakresie od 0.000 do 0,910 $\mu\text{g l}^{-1}$. Najwyższą z podanych wartości wykryto w jeziorze Rusalka w sierpniu 2007 roku, kiedy w składzie

gatunkowym sinic dominowała *Lyngbya limnetica*, *Pseudanabaena limnetica* oraz z mniejszą liczebnością *Planktothrix agardhi*, a więc gatunki produkujące mikrocytyny (Sivonen 1990, Sivonen 1996, Bertram i Chorus 1999, Keil i in. 2002, Wolf i Frank 2002).

Najwyższe stężenie mikrocytyn badania przeprowadzone na HPLC wykazały w Jeziorze Biezdruchowskim 23 lipcu 2008. Wynosiło ono 1,126 $\mu\text{g l}^{-1}$, mimo że liczebność sinic była niższa niż w jeziorach o I stopniu zagrożenia.

W ciągu 4 lat badań w Jeziorze Biezdruchowskim procentowy udział sinic w fitoplanktonie wynosił od 4 do 22%. Maksymalna liczebność fitoplanktonu wyniosła 22664 kom./ml w próbie pobranej 23 lipca 2008 roku, w której stwierdzono maksymalną ilość mikrocytyn, natomiast maksymalna liczebność sinic wyniosła 4928 kom./ml w próbie pobranej dwa tygodnie wcześniej (9 lipca 2008 roku). W składzie gatunkowym fitoplanktonu Jeziora Biezdruchowskiego wyróżniono aż 13 gatunków sinic, we wszystkich latach gatunkiem uzyskującym zawsze wysoką liczebność był *Chroococcus minimus*. W latach 2007-2009 drugim podstawowym gatunkiem był *Planktothrix prolifica*. Stosunkowo wysoką liczebność uzyskiwały również w latach 2007-2008 *Lyngbya limnetica* oraz w roku 2008 *Microcystis aeruginosa* i *Planktothrix agardhi*, a więc gatunki znane z produkcji cyjanotoksyn (Sivonen 1990, Sivonen 1996, Bertram i Chorus 1999, Keil i in. 2002, Wolf i Frank 2002). Mimo to, jedynie w dwóch próbach pobranych z omawianego jeziora stwierdzono obecność badanych mikrocytyn. W próbie z 7 sierpnia 2007 roku stężenie to wyniosło 0,456 $\mu\text{g l}^{-1}$, w tym 0,446 $\mu\text{g l}^{-1}$ stanowiła mikrocytyna-LR, podczas gdy mikrocytyna-RR została stwierdzona w minimalnym stężeniu. W końcu lipca 2008 roku stężenie mikrocytyn wynosiło 1,126 $\mu\text{g l}^{-1}$, przy czym aż 0,889 $\mu\text{g l}^{-1}$ stanowiła mikrocytyna-LR, a pozostałą wartość mikrocytyna-YR. W obu próbach, w których stwierdzono obecność toksyn, dominowały gatunki *Chroococcus minimus* oraz *Lyngbya limnetica*, dodatkowo w roku 2007 stosunkowo wysoką liczebność uzyskał *Planktothrix prolifica*, a w roku 2008 *Planktothrix agardhi*. Skład gatunkowy próby z 2007 roku wyróżniał się od pozostałych obecnością niewielkiej liczby *Anabaena spiroides* f. *minima*, być może jej obecność była odpowiedzialna za obecność którejś toksyny w próbie. W toksycznej próbie z roku 2008 natomiast pojawił się *Microcystis wesenbergii*. Rodzaj *Microcystis* jest najpowszechniejszym producentem toksyn (Carmichael i in. 1988, Znachor i in. 2006), jednak gatunek *M. wesenbergii* na podstawie badań niemieckich badaczy nie posiada genów odpowiedzialnych za produkcję toksyn (Kurmayer i in. 2002). Pod względem fizykochemicznym próby wody z omawianego jeziora charakteryzowało wysokie natlenienie, lekko zasadowy odczyn oraz wysokie przewodnictwo, co świadczy o wysokiej trofii jeziora i intensywnie prowadzonym procesie produkcji pierwotnej (Lampert i Sommer 2001).

Wszystkie próby pobrane z Jeziora Bnińskiego zawierały sinice w liczbie powyżej 20000 kom./ml. Maksymalna liczebność sinic wynosiła 88901 kom./ml w próbie z 21 sierpnia 2008 roku, jednocześnie w tej samej próbie sinice osiągnęły najwyższy udział procentowy w ogólnej liczbie fitoplanktonu (83%). W omawianym zbiorniku nie odnotowano obecności najpowszechniejszego gatunku w naszych wodach produkującego mikrocytyny, czyli *Microcystis aeruginosa* (Grabowska 1998, Mazur i in. 2003). Mimo to, w połowie prób potwierdzono obecność mikrocytyn. Maksymalne stężenie toksyn stwierdzono w próbie z końca lipca 2007 roku i wyniosło ono $0,890 \mu\text{g l}^{-1}$, w pozostałych próbach z cyjanotoksynami wahało się ono w zakresie $0,050 - 0,620 \mu\text{g l}^{-1}$. We wszystkich próbach z zawartością mikrocytyn gatunki *Limnothrix redeckei* i *Planktothrix agardhi* uzyskiwały w poszczególnych latach swoją maksymalną liczebność i to one prawdopodobnie były odpowiedzialne za produkcję toksycznych metabolitów w tym jeziorze. *Limnothrix redeckei* jest podawany w literaturze jako jeden z głównych producentów hepatotoksyn (Wolf i Frank, 2002), stężenie mikrocytyn dochodziło do $3,0 \mu\text{g l}^{-1}$ podczas zakwitów sinic z jego dominacją w jeziorze w Bourg Blanc we Francji. Natomiast *P. agardhi* to jeden z powszechniejszych gatunków tworzących toksyczne zakwity wody w naszej strefie klimatycznej (Wieder i in. 2001, Pawlik-Skowrońska i in. 2004, Stefaniak i in. 2005).

Ogólna liczebność fitoplanktonu w Jeziorze Dymaczewskim nie przekroczyła w okresie badań 40 000 kom. na 1 ml wody, przy czym sinice osiągnęły maksymalną liczebność 14 839 kom./ml w próbie z 21 sierpnia 2008 roku. W jeziorze tym stwierdzano wcześniej silniejsze zakwity sinicowe, np. dwukrotnie większą liczebność sinice osiągnęły w sierpniu 2004 roku (Zagajewski i in. 2007). Procentowy udział sinic w ogólnej liczbie komórek fitoplanktonu wynosił od 16% w lipcu 2007 roku do 40% w sierpniu 2007 roku. Zarówno liczebność sinic, jak i procentowy ich udział, zwiększał się w czasie sezonu wegetacyjnego obydwu lat badań, osiągając maksymalne wartości w sierpniu. Skład gatunkowy sinic w Jeziorze Dymaczewskim był najbogatszy spośród monitorowanych jezior. Rozróżniono 17 gatunków sinic, a wśród nich *Anabenopsis cuningtonii*, *Aphanizomenon aphanizomenoides*, *Cuspidothrix* sp., *Cylindrospermopsis raciborskii* i *Raphidiopsis mediterranea*. Są one uznawane za gatunki inwazyjne, stosunkowo rzadko podawane z terenu Polski (Stefaniak i Kokociński 2005). We wszystkich próbach dominowały gatunki nitkowate: *Planktothrix agardhi*, *Pseudanabaena limnetica*, *Lyngbya limnetica*, znane z produkcji toksyn (Willame i in. 2005). Nic więc dziwnego, że tylko w jednej próbie pobranej z jeziora nie stwierdzono obecności mikrocytyn, t.j. w próbie z 10 lipca 2007 roku. W porównaniu z pozostałymi próbami gatunki trzech nitkowatych sinic wystąpiły w niej w najmniejszej liczebności, co tłumaczy uzyskany wynik. Maksymalne stężenie mikrocytyny osiągnęły w próbach z roku

2006, z 23 sierpnia – 0,955 $\mu\text{g l}^{-1}$, z 9 sierpnia – 0,812 $\mu\text{g l}^{-1}$. W roku 2007 były one nieco niższe, osiągając maksymalną wartość również w końcu lata – 21 sierpnia, gdy stężenie mikrocytyn wyniosło 0,760 $\mu\text{g l}^{-1}$. Osiąganie coraz większych wartości przez mikrocytyny w kolejnych próbach pobieranych w ciągu lata było również stwierdzone w zbiorniku Bautzen (Benndorf i Henning 1989, Jähnichen i in. 2001). Było to spowodowane zmianą składu gatunkowego oraz zwiększającym się w ciągu lata udziałem szczepów toksycznych, w stosunku do nietoksycznych. Dominującą mikrocytyną występującą w próbach była MC-RR, nie potwierdzono obecności MC-YR, natomiast najpospolitsza i najbardziej toksyczna MC-LR wystąpiła tylko w jednej próbie z 24 lipca 2007, gdy jej stężenie wyniosło jedynie 0,043 $\mu\text{g l}^{-1}$. W poprzednich latach badań również dominowała MC-RR osiągając w roku 2004 stężenie 0,8 $\mu\text{g l}^{-1}$ przy ogólnej zawartości mikrocytyn wynoszącym 1,4 $\mu\text{g l}^{-1}$ (Zagajewski i in. 2007). Gosh i in. (2008) sugerują, że dominacja MC-RR jest typowa dla wód tropikalnych, podczas gdy MC-LR dla jezior strefy umiarkowanej. Być może ma to związek ze stwierdzonymi w jeziorze tropikalnymi gatunkami inwazyjnymi.

W 12 próbach z Jeziora Kierskiego procentowy udział sinic wynosił od 14 do 42%, najwyższy udział zaobserwowano w próbie z końca sierpnia 2006 roku. W tej samej próbie sinice osiągnęły również największą liczebność spośród przebadanych prób – 9422 komórki w 1 ml wody. W ciągu 4 lat badań odnotowano jedynie 9 gatunków sinic. W poszczególnych próbach największe liczebności osiągały gatunki z rodzaju *Chroococcus* oraz *Lyngbya limnetica* i *Pseudanabaena limnetica*. W dwóch ostatnich latach badań pojawiły się 2 gatunki wcześniej nie obserwowane: *Cylindrospermopsis raciborskii* oraz gatunek uznawany za jednego z ważniejszych producentów mikrocytyn – *Microcystis aeruginosa* (Codd 1995, Faster i in. 1995, Lahti i in. 1997, Rogalska-Kupiec, Bochnia 1998, Codd 2000, Oudra i in., 2000). Mikrocytyny zostały stwierdzone tylko w 4 próbach z Jeziora Kierskiego, a maksymalne stężenie osiągnęły 5 sierpnia 2008 roku – 0,404 $\mu\text{g l}^{-1}$. Skład gatunkowy prób z potwierdzoną obecnością toksyn nie odbiegał od składu prób bez toksyn, natomiast w próbach tych sinice występowały w największej liczebności. Również niespodziewanie wysokie stężenie mikrocytyn stwierdzono w omawianym jeziorze w sierpniu 2004 r. – 1,6 $\mu\text{g l}^{-1}$ (Zagajewski i in. 2007). W próbie z tego zbiornika występowało jedynie 2746 komórek sinic na 1ml wody, a dominowały gatunki z rodzaju *Aphanizomenon*. Stosunkowo wysoką liczebność osiągnął jednak, podobnie jak w badanych obecnie próbach, gatunek toksyczny *Lyngbya limnetica* (Faster i in. 1995) i to on jest zapewne odpowiedzialny za dużą toksyczność prób. Wskaźniki fizyko-chemiczne w próbach z zawartością mikrocytyn nie odbiegały zasadniczo od pozostałych, charakteryzowały się jednak stosunkowo wysokim pH i przewodnictwem elektrolitycznym oraz dużym natlenieniem. Wskazuje to na intensywny

rozwój fitoplanktonu (faza wzrostu logarytmicznego), w trakcie którego produkcja toksyn przez sinice jest największa (Jähnichen i in. 2001). Temperatura wody zawierała się w granicach 21,3 do 24,9°C, co dodatkowo sprzyjało rozwojowi sinic (Shapiro 1990).

We wszystkich próbach pobranych w ciągu dwóch lat badań z Jeziora Kórnickiego dominowały sinice, których liczebność maksymalnie wyniosła 97 540 kom. w 1 ml wody (w próbie z 23 lipca 2008 roku). Procentowy udział sinic w fitoplanktonie mieścił się w zakresie 61-88%. Zarówno liczebność, jak i procentowy udział sinic w składzie fitoplanktonu były wyraźnie wyższe w roku 2008, niż w 2009, wpływ na to może mieć m.in. niższa temperatura wody w roku 2009. Skład gatunkowy był bardzo różnorodny, wyróżniono 15 gatunków sinic z czego najliczniej występował *Planktothrix agardhi*, gatunkami współdominującymi były *Limnothrix redeckei*, *Lyngbya limnetica* oraz *Pseudanabaena limnetica*. Gatunki te prawdopodobnie odpowiedzialne były za obecność cyjanotoksyn w jeziorze, gdyż znane są doniesienia o ich toksyczności (m.in. Wiedner i in. 2001, Wolf i Frank 2002). Poza próbą z czerwca 2008 roku, we wszystkich próbach stwierdzono obecność inwazyjnego gatunku *Cylindrospermopsis raciborski*, który mimo zmniejszonej liczebności sinic w roku 2009, osiągnął minimalnie większą liczebność niż w roku ubiegłym. Świadczyć to może o niebezpieczeństwie zwiększania się populacji tego inwazyjnego gatunku w kolejnych latach. Mikrocyстыны wystąpiły w 4 próbach, maksymalne stężenie osiągając w próbie z 6 sierpnia 2008 roku – 0,842 $\mu\text{g l}^{-1}$. W próbie tej nastąpiło zmniejszenie liczebności sinic (głównie potencjalnie toksycznych) w porównaniu z próbą z końca lipca, co może świadczyć o uwolnieniu toksyn do wody podczas obumierania ich komórek. W roku 2009 stężenie mikrocyстыны było wyraźnie niższe, wynika to z około dwukrotnie mniejszej liczebności sinic. Również wszystkie badane wskaźniki fizyczno-chemiczne miały w roku 2009 niższe wartości, co ma bezpośredni związek z mniejszą ilością fitoplanktonu.

W 12 próbach z jeziora Malta procentowy udział sinic w ogólnej liczbie komórek fitoplanktonu wahał się od 65 do 89%. Największą liczebność sinice uzyskały w próbach z roku 2006, powyżej 60000 komórek na 1 ml wody. Najmniejszą liczebność uzyskały one w próbach z roku 2008. W ciągu 4 lat badań w Zbiorniku Maltańskim zidentyfikowano 10 gatunków sinic. Najliczniej występowały: *Aphanizomenon flos-aquae*, *Planktothrix agardhi* oraz *Pseudanabaena limnetica*. Obecność *A. flos-aquae* może świadczyć o obecności na kąpielisku neurotoksyn (anatoksyna-a, saksitoksyna) (Codd 1995, Rogalska-Kupiec, Bochnia 1998, Codd 2000). Neurotoksyny mogą również być produkowane przez obecne w zbiorniku sinice z rodzaju *Anabaena* (Main 2004). Maksymalne stężenie mikrocyстыны stwierdzono w próbie z 8 sierpnia 2006 roku, wyniosło ono 0,765 $\mu\text{g l}^{-1}$. W pozostałych próbach stężenie toksyn było zdecydowanie niższe i wahało się w zakresie od 0,009 do 0,209 $\mu\text{g l}^{-1}$. W

poszczególnych latach skład gatunkowy sinic w próbach z toksynami nie odbiegał znacząco od pozostałych prób, jedynie w roku 2008 w próbie z cyjanotoksynami pojawił się gatunek *Microcystis aeruginosa*, a *Planktorhrix agardhi* osiągnął zdecydowanie największą liczebność. Są to główni producenci mikrocytyn (Carmichael i in 1988, Wiedner i in. 2001). *M. aeruginosa* już w poprzednich latach powodował toksyczność zakwitu w jeziorze Malta. We wrześniu 2005 roku osiągnął on liczebność ponad 100 000 kom./ml wody, a poziom mikrocytyn przekroczył 6 $\mu\text{g l}^{-1}$ (Zagajewski i in. 2007).

Jezioro Niepruszewskie charakteryzowało się wysokim udziałem sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu, we wszystkich próbach pobranych w ciągu 4 lat badań. Udział procentowy sinic wynosił od 74% do 94%. Maksymalna liczebność sinic wyniosła 47549 kom. ml^{-1} wody w próbie z 17 sierpnia 2009 roku. Skład gatunkowy sinic był stosunkowo ubogi, wyróżniono jedynie 6 gatunków. W ciągu 4 lat badań pojawiały się te same gatunki sinic, z których wyraźną dominację osiągnął *Limnothrix redeckeii* oraz *Planktothrix agardhi*. Stabilność składu gatunkowego potwierdzają wcześniejsze badania z lat 2004-2005 (Zagajewski i in. 2007). Mikrocytyny zostały stwierdzone we wszystkich, poza jedną, próbach pobranych z jeziora. W roku 2006 największe stężenie miała mikrocytyna-RR, w pozostałych próbach mikrocytyna-LR, natomiast nie stwierdzono obecności mikrocytyny-YR. We wszystkich próbach stężenie toksyn nie przekroczyło maksymalnego poziomu 0,354 $\mu\text{g l}^{-1}$ uzyskanego w próbie z 20 lipca 2009 roku. W próbie z czerwca 2008 roku nie wykryto toksyn, co mogło być spowodowane stosunkowo niedużą liczebnością gatunku *Planktothrix agardhi*, znanego z efektywnej produkcji mikrocytyn (Wiedner i in. 2001). Bardziej prawdopodobna jest jednak mała liczebność toksycznych szczepów sinic na początku sezonu wegetacyjnego, na co zwracają uwagę Benndorf i Henning (1989).

Procentowy udział sinic w ogólnej liczbie fitoplanktonu Jeziora Rusalka wynosił od 30% do 75%. W ciągu 4 lat badań najwyższy udział sinic odnotowano w sierpniu 2009 roku, kiedy to ich liczebność wyniosła 23947 komórek na 1 ml wody. Skład gatunkowy sinic w omawianym zbiorniku był stosunkowo bogaty, wyróżniono 12 gatunków sinic z czego najliczniej występowały: *Lyngbya limnetica*, *Pseudanabaena limnetica* oraz gatunki z rodzaju *Aphanizomenon*. W roku 2009 stosunkowo dużą liczebność uzyskał również gatunek *Planktothrix agardhi*. We wszystkich latach badań obserwowany był również gatunek inwazyjny *Cylindrospermopsis raciborski*. Skład gatunkowy w poszczególnych latach różnił się nieznacznie. W roku 2006 oraz 2008 nie stwierdzono obecności mikrocytyn w pobranych próbach. W dwóch próbach z roku 2007 oraz obu pobranych w roku 2009 były obecne toksyny. Próby te wyróżniała stosunkowo duża liczebność potencjalnie toksycznej sinicy *P. agardhi* (Wiedner i in. 2001, Mazur i in. 2009). Maksymalne stężenie mikrocytyn

odnotowano w próbie z 21 sierpnia 2007 roku, wyniosło ono 0,910 $\mu\text{g l}^{-1}$. W próbie tej sinice osiągnęły najwyższą liczebność w 2007 roku. W próbie tej nie obserwowano *L. redeckei*, obecnej we wcześniejszych próbach, a więc toksyny mogły być uwolnione do wody podczas lizy komórek ustępującego gatunku.

We wszystkich próbach z Jeziora Strykowskiego sinice były dominującymi taksonami. Maksymalna liczebność sinic wynosiła 55039 kom./ml w próbie z 4 sierpnia 2008 roku. W ciągu badań stwierdzono obecność jedynie 7 gatunków sinic w jeziorze, skład gatunkowy był stabilny i powtarzalny przez cały okres badań, potwierdzają to badania z wcześniejszych lat (Zagajewski i in. 2007). W zbiorniku występowały jedynie gatunki nitkowate, z których najwyższe liczebności uzyskiwały *Lyngbya limnetica*, *Planktothrix agardhi* oraz *Pseudanabaena limnetica*, gatunki powszechnie uważane za producentów mikrocyzyn (Wiedner i in. 2001). Mikrocyzyny zostały wykryte tylko w jednej próbie z roku 2007 oraz dwóch próbach pobranych w 2008 roku. Prawdopodobnie więc w zbiorniku w różnych okresach dochodziło do okresowych dominacji szczepów sinic toksycznych i nie posiadających zdolności produkcji mikrocyzyn (Sivonen i Jones 1999). W 2007 roku stężenie mikrocyzyn było najniższe i wyniosło 0,229 $\mu\text{g l}^{-1}$, przy najwyższym stężeniu w próbie z sierpnia 2008 roku, wynoszącym 0,826 $\mu\text{g l}^{-1}$. W toksycznej próbie z 2007 roku maksymalną liczebność uzyskał potencjalnie toksyczny gatunek *Planktothrix agardhi*, tak samo jak w próbach zawierających toksyny z roku 2008.

Stosunkowo małe stężenie mikrocyzyn w monitorowanych jeziorach, w porównaniu z danymi podawanymi przez innych autorów, może być spowodowane niesprzyjającymi warunkami i brakiem czynników stymulujących produkcję toksyn sinicowych. Średnia temperatura wody nie przekroczyła w okresie monitoringu 25°C, podczas gdy optymalna temperatura wzrostu jednej z odmian *Microcystis aeruginosa* wynosi 32°C (Tarczyńska, za Watanabe i Oishi, 1994). Optymalne warunki wzrostu i produkcji toksyn następują w obecności cynku i żelaza. Natomiast przy małych stężeniach lub braku żelaza (Fe) komórki *M. aeruginosa* wzrastają wolno, ale produkują 20-40% więcej toksyny (Lukac i Aegerter 1993).

Cyjanotoksyny wydzielane są do wody głównie wówczas, gdy komórki giną lub starzeją się i tracą swoją zawartość (Tarczyńska i Zalewski, 1994). Małe stężenie mikrocyzyn w omawianych próbach mogło być więc spowodowane poborem prób do analizy w okresie, kiedy komórki sinic nie ulegały degradacji.

Pojawienie się coraz większej liczby obserwowanych komórek na 1 ml wody gatunku *Cylindrospermopsis raciborski*, może doprowadzić do pojawienia się w jeziorach groźnej cylindrospermopsyny. Gatunek ten był obserwowany w pięciu jeziorach, jednak jego

liczebność nie przekroczyła 4000 komórek/ml wody. Jak podają Saker i Griffiths (2001) gatunek ten często tworzy również trudniejsze do wykrycia masowe zakwity w wodzie na głębokości 2-3m. Wg danych literaturowych cylindrospermopsyna jest wykrywana w wodzie przy 15 000 komórek *C. raciborskii* na 1 ml wody, a przy 20 000 komórek/ml wody może osiągnąć ona wartość 1 $\mu\text{g l}^{-1}$ (McGregor i Fabbro, 2000). Ze względu na inwazyjność tego gatunku (Druart i Briand 2002, Stefaniak i Kokociński 2005, Fastner i in. 2007) ryzyko wystąpienia cylindrospermopsyny w niedalekiej przyszłości jest bardzo prawdopodobne.

Stężenia mikrocystyn obserwowane w monitorowanych jeziorach mimo niskiej wartości mogą prowadzić do poważnych zaburzeń w ekosystemie wodnym. Potencjalne ryzyko potwierdzają doniesienia z różnych stron świata. W 1999 roku miało miejsce tragiczne zdarzenie nad jeziorem Bogoria w Afryce. Podczas gorącego lata wystąpiły masowe pojawy sinic z gatunku *Arthrospira fusiformis*. W wyniku tego zginęło 30 000 flamingów. Flamingi spożywały średnio 72 g suchej masy sinic dziennie. Wysoka koncentracja anatoksyny-a oraz mikrocystyny w żołądkach martwych ptaków wskazuje na zatrucie hepatotoksynami i neurotoksynami, jako główną przyczynę śmierci ptaków (Krientz i in., 2003). W poznańskim Ogrodzie Zoologicznym również dochodziło do śmierci flamingów w roku 2002, gdy w stawach przeznaczonych dla ptaków wodnych wystąpił bardzo silny zakwit sinic (Gołdyn, inf. ustna). W jeziorze Aculeo podczas zakwitu *Microcystis aeruginosa* masowo ginęły ryby z gatunków *Odontesthes bonariensis* Valenciennes oraz *Cyprinus caprio* Linneo. Laboratoryjnie udowodniono, że mikrocystyna-LR podczas oddziaływania na skrzela hamuje enzym ATPazę, odpowiedzialny za transport jonów Ca^{2+} i $\text{Na}^{+}+\text{K}^{+}$. Prowadzi to do blokowania funkcji skrzeli, czego rezultatem jest zakłócenie ważnych mechanizmów zaangażowanych w zachowanie homeostazy. Do całkowitej inhibicji enzymów dochodziło przy stężeniu mikrocystyny na poziomie 4 $\mu\text{g/ml}$ wody (Zambrano i Canelo, 1996). Jest to jednak stężenie kilkakrotnie wyższe od odnotowanych w omawianych jeziorach.

Woda z niektórych monitorowanych zbiorników (J. Bnińskie, J. Strykowskie) jest wykorzystywana do nawadniania terenów uprawnych. Może prowadzić to do poważnych konsekwencji, ponieważ toksyny produkowane przez sinice wpływają negatywnie na rozwój roślin uprawnych. Podczas podlewania wodą zawierającą mikrocystyny upraw ziemniaków *Solanum tuberosum* i fasoli *Phaseolus vulgaris* następowało zahamowanie wzrostu roślin. W Chinach, gdzie problem toksycznych zakwitów sinic jest bardzo powszechny, dochodzi do zahamowania wzrostu uprawianych na dużą skalę ryżu i rzepaku. Testowano wpływ mikrocystyn w stężeniach 3, 0,6 i 0,12 $\mu\text{g/ml}$ wody na wzrost ryżu (*Oryza sativa*) i rzepaku (*Brassica napus*). Przy dawce najniższej nie zaobserwowano żadnych widocznych zmian w sadzonkach ryżu. Przy dawce powyżej 0,6 $\mu\text{g/ml}$ sadzonki miały krótsze pędy, a przy

wzroście dawki do 3 µg/ml ryż nie wykształcał korzeni pierwotnych. W przypadku rzepaku już przy dawce 0,12 µg/ml następowało brązowienie pędów, a przy dawce 3 µg/ml następowała całkowita nekroza sadzonki (Chen i in., 2004).

Niski poziom mikrocytyn w monitorowanych zbiornikach nie musi świadczyć o realnie niskim zagrożeniu toksykologicznym. Wśród cyanobakterii występujących na kąpieliskach w Poznaniu i okolicy poza gatunkami produkującymi hepatotoksyny, mamy zapewne do czynienia z producentami groźnych neurotoksyn (anatoksyn i saksitoksyn). Poziom mikrocytyn w próbie nie zawsze bowiem odpowiada jej toksyczności. Badania przeprowadzone na *Planktothrix agardhii* wykazały brak korelacji pomiędzy produkowaniem przez różne szczepy mikrocytyn, a ich toksycznością. Szczep NIVA 34 nie produkujący żadnych mikrocytyn, wykazywał największą toksyczność (Keil i in. 2002).

5.2. Izolacja DNA

Coraz częściej do identyfikacji organizmów stosuje się technikę PCR (łańcuchową reakcję polimeryzacji). Umożliwia ona specyficzną amplifikację odcinków DNA i RNA, przepisanych na cDNA, dzięki wykorzystaniu dwóch starterów komplementarnych do sekwencji docelowej. Zaletą tej metody jest jej czułość zapewniająca precyzję (która niweluje problemy związane ze zmiennością fenotypową) oraz szybkość (Neilan 2002, Słomski i in. 2008).

Do identyfikacji gatunków zostały wykorzystane zarówno obszary ITS jak i 16S rRNA. Pierwsze, amplifikowano za pomocą starterów 322F i 340R, natomiast do rejonów 16S rRNA użyto kilku zestawów starterów, w celu weryfikacji ich skuteczności.

Zestaw pierwszy, w którego skład wchodziły startery: CYA359F oraz 23S30R, proponował Koskenniemi (2007), wykonujący analizy na *Nodularia* sp. Podjęto próbę amplifikacji rejonów 16S rRNA na dziesięciu hodowlach. Efekt, w postaci prążka na 1% żelu agarozowym, otrzymano w przypadku 90% matryc. Dominowały sekwencje bardzo dobre o długości przekraczającej 1470pz. Starter 5' sprawdził się również w połączeniu z 781R, choć otrzymane sekwencje były zdecydowanie krótsze (383-517pz.). Produkty amplifikacji otrzymano w 60% przypadków. 70% uzyskano przy zastosowaniu 16S27F i 23S30R, jednak jakość uzyskanych sekwencji nie była zadowalająca. Stosowany starter 3' dał efekt zadowalający tylko w przypadku jednej sekwencji.

Zastosowanie CYA106F w zestawie z 781R, nie dało efektów. Spowodowane było to prawdopodobnie zbyt dużymi rozbieżnościami w sekwencjach. CYA106F posiada kilka niedopasowań do 16S rRNA różnych szczepów cyjanobakterii. Wyniki te potwierdzają więc, że starter ten nie jest odpowiedni w celu identyfikacji mikroorganizmów (Nübel i in. 1997).

Seqwencje ITS z użyciem starterów 322F i 340R, uzyskano w 6 matrycach, a ich wielkość oszacowano na 562-705pz, podobne wyniki uzyskał El Herry (2009) za *Itemanem*, w swoich badaniach prowadzonych na *Microcystis novacekii*. Uzyskane sekwencje były zadowalające.

Jak podaje Lipiński i inni (2008) sekwencjonowanie jest techniką enzymatyczną, na której przebieg ogromny wpływ ma ilość, czystość i jakość matrycy, dlatego też wszelkie zanieczyszczenia mogą niekorzystnie wpływać na jej przebieg. Jednym ze sposobów zlikwidowania produktów niespecyficzych, zakłócających odczyt sekwencji nukleotydów, jest oczyszczanie produktów PCR. Znanych jest kilka metod, jednak obecnie bardzo popularna, stała się metoda oczyszczania za pomocą gotowych zestawów. Wycinanie specyficzych produktów frakcjonowanych w żelu agarozowym, a następnie ich oczyszczanie

jest sposobem nie tylko szybkim, ale i nie tracącym na wydajności. Innym sposobem, równie skutecznym jest klonowanie genów, ułatwiające izolację fragmentów genomu, a następnie manipulację nimi, dzięki niezależnemu namnażaniu ich, jako części autonomicznych wektorów (Lee i Bee 2002).

Biorąc pod uwagę jakość niektórych uzyskanych sekwencji w trakcie analiz, konieczne wydaje się przeprowadzenie w przyszłości bardziej wnikliwej analizy genomu, z zastosowaniem oczyszczania produktów PCR.

Stosowanie technik biologii molekularnej pomaga również we wczesnym ostrzeganiu przed zagrożeniem toksycznymi zakwitami sinic. Toksyny produkowane przez sinice są związkami kodowanymi przez klastry genów odpowiedzialnych za ich syntezę, transport oraz syntezę enzymów wspomagających. Biosynteza mikrocytyn zachodzi w klastrze *mcy* o długości 55kbp i składa się z 10 genów ustawionych w dwóch niezależnie transkrybowanych operonach *mcyA-C* oraz *mcyD-J*. PKS, NRSP oraz inne enzymy kodowane są przez większy operon, natomiast mniejszy *mcyA-C*, koduje trzy NRSs (Pearson i Neilan 2008). Biosynteza cylindrospermopsyny kodowana jest przez trzy domniemane geny, odpowiedzialne kolejno za: *aoaA*-aminotransferazę, *aoaB*-nierybosomalne syntetazy peptydów (NRSP) oraz *aoaC*-syntazy poliketydów. *aoaB* jest genem o długości około 5606pz, a leżący tuż za nim *aoaA*, 1179pz. Gen *aoaC* transkrybowany jest w przeciwnym kierunku i ma długość 4299pz (Kellmann i in. 2006). Anatoksyna kodowana jest w klastrze *ana*, składającym się z *anaA-D* oraz *anaE-H*, syntetyzujących prawdopodobnie PKS (Mejean i in. 2010).

W celu przeprowadzenia testów na obecność klastrów toksyczności wykorzystano startery specyficzne dla *mcyA-C* oraz *mcyE*, jak również dla obszarów syntezy PKS i PS. Opierając się na badaniach Wood i in. (2007), sprawdzono obecność klastrów *aoaA-C*, których obecność mogłaby potwierdzić nie tylko syntezę cylindrospermopsyny, ale i anatoksyny. Nie potwierdzono jednak obecności tych genów w żadnej z badanych prób.

W trakcie analizy wszystkich wyników, nie zauważono żadnej zależności między kolejnymi próbami, a jakością uzyskanych wyników. Jedynie w przypadku prób z kąpieliska Malta (01, 07 oraz 15) zauważono intensywny rozwój wyizolowanych kultur oraz dobre jakościowo sekwencje.

Z próby 01 oraz 15, uzyskano fragmenty genomów, które zostały przyrównane do szczepu *Synechocystis* Sai002. Jak podaje Taton i in. (2003), biorąc pod uwagę wartość binarną podobieństwa oraz wartość hybrydyzacji DNA, wartością procentową, przy jakiej można określić przynależność do gatunku, jest 97,5%. Po przyrównaniu sekwencji 01 za pomocą BLASTN wykazano 99% podobieństwo sekwencji z *Synechocystis* Sai002 (GU935368) oraz *Merismopedia glauca* B1448-1. W przypadku próby 15, podobieństwo tego

samego rzędu wykazano w stosunku do *Synechocystis* sp. PCC6803 (BA000022). W obu przypadkach, brak obecności genów toksyczności potwierdziła analiza fizykochemiczna.

W warunkach hodowlanych udało się wyizolować gatunki nie notowane do tej pory jako dominujące w zbiorniku. W latach poprzednich, potwierdzono bowiem obecność gatunków potencjalnie toksycznych takich jak *Pseudanabaena limnetica* oraz *Planktothrix agardhi* (Fastner i in. 1995, Zagajewski i in. 2009). Latem 2005 roku, zakwit tworzył gatunek potencjalnie wytwarzający neurotoksyny, *Aphanizomenon flos-aquae*, a towarzyszyła mu *Anabaena spiroides*, mająca zdolność syntezy hepatotoksyn (stężenie mikrocystyn wynosiło maksymalnie 0,007 $\mu\text{g l}^{-1}$). Ogromny skok toksyczności do poziomu 9,053 $\mu\text{g l}^{-1}$ i ponad 100 tys. kom l^{-1} wody, wystąpiły w tym samym roku we wrześniu, przy dominacji *Microcystis aeruginosa*, powszechnie uznawanego za potencjalnego producenta mikrocystyn (Codd 1995, Fastner i in. 1995, Lahti i in. 1997, Rogalska-Kupiec, Bochnia 1998, Codd 2000, Zagajewski i in. 2009). W próbie 07 analiza molekularna jednoznacznie wskazuje na *Microcystis aeruginosa* PCC7806 (AM778951). Szczep tego gatunku jest jednym z najpowszechniej występujących w wodach słodkich i jednym z pierwszych, którego poznano cały genom liczący 5172804pz. PCC7806 jest podstawowym szczepem toksycznym, będący przykładem ogromnej plastyczności genomu (Frangeul i in. 2008). Toksyczność szczepu potwierdzono również w przeprowadzonych badaniach, gdzie otrzymano produkt amplifikacji rejonu *mcyA* oraz *mcyC*. Sekwencje obszaru *mcyA* wykazały 94% zgodność z PCC7806, natomiast sekwencje uzyskane ze starterów PSCF i PSCR, amplifikujących gen *mcyC*, na długości 12362-12923pz sekwencji wzorcowej, potwierdziły 99% podobieństwo. Przeprowadzona analiza przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas (HPLC-MS), wykazała w hodowli obecność mikrocystyny LR. Jedną z dwóch izomorficznych form mikrocystyn, jakie może syntetyzować szczep PCC7806, jest mikrocystyna LR (Frangeul i in. 2008). MC-LR, jest najpowszechniejszą a co najważniejsze, najbardziej toksyczną mikrocystyną spośród 80 znanych analogów, jej LD50 równe jest 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Mazur-Marzec i Toruńska 2007).

Próba 16 zawierała kulturę *Synechocystis*, którego przynależność do rodzaju potwierdzono w czasie przyrównania otrzymanych sekwencji, z sekwencjami wzorcowymi. Biorąc jednak pod uwagę otrzymanie słabych jakościowo sekwencji, można sądzić, że w materiale poddanym analizie pojawiły się zanieczyszczenia, bądź też było go stosunkowo mało, co wpłynęło na brak produktów amplifikacji. Sekwencja matrycy najbardziej zbliżona była do *Synechocystis* sp. Sai001, z którą zanotowano 96% podobieństwo. Identyfikację tego szczepu należy więc uznać za niepewną.

Bardzo podobną sytuację zaobserwowano także w czasie analizy próby 04, pochodzącej

z jeziora Rusałka. Pozyskana z osadów dennych próba z gatunkiem *Nostoc* sp. w czasie sekwencjonowania dała produkt składający się z 506pz. Przyrównanie sekwencji z danymi zdeponowanymi w GenBank, dało wynik rzędu 81%. Jest to niezbyt zadowalający efekt, jednak całkowicie zrozumiały, przy uwzględnieniu długości przyrównanych sekwencji. Po skróceniu sekwencji wzorcowej z 990pz na 506pz, uzyskane podobieństwo analizowanej matrycy 04 z *Nostoc* sp. V151 ([AY827829](#)), było równe 96%. Mimo to, identyfikację szczepu nadal należy uznać za niepewną.

Z jeziora Rusałka pochodziły jeszcze dwie próby 12 oraz 13. Próbę 12 oznaczono jako nietoksyczny szczep *Pseudanabaena* sp. MBIC11161, z wynikiem 98% identycznych nukleotydów jak w sekwencji AB183572. W tym przypadku zauważono ciekawą zależność jaką potwierdza Ezhilarasi i Anand (2009, za: Lehtimaki 2000). Po procentowym przyrównaniu sekwencji, do danych z bazy NCBI, wykazano bliskie pokrewieństwo rodzajów *Pseudanabaena* z *Anabaena* i *Nostoc* (96%) oraz z *Nodularia* (95%).

Otrzymane wyniki analizy molekularnej mają swoje odzwierciedlenie w badaniach z roku 2004-2005, kiedy w jeziorze Rusałka notowano nietoksyczne zakwity z dużym udziałem *Pseudanabaena* sp. (Zagajewski i in. 2008, 2009). Ze względu na brak prowadzonych wówczas badań w warstwie przydennej, nie ma potwierdzenia występowania taksonu, oznaczonego obecnie jako *Calothrix* sp. (matryca 13), w jeziorze Rusałka.

Rodzaj *Calothrix* sp. analizowany był również w przypadku próby 14. Zidentyfikowany szczep *Calothrix desertica* PCC7102, nie był do tej pory notowany jako toksyczny, co potwierdziło się również w obecnie prowadzonych badaniach.

Z Jeziora Kórnickiego (06) oraz Strykowskiego (09) wyizolowano gatunek *Planktothrix agardhii*. Analiza filogenetyczna wykazała jednak, że mimo dużego podobieństwa matrycy 06 do szczepów PCC 9637 i NIES-596, uzyskana sekwencja jest homologiczna dla *Planktothrix agardhii* NIES-596. Szczep ten, jak również *Planktothrix agardhii* PCC 9637, zgodny w 99% z matrycą 09, w literaturze są uznawane za nietoksyczne, co potwierdziło się w przeprowadzonych analizach HPLC-MS. Ponadto warto zauważyć, że w latach poprzednich w Jeziorze Strykowskim również nie notowano obecności mikrocyzyn bądź ich stężenia były niewielkie (Zagajewski i in. 2007).

W przeprowadzonych badaniach ujęto zaledwie parę gatunków występujących w poznańskich kąpieliskach. Przeprowadzone analizy molekularne znajdują potwierdzenie w wynikach dotychczas prowadzonego monitoringu obecności mikrocyzyn.

5.3. Wpływ czynników środowiskowych na rozwój sinic i produkcję toksyn

5.3.1. Wpływ stężenia azotu na rozwój sinic i produkcję toksyn

Wpływ stężenia azotu na wzrost sinic był testowany przy trzech stężeniach NaNO_3 w pożywce BG-11 oraz w pożywce (0) nie zawierającej azotu. Spośród sześciu gatunków sinic wyizolowanych z monitorowanych zbiorników Wielkopolski, aż cztery gatunki wykazywały podobną zależność rozwoju w stosunku do zawartości azotu w podłożu. *Calothrix desertica*, *Merismopedia glauca*, *Microcystis aeruginosa* (3 szczepy) oraz *Synechocystis* sp. wykazywały zdecydowane zahamowanie wzrostu liczebności komórek w pożywce bez azotu, natomiast osiągnęły największą liczebność przy zawartości azotu dwukrotnie przekraczającej standardowe stężenie dla pożywki BG-11. Potwierdza to tezę, że sinice rosną najlepiej przy wysokim stężeniu azotu (Sivonen 1990, 1996). Wynik ten można wytłumaczyć m.in. brakiem heterocytów i kompleksów enzymów umożliwiających wiązanie azotu atmosferycznego przy jego niedoborze w środowisku wodnym. Test na wzrost *Planktothrix agardhi* jako gatunku również nie posiadającego zdolności wiązania azotu atmosferycznego wykazał zahamowanie rozwoju sinicy przy braku azotu w pożywce, natomiast w pozostałych próbach jego liczebność była zbliżona, mimo dużej różnicy w stężeniu testowanego pierwiastka. Szczep *P. agardhi* pozyskany z Regionalnego Centrum Sinicowego rozwijał się natomiast proporcjonalnie do stężenia azotu w pożywce. Zdecydowanie odmienne wyniki uzyskano w teście na wzrost *Aphanizomenon gracile*. Gatunek ten jako jedyny z testowanych rozwijał się najintensywniej przy niedoborze azotu w pożywce, osiągając maksymalną liczebność komórek na 1 ml wody w pożywce BG-11(0). Inni badacze zaobserwowali, że w warunkach nienaturalnie wysokiego stężenia azotu następował spadek liczebności komórek sinic produkujących heterocysty (Lehtimäki i in. 1995, 1997; Rapala i in. 1993, 1994).

Przeprowadzone testy wykazały, iż produkcja mikrocytyn przez *Microcystis aeruginosa* jest proporcjonalna do wzrostu liczebności sinicy, a tym samym stężenia testowanego azotu. Maksymalne stężenie mikrocytyny-LR oznaczono w próbie z najwyższym stężeniem NaNO_3 . Hodowla sinic w pożywkach pozbawionych azotu może powodować nawet 10-krotne obniżenie syntetyzowanych toksyn przez *M. aeruginosa* na co wskazują wyniki Codd i Poon (1988).

5.3.2. Wpływ stężenia fosforu na rozwój sinic i produkcję toksyn

Wpływ fosforu (K_2HPO_4) na rozwój i produkcję toksyn badano na sześciu gatunkach sinic. Wszystkie testowane sinice wykazały zahamowanie wzrostu liczebności komórek przy niedoborze fosforu w pożywce. Potwierdza to, że niedobór fosforu ogranicza rozwój sinic, a zmiany jego stężenia mają istotny wpływ na strukturę gatunkową sinic (Sivonen 1990). Liczebność *Aphanizomenon gracile*, *Calothrix desertica*, *Microcystis aeruginosa* (3 szczepy) oraz *Synechocystis* sp. była proporcjonalna do stężenia fosforu w pożywce, gatunki te osiągały maksymalną liczebność przy zawartości fosforu dwukrotnie wyższej niż w pożywce BG-11. Gatunek *Planktothrix agardhi* również osiągnął najwyższą liczebność w próbie z najwyższym stężeniem fosforu, jednak różnica między próbą kontrolną nie była tak wyraźna jak w przypadku wyżej wymienionych gatunków. Jedynym gatunkiem, który nie osiągnął maksymalnego tempa wzrostu przy najwyższym stężeniu fosforu była *Merismopedia glauca*. Sinica ta największą liczebność uzyskała w standardowej pożywce BG-11. Również w przypadku innych prac wykazano, że wzrost stężenia fosforu powyżej pewnej granicy nie powoduje już wzrostu liczebności sinic (Lehtimäki i in. 1994).

Przeprowadzone testy wykazały, iż produkcja mikrocystyn przez *Microcystis aeruginosa*, podobnie jak w przypadku testu z różnym stężeniem azotu, jest proporcjonalna do wzrostu liczebności sinicy, a tym samym stężenia testowanego pierwiastka. Maksymalne stężenie mikrocystyny-LR oznaczono w próbie z najwyższym stężeniem fosforu. Wzrost zawartości mikrocystyn u *Microcystis aeruginosa* wraz z wzrastającym stężeniem fosforu w pożywce stwierdzili również Utkilen i Gjølme (1995). Inne wyniki uzyskali natomiast Cood i Poon (1988), którzy zaobserwowali, że usunięcie fosforu z hodowli nie wpłynęło negatywnie na syntezę toksyn przez *M. aeruginosa*. Prawdopodobnie autorzy zaprzestali dodawać fosfor do pożywki, natomiast sinice mają zdolność kumulacji fosforu w komórkach, dzięki czemu przez pewien czas mogą nadal się rozwijać. Jest to przystosowanie do zmiennego stężenia fosforu w jeziorach (strategia typu K) (Kawecka i Eloranta 1994).

5.3.3. Wpływ stężenia żelaza na rozwój sinic i produkcję toksyn

Żelazo jest pierwiastkiem bardzo ważnym do przeprowadzenia podstawowych procesów metabolicznych w komórkach sinic, niezbędnym w procesie biosyntezy chlorofilu-a oraz DNA (Surosz i in., 1994; Paczuska, Kossakowska, 2001). Deficyt żelaza jest również jednym z najczęstszych czynników stresowych, ograniczających wiązanie azotu przez sinice

(Lopez-Gomollon i in. 2007). W niniejszej pracy wpływ stężenia żelaza (dodawanego do pożywki w postaci cytrynianu amonowo żelazowego z kwasem cytrynowym) na rozwój sinic oraz produkcję toksyn był badany na 6 gatunkach sinic wyizolowanych z jezior Wielkopolski. Wyniki testów wykazały złą kondycję sinic oraz ograniczone możliwości ich rozwoju przy deficycie żelaza w podłożu. Wszystkie testowane gatunki przy braku żelaza osiągały zdecydowanie najniższą liczebność komórek na 1 ml wody po zakończeniu testu. Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że również w środowisku naturalnym żelazo ma istotny wpływ na występowanie masowych zakwitów potencjalnie toksycznych gatunków sinic. Reakcja testowanych gatunków na brak żelaza w podłożu wyraźnie różniła się. W przypadku *Aphanizomenon gracile* w ciągu siedmiu dni trwania testu dochodziło jedynie do spowolnienia rozwoju komórek w porównaniu z próbkami zawierającymi żelazo. Podobny schemat rozwoju, choć z silniejszym ograniczeniem wzrostu zaobserwowano w przypadku *Calothrix desertica*. *Planktothrix agardhi* i *Synechocystis* sp. wykazywały rozwój tylko przez pierwsze 2-5 dni trwania testu, natomiast *Merismopedia glauca* i *Microcystis aeruginosa* rozwijały się jedynie przez pierwsze dwa dni, wykazując silny regres w kolejnych dniach trwania testu. Podobnie szybką do obserwowanej reakcją *M. aeruginosa* na brak żelaza w pożywce zanotowali Sevilla i in. (2008). Rozwój sinic w pożywce nie zawierającej żelaza był możliwy dzięki zapasom tego pierwiastka, skumulowanego w komórkach przeniesionych wraz z inokulum. Z przeprowadzonych doświadczeń wynika, że szybkość wykorzystania żelaza jest specyficzna dla gatunku sinic, co może mieć ważne znaczenie dla ich rozwoju w środowisku. Może to wyjaśniać, dlaczego *Merismopedia glauca* często spotykana jest w hypolimnionie lub strefie naddennej jezior (Hantke i in. 1996, Kuwabara i in. 2005), gdzie zaopatrywana jest w żelazo uwalniane z osadów dennych, dzięki panującym w nich warunkom redukcyjnym. Tworzenie silnych zakwitów wody przez *Microcystis aeruginosa* w końcu lata może również mieć związek ze stopniowym odtlenianiem się wód hypolimnionu, powodującym coraz większe dostarczanie żelaza do epilimnionu.

W przypadku gatunków *Microcystis aeruginosa* oraz *Merismopedia glauca* żelazo miało zdecydowanie stymulujący wpływ na szybkość wzrostu liczebności sinic. Oba gatunki osiągnęły zdecydowanie najwyższą liczebność w próbach z najwyższym stężeniem żelaza. Świadczyć to może o tym, iż są to gatunki „żelazolubne”. Podobne wyniki uzyskano badając *Nodularia spumigena* oraz *Anabaena* sp. (Lammers i Sanders-Loehr, 1982; Żeglińska 2007). Najwyższą liczebność przy najwyższym stężeniu żelaza osiągały również gatunki *Calothrix desertica* oraz *Planktothrix agardhi*, jednak różnice w liczebności po zakończeniu testów w porównaniu do prób kontrolnych nie były aż tak duże. Wskazuje to na mniejsze zapotrzebowanie tych gatunków na żelazo niż omawianych wyżej. Może to wyjaśniać

występowanie zakwitów wody wywoływanych przez *P. agardhii* wcześniej niż *M. aeruginosa* (Gołdyn i in. 1997, Budzyńska i in. 2009), gdy zaopatrywanie epilimnionu w żelazo z osadów dennych nie jest jeszcze zbyt intensywne. Jedynie *Aphanizomenon gracile* oraz *Synechocystis* sp. najwyższą liczebność osiągnęły w próbach kontrolnych, choć różnice w porównaniu z próbami z najwyższym stężeniem żelaza nie były duże. Podobne badania nad innymi gatunkami sinic: *Synechocystis aquatilis* i *Trichormus variabilis* potwierdziły, iż w pewnym zakresie stężeń żelaza miały one optymalne warunki do wzrostu, natomiast w wyższych stężeniach następowało zahamowanie ich rozwoju (Surosz i in., 1994; Kossakowska, 1999). Może to wskazywać na ich umiarkowane zapotrzebowanie na ten pierwiastek.

Wyniki produkcji toksyn w różnych stężeniach żelaza przez badany gatunek *Microcystis aeruginosa* wskazują na stymulujący wpływ żelaza na produkcję mikrocytyny-LR. *M. aeruginosa* produkowała najwyższe stężenia toksyn przy najwyższym stężeniu żelaza, natomiast w próbach bez żelaza oraz z jego najniższym stężeniem toksyny były obecne w niewielkich ilościach. Podobne wyniki otrzymali Utkilen i Gjølme (1995). Ich doświadczenia przeprowadzone na *Microcystis aeruginosa* potwierdziły obniżony poziom syntezy mikrocytyn w warunkach deficytu żelaza. Także Martin-Luna i in. (2006) stwierdzili, że Fur i dostępność żelaza może regulować syntezę mikrocytyn. Zupełnie inne wyniki uzyskali Lukac i Aegerter (1993), którzy wskazywali na wzmożoną syntezę mikrocytyn w warunkach niedoboru żelaza. Wyniki te potwierdzili Sevilla i in. (2008). W kulturach bez dodatku żelaza od czwartego dnia, a więc po wykorzystaniu żelaza zawartego w komórkach, dochodziło do zwiększania ilości mikrocytyny. Autorzy stwierdzili, że brak żelaza powodował uaktywnienie transkrypcji genu *mcyD*, znajdującego się w klastrze odpowiedzialnym za produkcję mikrocytyny. Obserwowany wzrost ilości mikrocytyny nie był duży, co może wskazywać na obecność innych czynników będących promotorami transkrypcji genów *mcy*. Uzyskiwanie odmiennych wyników produkcji mikrocytyn przez różnych autorów może być spowodowane nieco innymi warunkami hodowli, w wyniku czego uaktywniać się mogą różne promotory poszczególnych genów, wchodzących w skład klastra *mcy*. Kaebernik i in. (2002) wykryli obecność promotorów wewnętrznych, które uaktywniały się w transkrypcji poszczególnych genów (*mcyE*, *mcyF*, *mcyG*, *mcyH*, *mcyI*, *mcyJ*) wówczas, gdy promotory pierwotne były nieaktywne. Różnice w produkcji mikrocytyn przy tej samej zawartości żelaza można też wytłumaczyć użyciem innych szczepów tego samego gatunku sinic do przeprowadzenia testów. Prawdopodobne jest również, że dodatnia zależność stężeń mikrocytyny LR od stężeń żelaza nie jest bezpośrednia. Jak podają Jähnichen i in. (2001) produkcja toksyn odbywa się najintensywniej w czasie logarytmicznej fazy wzrostu sinic.

Warunki takie były spełnione w trakcie obecnych badań w kontroli i próbie C, do czego przyczyniały się nie tylko wysokie stężenia żelaza, ale również pozostałych biogenów. Ponieważ udowodniono, że żelazo wpływa na częstość podziałów komórkowych i liczebność oraz produkcję fitoplanktonu (m.in. Boyd i in. 2000), jego optymalna zawartość utrzymuje organizm w fazie logarytmicznego wzrostu, umożliwiając innym czynnikom stymulowanie produkcji dużych ilości mikrocytyn.

Porównanie uzyskanych wyników produkcji mikrocytyny przy braku żelaza w pożywce, z doświadczeniem, w którym pożywka pozbawiona była fosforu, wykazało dużo wyższą obecność mikrocytyny w pierwszym przypadku. Może to więc potwierdzać wyniki Sevilla i in. (2008), że w przypadku braku żelaza dochodzi do włączenia się mechanizmu, odpowiedzialnego za uruchomienie genu *mcyD* i produkowanie pewnej ilości mikrocytyny, przy wykorzystaniu śladowych ilości żelaza obecnych w środowisku. Kosakowska i in. (2007) zwracają uwagę na rolę w tym procesie związków humusowych obecnych w wodzie. Keränen i in. (2009) przypuszczają, że mikrocytyny mają zdolność chelatowania żelaza, zwiększając jego biodostępność. Mechanizm ten dokładnie prześledziła Żeglińska (2007). Wyniki tych badań dobrze wyjaśniają wcześniejsze doniesienia o większym pobieraniu żelaza przez toksyczne szczepy *Microcystis aeruginosa*, niż nietoksyczne (Utkilen i Gjølme 1995) oraz lepszym radzeniem sobie tych szczepów w warunkach deficytu żelaza (Sevilla i in. 2008).

5.3.4. Wpływ natężenia światła na rozwój sinic i produkcję toksyn

Wpływ światła na rozwój i produkcję toksyn sinic testowano przy trzech natężeniach światła: ok. $21 \mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (1500 lx), ok. $43 \mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (2500 lx) i ok. $86 \mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (6000 lx). Jedynym gatunkiem, który nie wykazywał różnic w liczebności komórek przy różnym natężeniu światła był *Synechocystis* sp. Zarówno *Merismopedia glauca*, jak i *Microcystis aeruginosa* rozwijały się proporcjonalnie do wzrostu natężenia światła, uzyskując maksymalną liczebność przy największym natężeniu światła. Wskazuje to na światłoządność tych dwóch gatunków, choć w przypadku szczepów *M. aeruginosa* pozyskanych z Regionalnego Centrum Sinicowego różnice w liczebności przy dwóch wyższych natężeniach światła nie były już tak wyraźne. Badania przeprowadzone przez Mazur-Marzec i in. (2010) wykazały różnice w liczebności obu szczepów przy różnym natężeniu światła dopiero w ostatniej fazie testu. *Aphanizomenon gracile* osiągnął największą liczebność w próbie z pośrednim natężeniem światła, co ciekawe przy najslabszym i

maksymalnym natężeniu światła końcowa liczebność komórek była zbliżona. Jest to więc gatunek o umiarkowanych wymaganiach świetlnych. *Calothrix desertica* jako gatunek bentosowy nie osiągnął dużej liczebności przy najintensywniejszym oświetleniu, w pozostałych natężeniach światła jego liczebność była porównywalna. *Planktothrix agardhi* rozwijał się najszybciej przy najniższym natężeniu światła, w pozostałych próbach liczebność sinicy była nieznacznie mniejsza. Ostatnie dwa gatunki można więc zaliczyć do ceniolubnych. Wyjaśnia to fenomen tworzenia zakwitu wody przez *Planktothrix agardhi*. Występuje on dość równomiernie w przekroju pionowym epilimnionu, nie tworząc nigdy kożucha przy powierzchni wody.

Pomimo bardzo dużego wpływu natężenia światła na wzrost i liczebność *Microcystis aeruginosa*, nie stwierdzono znaczącej różnicy produkcji toksyn w poszczególnych próbach, różniących się natężeniem światła. Stężenie mikrocystyny-LR we wszystkich badanych próbach utrzymywało się na zbliżonym poziomie. Kaebernick i in. (2002) stwierdzili, że klaster genu odpowiedzialnego za produkcję mikrocystyny ulega transkrypcji zarówno przy silnym oświetleniu, jak i przy słabym natężeniu światła. W zależności od warunków świetlnych zmienia się jedynie punkt początkowy transkrypcji, położony między genem *mcyA* a *mcyD*. Przy silnym oświetleniu transkrypcja ta rozpoczyna się bliżej *mcyA*, natomiast przy słabym oświetleniu – bliżej *mcyD*. Tak więc mimo, że transkrypcja genu zależna jest od natężenia światła, może się ona odbywać w zmiennych warunkach oświetlenia, stąd brak większych różnic w produkcji mikrocystyny w przeprowadzonym doświadczeniu.

5.4. Wpływ sinic na inne organizmy wodne

Pierwszymi w tej pracy przeprowadzonymi badaniami nad toksycznością ostrą były testy, w których za doświadczalny gatunek posłużył zooplanktonowy skorupiak *Daphnia magna*.

Sinice mają bezpośredni oraz pośredni wpływ na rozwój oraz przeżywalność zooplanktonu. Pośredni negatywny wpływ obecności sinic w środowisku wodnym na zooplankton przejawia się przede wszystkim poprzez zahamowanie wędrówek poziomych zwierząt planktonowych, w efekcie czego upośledzona zostaje efektywność znajdowania pokarmu przez skorupiaki (Lauren-Maatta i in. 1997). Teorię tę potwierdzają również Berthon i Brousse (1995). Wg. nich zooplankton unika wędrówek do epilimnionu nawet nocą, podczas masowych pojawów sinic. Według tych samych autorów niebezpieczny dla skorupiaków jest również towarzyszący zakwitom sinic deficyt tlenu w warstwach przydennych zbiorników,

ograniczający możliwość schronienia się zwierząt planktonowych w głębszych warstwach w ciągu dnia, a tym samym narażający ich na presję ze strony ryb planktonożernych. Sinice wpływając negatywnie na rozwój takich organizmów jak bakterie, glony i grzyby, ograniczają również ilość dostępnego pokarmu dla zooplanktonu (Gross 2003).

Wpływ pośredni sinic na zooplankton można podzielić na dwa rodzaje oddziaływań. Pierwsze jest bezpośrednio związane ze zjadaniem sinic przez drobne skorupiaki, drugi wiąże się z toksycznością cyjanobakterii.

Wrażliwość roślinożernych zwierząt planktonowych na interferencyjne działanie sinic uzależniona jest od wielkości zwierzęcia oraz sposobu pobierania pokarmu, widłonogi pobierają pokarm poprzez jego wychwytywanie, a wioślarki i wrotki poprzez odfiltrowanie zawiesiny (Gliwicz 1990). Małe gatunki wioślarek jak *Daphnia cucullata* nie są w stanie odfiltrować kolonijnych sinic, takich jak gatunki z rodzaju *Microcystis*, czy długie nici np. *Anabaena* sp., przez co są one mniej narażone na ich negatywny wpływ. Z kolei mniejszą możliwość obrony przed nimi mają większe gatunki, u których pobieranie większych sinic może powodować zakłócenie procesu filtracji oraz konieczność częstszego oczyszczania aparatu filtracyjnego (Burns 1968, Kirk i Gilbert 1992). Tworzenie koloni przez sinice jest sposobem obrony przed zgryzaniem ich przez zwierzęta planktonowe (Ha i in. 2004). Skuteczność tej metody potwierdza spadek tempa filtracji i asymilacji pokarmu przez wioślarki, wraz ze wzrostem zagęszczenia sinic w środowisku (Demott i in. 2001). Niektóre duże *Daphnia* mają jednak zdolność łamania długich nici na mniejsze fragmenty, co może ułatwiać im spożywanie sinic (Dawidowicz 1990).

Pomijając trudności związane z pobieraniem sinic, zwłaszcza nitkowatych oraz tworzących kolonie, cyjanobakterie uważane są za niepełnowartościowy pokarm dla zooplanktonu. Gatunki z rodzajów *Microcystis* oraz *Chroococcus* tworzą galaretowate otoczki, uniemożliwiające strawienie ich komórek przez roślinożerny plankton, co więcej mogą asymilować związki biogenne z przewodu pokarmowego zooplanktonu. Sinice mają niską zawartość steroli oraz wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Skorupiaki nie są zdolne do syntezy steroli, więc ich niska zawartość w pożywieniu powoduje ograniczenia we wzroście oraz zakłóca proces linienia skorupiaków (von Elert i Wolffon 2001).

Sposób zdobywania pokarmu w dużym stopniu wpływa na wrażliwość zooplanktonu na działanie toksyn sinicowych. Selekcjonujące pokarm widłonogi są w stanie uniknąć spożywania toksycznych szczepów sinic poprzez wykorzystanie chemorepcji, co w połączeniu z umiejętnością zjadania nici sinic oraz dużych koloni pozwala im na stosunkowo dobry rozwój w obecności zakwitów sinic (Demott i in. 1991, Kirk i Gilbert 1992). Mniej wrażliwe na działanie toksyn sinicowych są również wrotki, gdyż stwierdzono, że toksyny

sinicowe nie przenikają przez zewnętrzną kutikulę tych organizmów (Fulton i Perl 1987, Gilbert 1990, Kirk i Gilbert 1992). Najbardziej narażone na działanie toksyn są m.in. duże wioślarki, które mogą mieć bezpośredni kontakt z toksynami. W obecności sinic może dojść do ograniczenia aktywności motorycznej zooplanktonu, przez to redukcji tempa pobierania pokarmu, zahamowania reprodukcji oraz rozwoju stadiów juvenilnych, obniżenia tempa wzrostu oraz śmierci organizmów (Nizan i in. 1986, Reinikainen i in. 1995). Toksyny sinicowe mogą również przedostawać się do organizmu bezpośrednio z wody (szczególnie po lizie komórek sinic), co potwierdzają badania z wykorzystaniem znaczonej radioaktywnie nodularyny na widłonogach *Acaria biflosa*, *Eurytemora affinis* i orzęsku *Strombidium sulcatum* (Karjalainen i in. 2005).

W przeprowadzonych w niniejszej pracy badaniach przetestowano wpływ ekstraktu z 10 gatunków sinic na przeżywalność *Daphnia magna*. Na podstawie uzyskanych wyników można podzielić testowane szczepy na 3 grupy. 4 taksony sinic nie miały wpływu na przeżywalność *D. magna* – były to gatunki powszechnie uznawane za nietoksyczne: *Calothrix desertica*, *Nostoc* sp., *Merismopedia glauca* oraz gatunek potencjalnie zdolny do produkcji toksyn *Aphanizomenon gracile*. Stosunkowo nieduży wpływ na przeżywalność skorupiaków miały *Oscillatoria* sp. oraz *Synechocystis* sp. Oba gatunki przy zbliżonej ilości suchej masy w ekstrakcie powodowały 40% śmiertelność testowanych organizmów po 48h trwania testu. Gatunki, które w istotny sposób powodowały śmiertelność *D. magna* to *Trichormus variabilis*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis aeruginosa* oraz *Planktothrix agardhii*.

100% ekstraktu z *T. variabilis* spowodował śmiertelność 50% wioślarek już po 24h testu. Toksyczność blisko spokrewnionego rodzaju *Anabaena* została potwierdzona m.in. poprzez testy z udziałem *Anabaena flos-aquae*. Wyniki testów wykazały zmniejszoną przeżywalność skorupiaków oraz wytwarzanie przez *A. flos-aquae* substancji ograniczających ich filtrację i reprodukcję (Ostrowsky i in. 1983).

Testowanym gatunkiem, który spowodował największą śmiertelność zooplanktonu był *C. raciborskii*. Śmiertelność *D. magna* w tym teście wyniosła 50% po 24h testu i aż 95% po 48h. O wysokiej toksyczności tego gatunku świadczy również stosunkowo niewielka ilość biomasy wykorzystanej do przygotowania ekstraktu, która była około czterokrotnie mniejsza niż u powodującej podobną śmiertelność *Microcystis aeruginosa*. Śmiertelność *D. magna* oraz ograniczenie jej wzrostu pod wpływem obecności *C. raciborskii* potwierdzają również dane innych badaczy (Nogueira i in. 2004). Mimo obecności cylindrospermopsyny w zbiornikach Eurpy środkowej nie potwierdzono produkcji toksyny przez wyizolowane szczepy *C. raciborskii*. Gatunek ten może jeednak produkować wiele innych toksycznych

metabolitów np. saksitoksyny i gonyautoksyny (Kokociński i in. 2007, Soares i in. 2009).

Większość danych dotyczących toksycznego wpływu sinic na zooplankton dotyczy *Microcystis aeruginosa*. W przeprowadzonych badaniach wykazano 60% śmiertelność *D. magna* po 24h testu pod wpływem obecności ekstraktu z tego gatunku sinicy. Obecność *M. aeruginosa* wpływa negatywnie na rozwój oraz przeżywalność zooplanktonu, gdyż wiele badań wykazało wzmożoną śmiertelność *D. magna* podczas karmienia jej *M. aeruginosa*. Wykazano również ograniczenie wzrostu, zwłaszcza młodych organizmów w obecności tego gatunku sinicy (Lampert 1981, Lürling 2003). Obecność *M. aeruginosa* miała również wpływ na tempo pobierania pokarmu przez *D. magna*. W obecności toksycznej sinicy wioślarki przerywały pobieranie pokarmu, a po podaniu im pokarmu wolnego od sinic organizmy rozpoczynały ponownie filtrację (Nizan i in. 1986). Poza bezpośrednim wpływem na przeżywalność skorupiaków sinice oddziałują na nie również pośrednio m.in. poprzez wytwarzanie mikroviridyny J – metabolitu wtórnego powodującego zakłócenie procesu linienia u *D. pulicaria*. Skorupiaki są zdolne do formowania nowego pancerzyka, natomiast nie są w stanie zrzucić starego, co prowadzi do ograniczenia możliwości pływania, filtracji, a w konsekwencji śmierci organizmu (Rohrlack i in. 2004).

Mimo wykorzystania w teście szczepu *Planktothrix agardhi* nie produkującego mikrocytyn, śmiertelność *D. magna* w obecności tego gatunku była stosunkowo wysoka. Świadczyć to może o wytwarzaniu przez sinice innych metabolitów wtórnych, powodujących ograniczenie wzrostu i śmiertelność zooplanktonu.

Jedną z hipotez zakłada, że sinice produkują toksyny jako allelochemikalia pomagające w konkurencji między fitoplanktonem, ograniczające wzrost innych organizmów (Sedmak i Kosi 1998, Pflugmacher 2002). Wpływ toksyn sinicowych na fitoplankton przejawia się poprzez spadek jego liczebności w wyniku uszkodzenia błony komórkowej (Legrand i in. 2003). Wykazano, że gatunki z rodzajów *Anabaena*, *Nostoc*, *Oscillatoria* mogą powodować ograniczenie wzrostu, hamowanie fotosyntezy, syntezy białek i replikacji DNA oraz lizę komórek fitoplanktonu (Infante i Abella 1985).

Gatunki, które wytwarzają mikrocytyny są niewrażliwe na ich działanie, w przeciwnym razie dochodziłoby do autoinhibicji gatunków produkujących hepatotoksyny. Wrażliwość na cyjanotoksyny wykazują natomiast gatunki niezdolne do produkcji mikrocytyn. Ograniczony wzrost w obecności ekstraktów z *Microcystis aeruginosa* wykazały okrzemka *Navicula plicata*, zielenice *Salenastrum caprifolium*, *Pediastrum duplex*, *Chlorella* sp., a także sinica *Aphanizomenon flos-aquae* (Tarczyńska 1998).

Ograniczony rozwój zielenicy *Chlorella* sp. hodowanej razem z *Anabaena oscillarioides* i *Microcystis aeruginosa* wykazali Lam i Silvester (1979). Wyniki te

potwierdzają testy przeprowadzone w ramach tej pracy. Ograniczony rozwój zielenicy *Scenedesmus quadricauda* zaobserwowano podczas jej hodowli z gatunkami *Merismopedia glauca*, *Microcystis aeruginosa*, *Oscillatoria* sp., *Planktothrix agardhi* oraz *Synechocystis* sp. Spośród wymienionych gatunków jedynie *M. aeruginosa* został potwierdzony badaniami jako gatunek produkujący mikrocyстыny, natomiast w literaturze pojawiają się doniesienia na temat negatywnego wpływu innych substancji produkowanych przez sinice na fitoplankton jak np. anatoksyna-a czy cylindrospermopsyna (Kearns i Hunter 2001).

Gatunkami, które w teście nie wykazały negatywnego wpływu na rozwój zielenicy były *Calothrix desertica* i *Nostoc* sp. Gatunki te są organizmami bentosowymi i prawdopodobnie przegrały walkę o dostępne biogeny z lepiej przystosowanym, ekspansywnym gatunkiem *S. quadricauda*. Potwierdzić to może próba z trzykrotną przewagą zielenicy nad *Nostoc* sp., w której sinica była wyraźnie zdominowana i ograniczona przez szybko rosnący *S. quadricauda*.

Bardzo ciekawe wyniki uzyskano we wspólnych hodowlach *Trichormus variabilis* i *Aphanizomenon gracile* z *Scenedesmus quadricauda*. Uzyskane wyniki pokazują wyraźnie ograniczony rozwój sinic w obecności zielenicy. Może świadczyć to o braku zdolności tych gatunków sinic do produkcji inhibitujących wzrost innych przedstawicieli fitoplanktonu lub negatywnym oddziaływaniu *S. quadricauda* na wybrane sinice. Drugą możliwością mogą potwierdzać wyniki uzyskane przez Mohammeda (2000), który wykazał, że zielenice *Chlorella* sp. oraz *Scenedesmus quadricauda* są zdolne podczas obecności sinic do produkcji polisacharydów działających jako antyutleniacze, zabezpieczające komórki zielenic przed stresem oksydacyjnym wywoływanym przez cyjanotoksyny, a w rezultacie pomagają zielenicy w prawidłowym wzroście w obecności toksycznych sinic.

6. Podsumowanie

1. Od czerwca 2006 roku do sierpnia 2009 przeprowadzono badania jakościowe i ilościowe składu gatunkowego sinic na tle całego fitoplanktonu w 9 kąpieliskach Poznania i okolic. W większości z monitorowanych kąpielisk wystąpiły sinicowe zakwity wody z dominacją gatunków potencjalnie toksycznych: *Limnothrix redekei*, *Pseudanabaena limnetica*, *Planktothrix agardhii*.
2. Mikrocyстыny zostały wykryte we wszystkich jeziorach, jednak nie we wszystkich próbach. W żadnym przypadku nie został przekroczony dopuszczalny przez WHO limit stężenia toksyny dla kąpielisk wynoszący $5\mu\text{g l}^{-1}$. Najwyższe stężenie mikrocyстыn stwierdzono w Jeziorze Biezdruchowskim 23 lipcu 2008. Wynosiło ono $1,126\mu\text{g l}^{-1}$.
3. Analiza molekularna wykazała obecność genów odpowiedzialnych za produkcję toksyn tylko dla jednego z 10 wyizolowanych gatunków sinic.. W próbie z *Microcystis aeruginosa* PCC7806 stwierdzono obecność genów *mcyA* oraz *mcyC*. Produkcja mikrocyстыny-LR przez ten gatunek została potwierdzona analizą HPLC.
4. *Calothrix desertica*, *Merismopedia glauca*, *Microcystis aeruginosa* oraz *Synechocystis* sp. wykazywały zdecydowane zahamowanie wzrostu liczebności komórek w pożywce bez azotu, natomiast osiągnęły największą liczebność przy najwyższym stężeniu tego pierwiastka. *Aphanizomenon gracile* rozwijał się najintensywniej przy ograniczonej zawartości azotu w pożywce co związane było z obecnością heterocytów, umożliwiających mu wiązanie azotu atmosferycznego.
5. Przeprowadzone testy wykazały, iż produkcja mikrocyстыn przez *Microcystis aeruginosa* jest proporcjonalna do stężenia azotu w pożywce.
6. Wszystkie testowane sinice wykazały zahamowanie wzrostu liczebności komórek przy niedoborze fosforu w pożywce.
7. Produkcja mikrocyстыny przez *Microcystis aeruginosa* była proporcjonalna do stężenia fosforu w pożywce.
8. Wszystkie testowane gatunki przy braku żelaza osiągały zdecydowanie najniższą liczebność komórek na 1 ml wody po zakończeniu testu.
9. *Microcystis aeruginosa* produkowała najwyższe stężenia toksyn przy najwyższym stężeniu żelaza, natomiast w próbach bez żelaza oraz z jego najniższym stężeniem toksyny były obecne w niewielkich ilościach, jednak większych niż w przypadku

braku żelaza. Świadczy to o zdolności sinic do wykorzystywania śladowych ilości żelaza do produkcji mikrocytyn. Potwierdzić to może hipotezę o stymulowaniu przyswajania żelaza przez mikrocytyny.

10. Natężenie światła wpływało zróżnicowanie na wzrost poszczególnych gatunków sinic, najlepiej w wysokim natężeniu światła rozwijały się *Merismopedia glauca* oraz *Microcystis aeruginosa*. *Planktothrix agardhi* i *Calothrix desertica* rozwijały się najlepiej przy słabym oświetleniu.
11. *Microcystis aeruginosa* produkowała mikrocytynę-LR w podobnych stężeniach niezależnie od poziomu natężenia światła, co potwierdza wcześniejsze badania, wskazujące na uruchamianie produkcji toksyn przy różnych natężeniach światła.
12. Testy toksyczności ostrej wykazały największą toksyczność na *Daphnia magna* gatunków: *C. raciborskii*, *T. variabilis*, *M. aeruginosa* i *P. agardhi*. Toksycznego wpływu nie wykazano dla gatunków *A. gracile*, *C. desertica*, *M. glauca* i *Nostoc* sp.
13. Gatunkami ograniczającymi wzrost *Scenedesmus quadricauda* były: *M. glauca*, *M. aeruginosa*, *Oscillatoria* sp., *P. agardhi* oraz *Synechocystis* sp.
14. *Scenedesmus quadricauda* ograniczał wzrost sinic: *Aphanizomenon gracile* oraz *Trichormus variabilis*.

7. Literatura

1. Andrzejewski W., Szlakowski J., Mastyński J., Mazurkiewicz J., Godlewska M., 2010. Fish biomass and species composition in the Malta Reservoir, Poland. *J. of water and land development* 14, 67-82.
2. Bain P. A., 2007. Gene Expression Profiling of Cylindrospermopsin Toxicity. GU, Australia
3. Benndorf J., Henning M., 1989. Daphnia and toxic blooms of *Microcystis aeruginosa* in Bautzen Reservoir (GDR). *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie* 74, 233-248.
4. Berthon J. L., Brousse S., 1995. Modification of migratory behavior of planktonic Crustacea in the presence of bloom of *Microcystis aeruginosa*. *Hydrobiologia*. 185-193.
5. Błaszczyk A., Toruńska A., Kobos J., Browarczyk-Matusiak G., Mazur-Marzec H. 2010. Ekologia toksycznych sinic. *Kosmos – Problemy nauk biologicznych* 59:173-198.
6. Boyd P.W., Watson A.J., Law C.S., Abraham E.R., Trull T., Murdoch R., i in. 2000. A mesoscale phytoplankton bloom in the polar Southern Ocean stimulated by iron fertilization. *Nature* 407: 695–702.
7. Budzyńska A., Gołdyn R., Zagajewski P., Dondajewska R., Kowalczywska-Madura K. 2009. The dynamics of a *Planktothrix agardhii* population in a shallow dimictic lake. *Oceanological and Hydrobiological Studies* 38, suppl. 2: 7-12.
8. Burns C.W., 1968. Direct observations on of mechanisms regulating feeding behavior of Daphnia in lakewater. *Int. Rev. Ges. Hydrobiol.* 53, 83-100.
9. Carmichael W. W., 1986. Algal toxins. In: *Advances in Botanical Research*, Callow J. A. (ed.), Academic Press, London, 47-101.
10. Carmichael W. W., He J.-W., Eschedor J., He Z.-R., Juan Y.-M., 1988. Partial structural determination of hepatotoxic peptides from *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacterium) collected in ponds in central China. *Toxicon*, 26, 1213-1217.
11. Chen J., Song L., Dai J., Gan N., Liu Z., 2004. Effects of microcystins on the growth and the activity of superoxide dismutase and peroxidase of rape (*Brassica napus* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). *Toxicon* 43, 393-400.
12. Choński A., 1992. Katalog jezior Polski. Część trzecia. Pojezierze Wielkopolskie-Kujawskie i jeziora na południe od linii zasięgu zlodowacenia bałtyckiego. Poznań 992.

13. Chorus I., Bertram J., 1999. Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public Heath consequences, monitoring and management. E&FN Spon, London 1999.
14. Codd G. A., Poon G. K., 1988. Cyanobacterial toxins. Rogers L. J., Gallon J. R., (red.). Biochemistry of the algae and cyanobacteria. Oxford Univ. Press, Oxford, 283-296.
15. Codd G. A., 1995. Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance. Wat. Sci. Tech. Vol. 32. No. 4, 149-156, 1995.
16. Codd G. A., 2000. Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. Ecological Engineering 16. 51-60, 2000.
17. Dawidowicz P., 1990. The effect of *Daphnia* on filament length of blue-green alga. Hydrobiologia, 265-268.
18. DeMott W.R., Zhang Q.X., Carmichael W.W., 1991. Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. Limnol. Oceanogr. 36, 1346-1357.
19. DeMott W.R., Gulati R.D., Van Donk E., 2001. *Daphnia* food limitation in three hypereutrophic Dutch Lakes: evidence for exclusion of large-bodied species by interfering filaments of cyanobacteria. Limnol. Oceanogr. 46, 2054-2060.
20. Doblin M. A., Coyne K. J., Rinta-Kanto J. M., Wilhelm S. W., Dobbs F. C., 2007. Dynamics and short-term survival of toxic cyanobacteria species in ballast water from NOBOB vessels transiting the Great Lakes-implications for HAB invasions. Harmful Algae 6: 519-530
21. Druart J. C., Briand J. F., 2002. First report of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju (Cyanobacteria) in a lotic system in France. Ann. Limnol. 38, 339-342.
22. El Herry S., Nasri H., Bouaïcha N., 2009. Morphological characteristics and phylogenetic analyses of unusual morphospecies of *Microcystis novacekii* forming bloom in the Cheffia Dam (Algeria). J. Limnol. 68, 2: 242-250
23. Ezhilarasi A., Anand N., 2009. Phylogenetic analysis of *Anabaena* spp. (Cyanobacteria) using sequences of 16S rRNA Gene. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 3, 4: 4026-4031
24. Falconer I., Bartram J., Chorus I., Kuiper-Goodman T., Utkilen H., Codd G., 1999. Safe levels and practices. W: Chorus I., Bertram J., 1999. Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public Heath consequences, monitoring and management. E&FN Spon, London 1999.
25. Fester J., Heinze R., Chorus I., 1995. Microcystin content, hepatotoxicity and

- cytotoxicity of cyanobacteria in some german water bodies. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 32. No. 4. 165-170.1995.
26. Fastner J., Rucker J., Stuker A., Preussel K., Nixdorf B., Chorus I., Kohler A., Wiedner C., 2007. Occurrence of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in northeast Germany. *Environ. Toxicol.* 22, 26-32.
 27. Frangeul L., Quillardet P, Castets A. M., Humbert J. F., Matthij H. C. P., Cortez D., Tolonen A., Zhang Ch. C., Gribaldo S., Kehr J. Ch., Zilliges Y., Ziemert N., Becker S., Talla E., Latifi A., Billault A., Lepelletier A., Dittmann E., Bouchier Ch., Tandeau de Marsac N., 2008. Highly plastic genome of *Microcystis aeruginosa* PCC 7806, a ubiquitous toxic freshwater Cyanobacterium. *BMC Genomics* 9: 274
 28. Fulton R.S., Pearl H.W., 1987. Toxic and inhibitory effects of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* on herbivorous zooplankton. *J. Plankton Res.* 9, 837-855.
 29. Ghosh, S. K., Das P. K., Bagchi S. N. 2008. PCR-based detection of microcystin-producing cyanobacterial blooms from Central India. *Indian Journal of Experimental Biology* 46: 66–70.
 30. Gilbert J.J. 1990. Differential effects of *Anabaena affinis* on cladocerans and rotifers mechanisms and implications. *Ecology*, 71, 1727-1740.
 31. Gliwicz Z.M., 1990. Food thresholds and body size in cladocerans. *Nature*, 343, 638–640.
 32. Gołdyn R., 1990. Wpływ podpiętrzenia wód na procesy ekologiczne w jeziorach służących jako zbiorniki retencyjne. W: *Funkcjonowanie ekosystemów wodnych ich ochrona i rekultywacja*. SGGW – AR 50, Warszawa
 33. Gołdyn R., 1996. Próby poprawy stanu czystości wody Zbiornika Maltańskiego metodą biomanipulacji. Zbiornik Malta w Poznaniu – funkcja sportowo-rekreacyjna a rybactwo. Opracowanie zbiorowe pod redakcją Jerzego Mastysłńskiego. Poznań – Malta 25.10.1996.
 34. Gołdyn R., Kozak A., Romanowicz W. 1997. Food-web manipulation in the Maltański Reservoir. *Hydrobiologia* 342/343: 327–333.
 35. Gołdyn R., Joniak T., Kowalczywska-Madura K., Kozak A., 2003. Trophic state of a lowland reservoir during 10 years after restoration. *Hydrobiologia* 506-509, 759-765.
 36. Grabowska M., 1998. Blooms of Cyanophyta in Siemianówka dam reservoir in the first years after filling. *Ocean. Stud.* 1, 27-31.
 37. Graneli E., 2005. The role of nutrient conditions on toxicity, allelopathy and mixotrophy in HABs. Hazardous algae – a problem for modern ecology. International conference Gdańsk, Poland 18-19 May 2005.

38. Gross E.M., 2003. Allelopathy of aquatic autotrophs. *Crit. Rev. Plant Sci.* 313-339.
39. Ha K., Jang M., Takamura N., 2004. Colony formation in planktonic algae induced by zooplankton culture media filtrate. *J. Freshwater Ecol.* 19, 9-16.
40. Hantke B., Fleischer P., Domany I., Koch M., Pless P., Wiendl M., Melzer A. 1996. P-release from DOP by phosphatase activity in comparison to P excretion by zooplankton. Studies in hardwater lakes of different trophic level. *Hydrobiologia* 317: 151-162.
41. Infante A., Abella S.E.B., 1985. Inhibition of *Daphnia* by *Oscillatoria* in Lake Washington. *Limnol. Oceanogr.* 30, 1046-1052.
42. Jähnichen S., Petzold T., Benndorf J., 2001. Evidence of control of microcystin dynamics in Bautzen Reservoir (Germany) by cyanobacterial population growth rates and dissolved inorganic carbon. *Archiv für Hydrobiologie* Vol. 150 (2), 177-196.
43. Jones W. W., Sauter S., 2005. Distribution and Abundance of *Cylindrospermopsis raciborskii* in Indiana Lakes and Reservoirs. SPEA-Indiana University (<http://www.spea.indiana.edu/clp/FinalCylindro%20Web.pdf>).
44. Kardinaal W. E. A. 2007. Who's bad? Molecular identification reveals seasonal dynamics of toxic and non-toxic freshwater cyanobacteria. *Publ. Univ. Amsterdam, Instituut Biodiversiteit en Ecosysteemdynamica (IBED)*, 156.
45. Kawecka B., Eloranta P. V., 1994. *Zarys ekologii glonów wód słodkich i środowisk lądowych*. PWN, Warszawa.
46. Kaebernick, M., Dittmann, E., Borner, T., and Neilan, B.A. 2002. Multiple alternate transcripts direct the biosynthesis of microcystin, a cyanobacterial nonribosomal peptide. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 449–455.
47. Kearns K.D., Hunter M.D., 2001. Toxin production *Anabaena flos-aquae* induces settling of *Chlamydomonas reinhardtii*, a competing motile alga. *Microb. Ecol.* 42, 80-86.
48. Keil C., Forchert A., Fastner J., Szewzyk U., Rotard W., Chorus I., Kratke R., 2002. Toxicity and microcystin content of extracts from a *Palnktothrix* bloom and two laboratory strains. *Water Research* 36. 2133-2139. 2002.
49. Kellmann R., Mills T., Neilan B. A., 2006. Functional modeling and phylogenetic distribution of putative cylindrospermopsin biosynthesis enzymes. *Journal of Molecular Evolution* 62: 267-280
50. Keränen M., Aro E.-M., Nevalainen O., Tyystjärvi E. 2009. Toxic and non-toxic *Nodularia* strains can be distinguished from each other and from eukaryotic algae with chlorophyll fluorescence fingerprinting. *Harmful algae* 8, 5: 817-822.

51. Kirk K., Gilbert J., 1992. Variation in behavior response to chemical defenses: zooplankton foraging on toxic cyanobacteria. *Ecology*, 73, 2208-2217.
52. Kokociński M., Stefaniak K., Burchardt L. 2004. Zakwity potencjalnie toksycznych sinic w wybranych zbiornikach Wielkopolski. II Krajowa Konferencja Pod Patronatem Głównego Inspektora Sanitarnego „Mikrocystyny i inne mikrozanieczyszczenia w wodzie”. Łódź 10-13.05.2004r.
53. Kokociński M., Dziga D., Spoof L., Stefaniak K., Jurczak T., Mankiewicz-Boczek J., Meriluto J., 2009. First report of cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in the shallow, eutrophic lakes of western Poland. *Chemosphere* 74, 669-675.
54. Komárek J., Komárková J., 2004. Taxonomic review of the cyanoprokaryotic genera *Planktothrix* and *Planktothricoides*. *Czech Phycology*, Olomouc 4: 1-18.
55. Komárek J., 2005. The modern classification of *Cyanoprokaryotes* (Cyanobacteria). *Oceanological and Hydrobiological Studies* 34, Supplement 3: 5-17.
56. Komárek J., Komárková J., 2006. Diversity of Aphanizomenon like Cyanobacteria”. *Czech Phycology*. Olomouc, 6, 1-32.
57. Kosakowska A., 1999. Wpływ żelaza i wybranych związków organicznych na fitoplankton bałtycki. *Rozprawy i monografie* 11/1999. IOPAN, Sopot, 73-75.
58. Kosakowska A., Nędzi M., Pempkowiak J. 2007. Responses of the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to iron and humic substances. *Plant Physiology and Biochemistry* 45, 5: 365-370.
59. Koskenniemi K., Lyra Ch., Rajaniemi-Wacklin P., Jokela J., Sivonen K., 2007. Quantitative Real-Time PCR Detection of Toxic *Nodularia* Cyanobacteria in the Baltic Sea. *Applied and Environmental Microbiology* 73, 7: 2173-2179.
60. Krienitz L, Ballot A., Kotut K., Wiegand C., Putz S., Metcalf J.S., Codd G.A., 2003. Contribution of hot spring cyanobacteria to the mysterious deaths of Lesser Flamingos of Lake Bogoria, Kenya. *FEMS Microbiology Ecology* 43, 141-148.
61. Kurmayer R., Dittmann E., Fastner J., Chorus I., 2002. Diversity of microcystin genes within population of the toxic cyanobacterium *Microcystis* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 831-841.
62. Kuwabara J. S., Topping B. R., Moon G. E., Husby P., Lincoff A., Carter J. L., Croteau M-N. 2005. Mercury accumulation by lower trophic-level organisms in lentic systems within the guadalupe river watershed, California. U.S. Geological Survey, Scientific Investigations Report 2005-5037, 59 s., <http://pubs.usgs.gov/sir/2005/5037/pdf>.
63. Lahti K., Rapala J., Fardig M., Niemela., Sivonen K., 1997. Persistence of cyanobacterial hepatotoxin, microcystin-LR in particular material and dissolved in

- lake water. *Wat. Res.* Vol. 31. No. 5. 1005-1012.1997.
64. Lam C.W.Y., Silvestre W.B., 1979. Growth interactions among blue-green and green algae. *Hydrobiologia* 63, 135-143.
 65. Lammers P. J., Sanders-Loehr J., 1982. Active transport of ferric schizokinen in *Anabaena* sp. *J. Bacteriol.* 151, 288-294.
 66. Lampert W., Sommer U., 2001. *Ekologia wód śródlądowych*. Wydawnictwo Naukowe PWN.
 67. Lauren-Maatta C., Kleiven O., Kiviranta J., 1997. Horizontal distribution of *Daphnia magna* in response to toxic and non-toxic algal extract. *J. Plankton Res.* 19, 141-148.
 68. Lee W. J., Bae K. S., 2002. Inferring the Molecular Phylogeny of Chroococcalian Strains (Blue-green algae/Cyanophyta) from the Geumgang River, Based on Partial Sequences of 16S rRNA Gene. *The Journal of Microbiology* 40, 4: 335-339.
 69. Legrand C., Rengefors K., Fistarol G.O., Graneli E., 2003. Allelopathy in phytoplankton – biochemical, ecological and evolutionary aspects. *Phycologia*, 406-419.
 70. Lehtimäki J., Sivonen K., Luukkainen R., Niemelä M., 1994. The effects of incubation time, temperature, light, salinity and phosphorus on growth and hepatotoxin production by *Nodularia* strains. *Archiv Hydrobiol.* 130, 269-282.
 71. Lehtimäki J., Moisander P., Sivonen K., Kononen K., 1995. Comparison of growth, toxin production and nitrogen fixation of cyanobacteria from the Baltic Sea. *International Congress on Toxic Cyanobacteria (Blue-Green Algae)*. 20-24 August 1995, Ronne, Denmark, 59.
 72. Lewandowska J., 2003. Identyfikacja toksycznych gatunków cyjanobakterii. Potencjalnie toksyczne cyjanobakterie występujące w wodach przybrzeżnych i śródlądowych. Seminarium “Toksyczne zakwity glonów”, Gdynia 5-6.06.2003. BALTDER
 73. Lipiński D., Pławski A., Słomski R., 2008. Przygotowanie produktów PCR do sekwencjonowania. *Analiza DNA-teoria i praktyka*. WUP, Poznań.
 74. Lopez-Gomollon, S., Hernandez, J.A., Pellicer, S., Angarica, V.E., Peleato, M.L., and Fillat, M.F. 2007. Cross-talk between iron and nitrogen regulatory networks in *Anabaena (Nostoc)* sp. PCC7120: identification of overlapping genes in *FurA* and *NtcA* regulons. *J. Mol. Biol.* 374: 267–281.
 75. Lukac M., Aegerter R., 1993. Influence of trace metals on growth and toxin production of *M. aeruginosa*. *Toxicon* 3(31). 293-305.
 76. Łukomska J., Kasprzykowski F., Łankiewicz L., Grzonka Z., 2002. Peptydowe

- toksyny cyjanobakterii. Wiadomości Chemiczne 56, 1-2: 57-82
77. Main D.C., 2004. Toxic algal blooms. Farmnote No. 52. 2004.
78. Mankiewicz J., Izydorczyk K., Jurczak T., Komarkowa J., Tarczyńska M., 2004r. Toksyczne zakwity sinic – zagrożenie dla Rekreacji (nawiązanie do ustaleń ramowej dyrektywy parlamentu europejskiego). Krajowa Konferencja Pod Patronatem Głównego Inspektora Sanitarnego „Mikrocystyny i inne mikrozanieczyszczenia w wodzie”. Łódź 10-13.05.2004r.
79. Martin-Luna B., Sevilla E., Hernandez J.A., Bes M. T., Fillant M. F., Peleato M. L., 2006. Fur from *Microcystis aeruginosa* binds in vitro promoter regions of the microcystin biosynthesis gene cluster. *Phytochemistry*, 67 (9), 876-881.
80. Masten S., Ph.D., 2000. *Cylindrospermopsin* [CASRN 143545-90-8]. Review of toxicological literature. Integrated Laboratory Systems (http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/Chem_Background/ExSumPdf/Cylindrospermopsin.pdf)
81. Mazur H., Lewandowska J., Błaszczuk A., Kot A., Pliński M., 2003. Cyanobacterial toxins in fresh and brackish waters of Pomorskie Province (Northern Poland). *Oceanol. Hydrobiol. Stud.* 32, 15-26.
82. Mazur-Marzec H. Toruńska A., 2007. Nodularyny i inne toksyny produkowane przez cyjanobakterie (sinice). *Wiadomości Chemiczne* 61, 3-4: 247-277
83. Mazur-Marzec H., Spoo L., Kobos J., Pliński M., Meriluoto J., 2008. Cyanobacterial hepatotoxins, microcystins and nodularins, in fresh and brackish waters of the Pomeranian Province, northern Poland. *Oceanological and Hydrobiological Studies* 37, 4: 3-21.
84. Mazur-Marzec H., Błaszczuk A., Toruńska A., 2009. Ocena zagrożenia związanego z występowaniem zakwitów sinic w wodach użytkowych. IV Ogólnopolskie Warsztaty Sinicowe. Toksyczne zakwity sinic w wodach słodkich i słonawych. Gdynia, 24 czerwca 2009.
85. Mazur-Marzec H., Browarczyk-Matysiak G., Forycka K., Kobos J., Pliński M., 2010. Morphological, genetic, chemical and ecophysiological characterisation of two *Microcystis aeruginosa* isolates from the Vistula Lagoon, Southern Baltic. *Oceanologia*, 52 (1), 127-146.
86. McGregor G.B. Fabbro D., 2000. Dominance of *Cylindrospermopsis raciborskii* in Queensland tropical and subtropical reservoirs: implications for monitoring and management. *Lakes & Reservoirs: Research and Management*. Vol. 5. 195-205. 2000.
87. Mejean A., Mann S., Vassiliadis G., Lombard B., Loew D., Ploux O., 2010. In Vitro

Reconstitution of the First Steps of Anatoxin-a Biosynthesis in Oscillatoria PCC 6506: From Free L-Proline to Acyl Carrier Protein Bound Dehydroproline. *Biochemistry* 49: 103-113

88. Mikula K., 1996. Historia budowy zbiornika Malta a problemy bieżące. Zbiornik Malta w Poznaniu – funkcja sportowo-rekreacyjna a rybactwo. Opracowanie zbiorowe pod redakcją Jerzego Mastyńskiego. Poznań – Malta 25.10.1996.
89. Mohamed Z.A., 2000. Polysaccharides as a protective response against microcystin induced oxidative stress in *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda* and their possible significance in the aquatic ecosystem.
90. Nałęcz-Jawecki G., Jurczak T., 2003. Oznaczanie mikrocytyn w wodzie surowej oraz uzdatnionej – z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją UV, poprzedzonej ekstrakcją do fazy stałej (SPE) na podstawie projektu ISO/CD 20179. Konferencja krajowa pod patronatem Głównego Inspektora Sanitarnego „Mikrocytyny i inne mikrozanieczyszczenia w wodzie przeznaczonej do spożycia”. Łódź, 24-25.04.2003r.
91. National Center for Environmental Assessment, 2006b. Toxicological Reviews of Cyanobacterial Toxins: Cylindrospermopsin (NCEA-C-1763)
92. Neilan B. A., Elkedittmann E., Rouhiainen L., Bass R. A., Schaub V., Sivonen K., Borner T., 1999. Nonribosomal Peptide Synthesis and Toxicity of Cyanobacteria. *Journal of Bacteriology* 181, 13: 4089-4097
93. Neilan B. A., 2002. The Molecular Evolution and DNA Profiling of Toxic Cyanobacteria. *Curr. Issues Mol. Biol.* 4:1-11
94. Nizan S., Dimentman C., Shilo M., 1986. Acute toxic effects of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on *Daphnia magna*. *Limnology and oceanography*, 31, 497-502.
95. Nübel U., Garcia-Pichel F., Muyzer G., 1997. PCR Primers To Amplify 16S rRNA Genes from Cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 8: 3327-3332
96. Oberholster P. J., Botha A-M., Grobbelaar J. U., 2004. *Microcystis aeruginosa*: source of toxic microcystins in drinking water. *African Journal of Biotechnology* 3, 3: 159-168
97. Oudra B., Loudiki M., Sbiyyaa B., Martins R., Vasconcelos V., Namikoschi N., 2000. Isolation. Characterization and quantification of microcystins in *Microcystis aeruginosa* dominated bloom of Lalla Takerkoust lake – reservoir (Marocco). *Toxicon* 39.1375-1381. 2001.

98. Paczuska L., Kosakowska A., 2003. Is iron a limiting factor of *Nodularia spumigena* (Cyanophyceae) cultivated under N or P deficiency. *Mar. Biol.* 136, 331-336.
99. Pawlik-Skowrońska B., Skowroński T., Pirszel J., Adamczyk A., 2004. Relationship between cyanobacterial bloom composition and anatoxin-a and microcystin occurrence in the eutrophic dam reservoir (SE Poland). *Pol. J. Ecol.* 52, 479-490.
100. Pearson L. A., Neilan B. A., 2008. The molecular genetics of cyanobacterial toxicity as a basis for monitoring water quality and public health risk. *Current Opinion in Biotechnology* 19: 281-288
101. Pflugmacher S., 2002. Possible allelopathic effects of cyanotoxins, with references to microcystin-LR, in aquatic ecosystem. *Environ. Toxicol.* 407-413.
102. Pliński M., Komarek J., 2007. *Sinice – Cyanobacterie (Cyanoprokaryota)*. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego.
103. PN-EN ISO 6341:2002. Jakość wody – określanie ograniczania ruchliwości *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) – test toksyczności ostrej.
104. Pułyk M., Romanowska A., 2007. Stan środowiska w Wielkopolsce w roku 2006. Biblioteka monitoringu środowiska, Inspektorat Ochrony Środowiska w Poznaniu.
105. QIAGEN, 2006. Benach Protocol: DNeasy Plant Mini Kit
106. Rapala J., Sivonen K., Luukkainen R., Niemela S. I., 1993. Anatoxin-a concentration in *Anabaena* and *Aphanizomenon* under different environmental conditions and comparison of growth by toxic and non-toxic *Anabaena* strains – a laboratory study. *J. Appl. Phycol.* 5, 581-591.
107. Rapal J., Lahti K., Sivonen K., Niemelä S. I., 1994. Biodegradability and adsorption on lake sediments of cyanobacterial hepatotoxins and anatoxin-a. *Lett. Appl. Microbiol.* 19, 2206-2212.
108. Rogalska-Kupiec M., Bochnia T., 1998. Toksyny syntetyzowane przez sinice. *Wiadomości botaniczne* 42(1), 11-19, 1998.
109. Rohlack T., Christoffersen K., Kaebernick M., Neil B.A., 2004. Cyanobacterial protease inhibitor microviridin J cause a lethal molting disruption in *Daphnia pulex*. *Appl. Environ. Microbiol.* 5047-5050.
110. Rucker J., Stuken A., Nixdorf B., Fastner J., Chorus I., Wieder C., 2007. Concentrations of particulate and dissolved cylindrospermopsin in 21 *Aphanizomenon* – dominated temperate lakes.
111. Saint Ch.P., 2007. Regulation of Cylindrospermopsin Production by the Cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. CRC for Water Quality and Treatment Research Report No 32

112. Saker M. L., Griffiths D. J., 2001. Occurrence of blooms of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya and Subba Raju in a north Queensland domestic water supply. *Mar. Freshw. Res.* 52, 907-915.
113. Sedmak B., Kosi G., 1998. The role of microcystins in heavy cyanobacterial bloom formation. *J. Plankton Res.* 691-708.
114. Sevilla E., Martin-Luna B., Vela L., Bes M.T., Fillat M.F., Peleato M.L. 2008. Iron availability affects *mcyD* expression and microcystin-LR synthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806. *Environmental Microbiology* 10, 10: 2476–2483.
115. Shapiro J., 1990. Current beliefs regarding dominance of blue-greens: the case for importance of CO₂ and pH. *Verh. Int. Ver. Limnol.* 24, 38-54.
116. Sivonen K., 1990. Effects of light, temperature, nitrate, orthophosphate, and bacteria on growth and hepatotoxin production by *Oscillatoria agardhi* strains. *App. Environ. Microbiol.*, 56: 2658-2666.
117. Sivonen K., 1996. Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia*, 35, 12-24.
118. Sivonen K., Jones G., 1999. Cyanobacterial toxins. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management, Chorus I., Bartram J., (red.). WHO Publ., E & F. N. Spon, London – New York, 41-111.
119. Słomski R., Szalata M., Wielgus K., 2008. Reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR). Analiza DNA-teoria i praktyka. WUP, Poznań
120. Starmach K., 1966. Flora słodkowodna Polski. Polska Akademia Nauk, Instytut Botaniki, Warszawa.
121. Starmach K., Wróbel S., Pasternak K., 1976. Hydrobiologia. PWN, Warszawa
122. Stefaniak K., Kokociński M., Messyasz B., 2005. Dynamics of *Planktothrix agardhi* (Gom.) Anagn. et. Kom. Blooms in polymictic Lake Laskownickie and Grylewskie (Wielkopolska Region) Poland. *Ocean. Hydrobiol. Stud. (Suppl.)* 34, 125-136.
123. Stefaniak K., Kokociński M., 2005. occurrence of invasive Cyanobacteria species in polymictic lakes of Wielkopolska Region (Western Poland) *Ocean. Hydrobiol. Stud. (Suppl.)* 34, 137-148.
124. Surosz W., Kosakowska A., Falkowski L., 1994. Wpływ żelaza na zawartość chlofodofilu a I inkorporację węgla-14 w kulturach glonów *Chlorella vulgaris* Beijerinck i *Anabaena variabilis* Kutzing, *Zeszyt Nauk. Uniw. Gdańskiego, Oceanografia* 13, 71-87.
125. Szyper H., Gołdyn R. 2000. Wpływ organizmów wodnych na jakość ujmowanej wody. W: Nawrocki J., Biłozor S. (red.) – Uzdatnianie wody – Procesy chemiczne i biologiczne. PWN, Warszawa-Poznań: 375-438.

126. Tarczyńska M., Zalewski M., 1994. Toksyczność zakwitów sinicowych w eutroficznych zbiornikach. Zintegrowana strategia ochrony i zagospodarowania ekosystemów wodnych. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Łodzi. 1994.
127. Tarczyńska M., Romanowska-Duda Z., Jurczak T., Zalewski M., 2001. Toxic cyanobacterial blooms in a drinking water reservoirs - causes, consequences and management strategy. *Wat. Sci. and Tech.* 1: 237-246.
128. Tarczyńska M., Mankiewicz J., 2003. Zagrożenia wynikające z obecności mikrocytyn w wodzie pitnej – wytyczne WHO. Krajowa Konferencja Pod Patronatem Głównego Inspektora Sanitarnego „Mikrocytyny i inne mikrozanieczyszczenia w wodzie przeznaczonej do spożycia”. Łódź 24-25.04.2003r.
129. Taton A., Grubisic S., Brambilla E., De Wit R., Wilmotte A., 2003. Cyanobacterial Diversity in Natural and Artificial Microbial Mats of Lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): a Morphological and Molecular Approach. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 9: 5157-5169.
130. Tillett D., Parker D., Neilan B. A., 2001. Detection of Toxicity by a Probe for the Microcystin Synthetase A Gene (*mcyA*) of the Cyanobacterial Genus *Microcystis*: Comparison of Toxicities with 16S rRNA and Phycocyanin Operon (Phycocyanin Intergenic Spacer) Phylogenies. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 6: 2810-2818.
131. Tyliżewska E., Szulczyńska M., 1995. Stan czystości Jeziora Rusałka w roku 1994. Komunikat nr 156. Państwowy Inspektorat Ochrony Środowiska. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Poznaniu. Poznań 1995.
132. Tyliżewska E., Szulczyńska M., 1999. Stan czystości Jeziora Dymaczewskiego w roku 1998. Państwowy Inspektorat Ochrony Środowiska. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Poznaniu. Poznań 1999.
133. Tyliżewska E., Szulczyńska M., 2002. Stan czystości Jeziora Bnińskiego w roku 2001. Komunikat nr 216. Państwowy Inspektorat Ochrony Środowiska. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Poznaniu. Poznań 2002.
134. Tyliżewska E., Szulczyńska M., 2003. Stan czystości Jeziora Biezdruchowo w roku 2002. Komunikat nr 229. Państwowy Inspektorat Ochrony Środowiska. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Poznaniu. Poznań 2003.
135. Tyliżewska E., Szulczyńska M., 2004. Stan czystości Jeziora Kierskiego w roku 2003. Państwowy Inspektorat Ochrony Środowiska. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Poznaniu. Poznań 2004.
136. Tyliżewska E., Szulczyńska M., 2004. Stan czystości Jeziora Niepruszewskiego w

- roku 2003. Komunikat nr 236. Państwowy Inspektorat Ochrony Środowiska. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Poznaniu. Poznań 2004.
- 137.** Tyliszewska E., Szulczyńska M., 2006. Stan czystości Jeziora Strykowskiego w roku 2003. Państwowy Inspektorat Ochrony Środowiska. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Poznaniu. Poznań 2006.
- 138.** Utkilen H., Gjølme N., 1995. Iron – stimulated toxin production in *Microcystis aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 797-800.
- 139.** Uher B., 2007. Morphological characterization of three subaerial *Calothrix* species (Nostocales, Cyanobacteria). *Fottea, Olomouc* 7, 1: 33–38
- 140.** Vaitomaa J., Rantala A., Halinen K., Rouhiainen L., Tallberg P., Mokolke L., Sivonen K., 2003. Quantitative Real-Time PCR for Determination of Microcystin Synthetase E Copy Numbers for *Microcystis* and *Anabaena* in Lakes. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 12: 7289-7297
- 141.** Van Der Westhuizen A.J., Eloff J.N., 1985. Effect of temperature and light on the toxicity and growth of the blue-green algae *Microcystis aeruginosa* (UV-006). *Planta* 163: 35-59.
- 142.** Von Elert E., Wolffom T., 2001. Supplementation of cyanobacteria food with polyunsaturated fatty acids does not improve growth of *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.* 1552-1558.
- 143.** Westhuizen A.J., Eloff J.N., 1983. Effect of temperature and light on the toxicity and growth of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* (UV-006). *Planta* 163 (1), 55-59.
- 144.** Wiedner C., Chorus I., Fastner J., 2001. The water bodies surveyed for cyanotoxins in Germany. *The Cyanotoxins; Chorus I. (red.)*. Springer, 6-21.
- 145.** Willame R., Jurczak T., Iffly J. F., Kull T., Meriluoto J., Hoffman L., 2005. Distribution of hepatotoxic cyanobacterial blooms in Belgium and Luxemburg. *Hydrobiologia* 353, 181-192.
- 146.** Wolf H. U., Frank C., 2002. Häufigkeit, Ursachen, toxikologische Relevanz sowie Maßnahmen zur Abwehr und Reducierung von Massenentwicklungen toxischer Cyanobakterien (Blualgen) in Badegewässern zum Schutz von Badenden. *Forschungsbericht*. January 2002.
- 147.** Wood S. A., Rasmussen J. P., Holland P. T., Campbell R., 2007. First report of the cyanotoxin anatoxin-a from *Aphanizomenon issatchenkoi* (cyanobacteria). *J. Phycol.* 43: 356-365
- 148.** Zagajewski P., Gołdyn R., 2005. Cyanobacteria water bloom in lakes used for recreation, situated within the city of Poznań and its surroundings. *Hazardous algae –*

a problem of modern ecology. International conference Gdańsk, Poland 18-19 May 2005.

149. Zagajewski P., Gołdyn R., Fabiś M. 2007. Water blooms and their toxicity in public swimming areas of lakes in the Poznań district. *Oceanological and Hydrobiological Studies* 36, suppl. 1: 181-187.
150. Zagajewski P., Gołdyn R., Fabiś M. 2009. Cyanobacterial volume and microcystin concentration in recreational lakes (Poznań – Western Poland). *Oceanological and Hydrobiological Studies* 38, suppl. 2: 113-120.
151. Zambrano F., Canero E., 1996. Effects of microcystin-LR on the partial reactions of the Na⁺ - K⁺ pump of the gill of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Toxicon* 34, 451-458.
152. Znachor P., Jurczak T., Komarkowa J., Jezberova J., Mankiewicz-Boczek J., Kastovska K., Zapomelova E., 2006. Summer changes in cyanobacterial bloom composition and microcystin concentration in eutrophic Czech reservoirs. *Environ. Toxicol.* 21. 236-243.
153. Żeglińska L., 2007. Oddziaływanie stresu żelazowego na bałtyckie populacje *Nodularia Spumigena*. Praca Doktorska. Instytut Oceanologii Polskiej Akademii Nauk.

8. Spis rycin i tabel

Ryciny:

Ryc 1. Produkty amplifikacji z użyciem starterów CYA359F i 23S30R, po elektroforezie przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym

Ryc 2. Produkty amplifikacji z użyciem starterów CYA106F i 781R, po elektroforezie przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym

Ryc 3. Produkty amplifikacji z użyciem starterów CYA359F i 781R, po elektroforezie przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym

Ryc 4. Produkty amplifikacji z użyciem starterów 16S27F i 23S30R, po elektroforezie przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym (A: próby 01-13; B: próby 14-17)

Ryc 5. Produkty amplifikacji z użyciem starterów 322F i 340R, po elektroforezie przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym

Ryc. 6. Produkty amplifikacji z użyciem starterów MSF i MSR, po elektroforezie przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym

Ryc. 7 Produkty amplifikacji z użyciem starterów PSCF i PSCR, po elektroforezie przeprowadzonej na 1% żelu agarozowym

Ryc. 8. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)

Ryc. 9. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)

Ryc. 10. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)

Ryc. 11. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)

Ryc. 12. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)

Ryc. 13. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)

Ryc. 14. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)

Ryc. 15. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)

Ryc. 16. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 1)

Ryc. 17. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 2)

Ryc. 18. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 1)

Ryc. 19. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 2)

Ryc. 20. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)

Ryc. 21. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)

- Ryc. 22.** Liczebność *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria1)
- Ryc. 23.** Liczebność *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria2)
- Ryc. 24.** Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)
- Ryc. 25.** Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)
- Ryc. 26.** Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)
- Ryc. 27.** Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)
- Ryc. 28.** Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)
- Ryc. 29.** Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)
- Ryc. 30.** Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)
- Ryc. 31.** Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)
- Ryc. 32.** Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)
- Ryc. 33.** Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)
- Ryc. 34.** Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria1)
- Ryc. 35.** Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria2)
- Ryc. 36.** Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 1)
- Ryc. 37.** Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 2)
- Ryc. 38.** Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)
- Ryc. 39.** Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)
- Ryc. 40.** Liczebność *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 1)
- Ryc. 41.** Liczebność *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 2)
- Ryc. 42.** Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)
- Ryc. 43.** Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)
- Ryc. 44.** Liczebność *Aphanizomenon gracile* (seria 1)
- Ryc. 45.** Liczebność *Aphanizomenon gracile* (seria 2)
- Ryc. 46.** Liczebność *Calothrix desertica* (seria 1)
- Ryc. 47.** Liczebność *Calothrix desertica* (seria 2)
- Ryc. 48.** Liczebność *Merismopedia glauca* (seria 1)
- Ryc. 49.** Liczebność *Merismopedia glauca* (seria 2)
- Ryc. 50.** Liczebność *Microcystis aeruginosa* (seria 1)
- Ryc. 51.** Liczebność *Microcystis aeruginosa* (seria 2)
- Ryc. 52.** Liczebność *Planktothrix agardhi* (seria 1)
- Ryc. 53.** Liczebność *Planktothrix agardhi* (seria 2)

- Ryc. 54. Liczebność *Synechocystis* sp. (seria 1)
- Ryc. 55. Liczebność *Synechocystis* sp. (seria 2)
- Ryc. 56. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)
- Ryc. 57. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)
- Ryc. 58. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)
- Ryc. 59. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)
- Ryc. 60. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)
- Ryc. 61. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)
- Ryc. 62. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)
- Ryc. 63. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)
- Ryc. 64. Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 1)
- Ryc. 65. Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 2)
- Ryc. 66. Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 1)
- Ryc. 67. Liczebność *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 2)
- Ryc. 68. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)
- Ryc. 69. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)
- Ryc. 70. Liczebność *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 1)
- Ryc. 71. Liczebność *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 2)
- Ryc. 72. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)
- Ryc. 73. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)
- Ryc. 74. Liczebność sinicy *Trichormus variabilis* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 75. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 76. Liczebność sinicy *Trichormus variabilis* (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 77. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 78. Liczebność sinicy *Aphanizomenon gracile* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 79. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 80. Liczebność sinicy *Aphanizomenon gracile* (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 81. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 82. Liczebność sinicy *Calothrix desertica* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 83. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 84. Liczebność sinicy *Calothrix desertica* (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 85. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 86. Liczebność sinicy *Merismopedia glauca* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 87. Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 88. Liczebność sinicy *Merismopedia glauca* (kom./ml) (2 seria)

- Ryc. 89.** Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 90.** Liczebność sinicy *Microcystis aeruginosa* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 91.** Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 92.** Liczebność sinicy *Microcystis aeruginosa* (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 93.** Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 94.** Liczebność sinicy *Nostoc* sp. (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 95.** Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 96.** Liczebność sinicy *Nostoc* sp. (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 97.** Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 98.** Liczebność sinicy *Oscillatoria* sp. (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 99.** Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 100.** Liczebność sinicy *Oscillatoria* sp. (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 101.** Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 102.** Liczebność sinicy *Planktothrix agardhi* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 103.** Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 104.** Liczebność sinicy *Planktothrix agardhi* (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 105.** Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 106.** Liczebność sinicy *Synechocystis* sp. (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 107.** Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (1 seria)
- Ryc. 108.** Liczebność sinicy *Synechocystis* sp. (kom./ml) (2 seria)
- Ryc. 109.** Liczebność zielenicy *Scenedesmus quadricauda* (kom./ml) (2 seria)

Tabele:

Tabela 1. Cechy morfometryczne jezior Poznania i okolic (według Choińskiego 1992 oraz Gołdyna i in. 1996)

Tabela 2. Skład pożywki BG-11

Tabela 3. Skład mikroelementów (Trace metal mix A5)

Tabela 4. Ilościowy spis składników i czas przygotowania żelu w małym, średnim i dużym aparacie do elektroforezy firmy BIOARD

Tabela 5. Startery PCR użyte do amplifikacji i sekwencjonowania fragmentów 16S rRNA oraz ITS

Tabela 6. Startery PCR użyte do amplifikacji i sekwencjonowania genów odpowiedzialnych za biosyntezę cyjanotoksyn

Tabela 7. Zawartość biomasy sinic w 100% ekstraktu

- Tabela 8.** Seria rozcieńczeń przygotowanych ekstraktów
- Tabela 9.** Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Biezdruchowskim
- Tabela 10.** Stężenie mikrocytyn w Jeziorze Biezdruchowskim
- Tabela 11.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Biezdruchowskim w roku 2006
- Tabela 12.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Biezdruchowskim w roku 2007
- Tabela 13.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Biezdruchowskim w roku 2008
- Tabela 14.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Biezdruchowskim w roku 2009
- Tabela 15.** Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w Jeziorze Biezdruchowskim
- Tabela 16.** Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Bnińskim
- Tabela 17.** Stężenie mikrocytyn w Jeziorze Bnińskim
- Tabela 18.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Bnińskim w roku 2006
- Tabela 18.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Bnińskim w roku 2006
- Tabela 19.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Bnińskim w roku 2007
- Tabela 20.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Bnińskim w roku 2008
- Tabela 21.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Bnińskim w roku 2009
- Tabela 22.** Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w Jeziorze Bnińskim
- Tabela 23.** Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Dymaczewskim
- Tabela 24.** Stężenie mikrocytyn w Jeziorze Dymaczewskim
- Tabela 25.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Dymaczewskim w roku 2006
- Tabela 26.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Dymaczewskim w roku 2007
- Tabela 27.** Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych w próbkach wody z Jeziora Dymaczewskiego
- Tabela 28.** Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Kierskim
- Tabela 29.** Stężenie mikrocytyn w Jeziorze Kierskim
- Tabela 30.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Kierskim w roku 2006
- Tabela 31.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Kierskim w roku 2007
- Tabela 32.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Kierskim w roku 2008
- Tabela 33.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Kierskim w roku 2009
- Tabela 34.** Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w Jeziorze Kierskim
- Tabela 35.** Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Kórnickim
- Tabela 36.** Stężenie mikrocytyn w Jeziorze Kórnickim
- Tabela 37.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Kórnickim w roku 2008
- Tabela 38.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Kórnickim w roku 2009
- Tabela 39.** Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w Jeziorze Kórnickim

- Tabela 40.** Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w jeziorze Malta
- Tabela 41.** Stężenie mikrocytyn w jeziorze Malta
- Tabela 42.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Malta w roku 2006
- Tabela 43.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Malta w roku 2007
- Tabela 44.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Malta w roku 2008
- Tabela 45.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Malta w roku 2009
- Tabela 46.** Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w jeziorze Malta
- Tabela 47.** Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Niepruszewskim
- Tabela 48.** Stężenie mikrocytyn w Jeziorze Niepruszewskim
- Tabela 49.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Niepruszewskim w roku 2006
- Tabela 50.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Niepruszewskim w roku 2007
- Tabela 51.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Niepruszewskim w roku 2008
- Tabela 52.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Niepruszewskim w roku 2009
- Tabela 53.** Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w Jeziorze Niepruszewskim
- Tabela 54.** Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w jeziorze Rusałka
- Tabela 55.** Stężenie mikrocytyn w jeziorze Rusałka
- Tabela 56.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Rusałka w roku 2006
- Tabela 57.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Rusałka w roku 2007
- Tabela 58.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Rusałka w roku 2008
- Tabela 59.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w jeziorze Rusałka w roku 2009
- Tabela 60.** Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w jeziorze Rusałka
- Tabela 61.** Udział sinic w ogólnej liczebności fitoplanktonu w Jeziorze Strykowskie
- Tabela 62.** Stężenie mikrocytyn w Jeziorze Strykowskim
- Tabela 63.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Strykowskim w roku 2006
- Tabela 64.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Strykowskim w roku 2007
- Tabela 65.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Strykowskim w roku 2008
- Tabela 66.** Skład gatunkowy i liczebność sinic w Jeziorze Strykowskim w roku 2009
- Tabela 67.** Wyniki pomiarów wskaźników fizyczno-chemicznych wody w Jeziorze Strykowskim
- Tabela 68.** Skuteczność starterów użytych do reakcji PCR, amplifikujących fragmenty 16S rRNA-23S rRNA i szacowana wielkość (kbp) otrzymanych produktów wg PhotoCapt
- Tabela 69.** Statystyczne zestawienie podobieństwa pierwszego fragmentu DNA wspólnego dla wszystkich analizowanych sekwencji próby 01
- Tabela 70.** Statystyczne zestawienie podobieństwa drugiego fragmentu DNA wspólnego dla

wszystkich analizowanych sekwencji próby 01

Tabela 71. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 4.23S30R z AY827829

Tabela 72. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 06.CYA359F z GQ351569

Tabela 73. Statystyczne zestawienie podobieństwa pierwszego fragmentu DNA wspólnego dla wszystkich analizowanych sekwencji próby 07

Tabela 74. Statystyczne zestawienie podobieństwa drugiego fragmentu DNA wspólnego dla wszystkich analizowanych sekwencji próby 07

Tabela 75. Statystyczne zestawienie podobieństwa fragmentów DNA próby 09 wspólnych z GQ351569

Tabela 76. Statystyczne zestawienie podobieństwa wszystkich fragmentów DNA próby 12 z CP000117

Tabela 77. Statystyczne zestawienie podobieństwa fragmentów DNA próby 13 wspólnych z AM230699

Tabela 78. Statystyczne zestawienie podobieństwa fragmentów DNA próby 14 wspólnych z AM230699

Tabela 79. Statystyczne zestawienie podobieństwa pierwszego fragmentu DNA wspólnego dla wszystkich analizowanych sekwencji próby 15

Tabela 80. Statystyczne zestawienie podobieństwa drugiego fragmentu DNA wspólnego dla wszystkich analizowanych sekwencji próby 15

Tabela 81. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 16.CYA359F z GU935367

Tabela 82. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 16.23S30R z GU935367

Tabela 83. Skuteczność starterów użytych do reakcji PCR, amplifikujących fragmenty odpowiedzialne za toksyczność

Tabela 84. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 07.MSR z AM778952

Tabela 85. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 07.PSCF z AM778952

Tabela 86. Statystyczne zestawienie podobieństwa sekwencji 07.PSCR z AM778952

Tabela 87. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

Tabela 88. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

Tabela 89. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

Tabela 90. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

Tabela 91. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Merismopedia glauca* po

zakończeniu testu

Tabela 92. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

Tabela 93. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

Tabela 94. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu

Tabela 95. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) po zakończeniu testu

Tabela 96. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) po zakończeniu testu

Tabela 97. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) po zakończeniu testu

Tabela 98. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) po zakończeniu testu

Tabela 99. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

Tabela 100. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

Tabela 101. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi* CCNP1303 po zakończeniu testu

Tabela 102. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* CCNP1303 po zakończeniu testu

Tabela 103. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

Tabela 104. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

Tabela 105. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

Tabela 106. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

Tabela 107. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

Tabela 108. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

Tabela 109. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

Tabela 110. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

Tabela 111. Stężenie toksyn sinicowych z przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

Tabela 112. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

Tabela 113. Stężenie toksyn sinicowych z przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) po zakończeniu testu

Tabela 114. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) po zakończeniu testu

Tabela 115. Stężenie toksyn sinicowych z przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) po zakończeniu testu

Tabela 116. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) po zakończeniu testu

Tabela 117. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

Tabela 118. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

Tabela 119. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi* CCNP1303 po zakończeniu testu

Tabela 120. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* CCNP1303 po zakończeniu testu

Tabela 121. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

Tabela 122. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

Tabela 123. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

Tabela 124. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

Tabela 125. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

Tabela 126. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Calothrix desertica* po zakończeniu

testu

Tabela 127. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

Tabela 128. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

Tabela 129. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

Tabela 130. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

Tabela 131. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

Tabela 132. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu

Tabela 133. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

Tabela 134. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu

Tabela 135. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

Tabela 136. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Aphanizomenon gracile* po zakończeniu testu

Tabela 137. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

Tabela 138. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Calothrix desertica* po zakończeniu testu

Tabela 139. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

Tabela 140. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Merismopedia glauca* po zakończeniu testu

Tabela 141. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

Tabela 142. Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* po zakończeniu testu

Tabela 143. Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) po zakończeniu testu

- Tabela 144.** Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) po zakończeniu testu
- Tabela 145.** Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) po zakończeniu testu
- Tabela 146.** Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) po zakończeniu testu
- Tabela 147.** Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu
- Tabela 148.** Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* po zakończeniu testu
- Tabela 149.** Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Planktothrix agardhi* CCNP1303 po zakończeniu testu
- Tabela 150.** Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Planktothrix agardhi* CCNP1303 po zakończeniu testu
- Tabela 151.** Stężenie toksyn sinicowych w przesączu z hodowli *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu
- Tabela 152.** Stężenie toksyn sinicowych w biomacie *Synechocystis* sp. po zakończeniu testu
- Tabela 153.** Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *T. variabilis* (A, B, C, D – powtórzenia testu)
- Tabela 154.** Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *A. gracile* (A, B, C, D – powtórzenia testu)
- Tabela 155.** Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *C. desertica* (A, B, C, D – powtórzenia testu)
- Tabela 156.** Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *C. raciborski* (A, B, C, D – powtórzenia testu)
- Tabela 157.** Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *M. glauca* (A, B, C, D – powtórzenia testu)
- Tabela 158.** Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *M. aeruginosa* (A, B, C, D – powtórzenia testu)
- Tabela 159.** Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *Nostoc* sp. (A, B, C, D – powtórzenia testu)
- Tabela 160.** Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *Oscillatoria* sp. (A, B, C, D – powtórzenia testu)
- Tabela 161.** Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *P. agardhi* (A, B, C, D –

powtórzenia testu)

Tabela 162. Wyniki przeżywalności *D. magna* w ekstrakcie z sinicy *Synechocystis* sp. (A, B, C, D – powtórzenia testu)

Spis załączników:

- Załącznik 1.** Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)
Załącznik 2. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)
Załącznik 3. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)
Załącznik 4. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)
Załącznik 5. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)
Załącznik 6. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)
Załącznik 7. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)
Załącznik 8. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)
Załącznik 9. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 1)
Załącznik 10. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 2)
Załącznik 11. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 1)
Załącznik 12. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 2)
Załącznik 13. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)
Załącznik 14. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)
Załącznik 15. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 1)
Załącznik 16. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 2)
Załącznik 17. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)
Załącznik 18. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)
Załącznik 19. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)
Załącznik 20. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)
Załącznik 21. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)
Załącznik 22. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)
Załącznik 23. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)
Załącznik 24. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)
Załącznik 25. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)
Załącznik 26. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)
Załącznik 27. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 1)
Załącznik 28. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 2)
Załącznik 29. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 1)
Załącznik 30. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 2)
Załącznik 31. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)

- Załącznik 32.** Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)
- Załącznik 33.** Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 1)
- Załącznik 34.** Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 2)
- Załącznik 35.** Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)
- Załącznik 36.** Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)
- Załącznik 37.** Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)
- Załącznik 38.** Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)
- Załącznik 39.** Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)
- Załącznik 40.** Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)
- Załącznik 41.** Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)
- Załącznik 42.** Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)
- Załącznik 43.** Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)
- Załącznik 44.** Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)
- Załącznik 45.** Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)
- Załącznik 46.** Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)
- Załącznik 47.** Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)
- Załącznik 48.** Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)
- Załącznik 49.** Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)
- Załącznik 50.** Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)
- Załącznik 51.** Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)
- Załącznik 52.** Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)
- Załącznik 53.** Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)
- Załącznik 54.** Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)
- Załącznik 55.** Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)
- Załącznik 56.** Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)
- Załącznik 57.** Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 1)
- Załącznik 58.** Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 2)
- Załącznik 59.** Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 1)
- Załącznik 60.** Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 2)
- Załącznik 61.** Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)
- Załącznik 62.** Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)
- Załącznik 63.** Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 1)
- Załącznik 64.** Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 2)
- Załącznik 65.** Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)
- Załącznik 66.** Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)
- Załącznik 67.** Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria)

Załącznik 68. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)
Załącznik 69. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria).
Załącznik 70. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)
Załącznik 71. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria)
Załącznik 72. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)
Załącznik 73. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria).
Załącznik 74. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)
Załącznik 75. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria)
Załącznik 76. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria).
Załącznik 77. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria).
Załącznik 78. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)
Załącznik 79. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria).
Załącznik 80. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)
Załącznik 81. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria)
Załącznik 82. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria).
Załącznik 83. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria)
Załącznik 84. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)

Załącznik 1. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	22643	20846	21993	21839
1.03.2010	47298	50287	52384	49272
4.03.2010	99371	118373	100377	76908
6.03.2010	132997	189332	182758	113934

Załącznik 2. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	22176	19263	23946	20272
1.03.2010	50273	51938	48340	44948
4.03.2010	89799	108362	93742	64028
6.03.2010	129784	199721	192374	102843

Załącznik3. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	19232	22838	22032	20937
1.03.2010	23983	26093	24301	21544
4.03.2010	40287	18364	34280	50239
6.03.2010	93117	17322	56302	128402

Załącznik 4. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	20434	21934	24229	20338
1.03.2010	24984	24413	23948	27390
4.03.2010	42948	19333	40662	59382
6.03.2010	89372	15928	53994	118233

Załącznik 5. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	21636	23848	20474	21844
1.03.2010	35922	24998	23445	33857
4.03.2010	72039	17363	36982	89764
6.03.2010	133942	7349	64277	160583

Załącznik 6. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	19474	21008	22117	20334
1.03.2010	34022	19442	27404	36039
4.03.2010	80477	13955	33958	79043
6.03.2010	129798	5093	70559	170345

Załącznik 7. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	20865	23948	21998	24913
1.03.2010	28643	27659	29861	43994
4.03.2010	61938	18753	35092	75259
6.03.2010	88347	12948	51550	118402

Załącznik 8. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	21845	21993	22899	20117
1.03.2010	26392	22938	26103	49762
4.03.2010	57522	19385	33910	68203
6.03.2010	90284	9342	48545	128332

Załącznik 9. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria

1)

Data	K	A	B	C
14.12.2010	18045	21846	20776	20611
16.12.2010	25994	25339	24338	26875
19.12.2010	44947	23948	31092	48097
22.12.2010	62948	20456	38099	75987

Załącznik 10. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria

2)

Data	K	A	B	C
14.12.2010	22612	20980	21445	21207
16.12.2010	24990	25778	23445	25505
19.12.2010	41976	23556	30716	49076
22.12.2010	63277	18005	34556	82441

Załącznik 11. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 1)

Data	K	A	B	C
14.12.2010	20046	20389	21902	22007
16.12.2010	23588	22940	24022	27221
19.12.2010	36585	21002	28099	43092
22.12.2010	68665	18223	43709	79037

Załącznik 12. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 2)

Data	K	A	B	C
14.12.2010	18646	22139	22487	20999
16.12.2010	21993	22944	23094	24095
19.12.2010	36387	21038	32949	40234
22.12.2010	59911	18221	41928	76812

Załącznik 13. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	22182	20646	20773	22833
19.02.2010	34909	18635	25932	32857
22.02.2010	50298	12887	42843	48004
24.02.2010	83020	4990	65211	95670

Załącznik 14. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	21883	22931	22935	19743
19.02.2010	33049	16532	23944	28364
22.02.2010	49722	10223	33981	67321
24.02.2010	72994	3298	55938	109272

Załącznik 15. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 1)

Data	K	A	B	C
14.12.2010	20472	19796	21003	20377
16.12.2010	25938	22931	23072	26995
19.12.2010	40154	20118	29016	44949
22.12.2010	67430	15200	33937	81036

Załącznik 16. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 2)

Data	K	A	B	C
14.12.2010	21371	20351	22047	19663
16.12.2010	24711	24029	25034	25308

19.12.2010	39013	16342	30081	40462
22.12.2010	70925	14922	39466	79032

Załącznik 17. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	22837	20474	23485	20742
19.02.2010	41249	15427	31847	40846
22.02.2010	78420	8362	43048	88626
24.02.2010	128943	2947	49762	187200

Załącznik 18. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	21848	22755	20745	21556
19.02.2010	38644	14492	33845	39745
22.02.2010	72764	7509	49277	91048
24.02.2010	136399	3882	52939	174065

Załącznik 19. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	21843	23659	22364	21849
1.03.2010	42273	26378	28759	40476
4.03.2010	97539	28436	53829	90476
6.03.2010	122956	21284	85377	150379

Załącznik 20. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	19622	22483	20738	20351
1.03.2010	36529	28876	30948	47625
4.03.2010	92742	25438	49028	89034
6.03.2010	118736	20484	88392	138495

Załącznik 21. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	20328	21947	20663	19822
1.03.2010	22883	23843	24943	24956

4.03.2010	39462	17633	33394	47972
6.03.2010	88711	5383	52994	90472

Załącznik 22. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	22837	24887	21034	22904
1.03.2010	24958	22844	27342	33842
4.03.2010	34947	13688	38745	55983
6.03.2010	59732	10472	63903	83948

Załącznik 23. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	22342	22410	21009	23547
1.03.2010	40223	20382	23884	42977
4.03.2010	68342	12735	31046	59023
6.03.2010	142006	9044	33098	120331

Załącznik 24. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	20338	21482	21774	22011
1.03.2010	37291	22944	24583	35069
4.03.2010	81340	10298	37482	74569
6.03.2010	127452	7832	34957	132048

Załącznik 25. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	20632	21883	24721	22876
1.03.2010	27552	23746	25783	33948
4.03.2010	52937	19733	33293	72934
6.03.2010	79316	8832	37462	100829

Załącznik 26. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	22755	23645	20377	20128
1.03.2010	31858	21937	26542	48264

4.03.2010	63659	12384	33493	77832
6.03.2010	88753	10223	44857	119903

Załącznik 27. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria

1)

Data	K	A	B	C
14.12.2010	22757	20464	20444	20559
16.12.2010	25482	22484	23595	27391
19.12.2010	36847	15449	27044	43948
22.12.2010	55382	10463	33412	73929

Załącznik 28. Liczebność (kom/ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria

2)

Data	K	A	B	C
14.12.2010	21947	23645	19431	21472
16.12.2010	23948	25872	21947	26431
19.12.2010	35311	21944	29462	39409
22.12.2010	51932	14955	35301	72836

Załącznik 29. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 1)

Data	K	A	B	C
14.12.2010	23387	21370	20319	20021
16.12.2010	25499	25332	22947	24928
19.12.2010	35843	19027	27343	39028
22.12.2010	49271	12433	36490	81037

Załącznik 30. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 2)

Data	K	A	B	C
14.12.2010	21037	19224	20038	21922
16.12.2010	23494	23840	24102	26282
19.12.2010	33947	20373	29003	40187
22.12.2010	53048	17353	39302	76390

Załącznik 31. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	22889	20746	20162	20870
19.02.2010	34118	10298	27635	33387
22.02.2010	44872	8037	32983	50374
24.02.2010	81872	2937	39864	78936

Załącznik 32. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	21887	20919	23827	24117
19.02.2010	33769	17649	22836	29003
22.02.2010	51076	12883	36090	62839
24.02.2010	76548	6891	40218	90362

Załącznik 33. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 1)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	19334	21002	22341	22110
19.02.2010	29038	25482	23957	25389
22.02.2010	41039	21947	27404	44938
24.02.2010	61937	17392	42948	74218

Załącznik 34. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 2)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	20461	22398	23460	21020
19.02.2010	26399	24361	25111	26336
22.02.2010	41032	18390	31039	43480
24.02.2010	55211	16332	47592	81031

Załącznik 35. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	24111	21658	21883	23769
19.02.2010	35865	19993	33902	34598
22.02.2010	82557	16378	50284	88402
24.02.2010	132679	17494	88930	150292

Załącznik 36. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	21658	20532	22736	22103
19.02.2010	44328	23287	24956	29045
22.02.2010	96887	22183	44392	78945
24.02.2010	118520	14922	52956	141905

Załącznik 37. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	18028	19320	22038	20736
1.03.2010	38932	28372	34827	47352

4.03.2010	77632	54293	69372	76922
6.03.2010	110386	83729	97039	108326

Załącznik 38. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	20119	21837	19026	22108
1.03.2010	40472	31044	43121	49725
4.03.2010	81038	49027	66621	80725
6.03.2010	120063	77390	92972	110285

Załącznik 39. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	20487	21233	22842	19334
1.03.2010	27462	28552	26492	25967
4.03.2010	43059	33438	37040	44722
6.03.2010	77048	35942	66035	90457

Załącznik 40. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	19378	22247	20465	22048
1.03.2010	26483	27649	24957	29390
4.03.2010	41008	34005	40775	50723
6.03.2010	82099	39137	72047	89331

Załącznik 41. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	22047	20476	20558	21736
1.03.2010	36073	27463	27499	33866
4.03.2010	64283	22937	44048	77036
6.03.2010	119372	16445	73975	133029

Załącznik 42. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	21048	22347	20465	20073

1.03.2010	32975	26384	25943	29047
4.03.2010	59043	23995	48032	65342
6.03.2010	109736	19045	68367	120463

Załącznik 43. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	21048	20366	20664	22109
1.03.2010	26642	25830	24399	28754
4.03.2010	58452	21048	40752	66538
6.03.2010	93766	20746	66048	119865

Załącznik 44. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)

Data	K	A	B	C
27.02.2010	20464	21853	21553	21909
1.03.2010	25429	26587	26590	31998
4.03.2010	52048	22631	41298	59880
6.03.2010	86549	19775	52879	109646

Załącznik 45. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	20173	18376	21387	20473
19.02.2010	30476	21048	29473	29433
22.02.2010	44058	24827	40437	50263
24.02.2010	77492	22094	59032	86495

Załącznik 46. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	22043	23477	18461	20999
19.02.2010	35887	27452	26352	30263
22.02.2010	51408	27332	38472	49027
24.02.2010	76558	24931	60112	88324

Załącznik 47. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	21488	21038	22937	20736

19.02.2010	37592	24103	33082	36495
22.02.2010	66038	23713	57291	69623
24.02.2010	106422	19026	70927	100325

Załącznik 48. Liczebność (kom/ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)

Data	K	A	B	C
17.02.2010	20445	19347	21837	22038
19.02.2010	35266	24058	30752	29449
22.02.2010	63947	25837	47640	67042
24.02.2010	99422	22384	65032	89559

Załącznik 49. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 1)

Data	A	B	C
27.02.2010	22998	21735	22883
1.03.2010	38733	44287	42976
4.03.2010	69028	88201	59273
6.03.2010	72837	142819	82097

Załącznik 50. Liczebność (kom./ml) *Aphanizomenon gracile* (seria 2)

Data	A	B	C
27.02.2010	24399	20382	21923
1.03.2010	35919	40372	44782
4.03.2010	72008	92018	66311
6.03.2010	89362	132110	99855

Załącznik 51. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 1)

Data	A	B	C
27.02.2010	22736	20373	22839
1.03.2010	26539	25398	26533
4.03.2010	52096	42943	34229
6.03.2010	93836	89377	49826

Załącznik 52. Liczebność (kom./ml) *Calothrix desertica* (seria 2)

Data	A	B	C
-------------	----------	----------	----------

27.02.2010	21009	22837	22773
1.03.2010	26531	23988	25206
4.03.2010	47320	39871	31023
6.03.2010	88377	87352	47295

Załącznik 53. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 1)

Data	A	B	C
17.02.2010	22110	22736	20373
19.02.2010	27612	37121	29386
22.02.2010	39261	68352	79233
24.02.2010	48276	122937	163821

Załącznik 54. Liczebność (kom./ml) *Merismopedia glauca* (seria 2)

Data	A	B	C
17.02.2010	20187	23511	19937
19.02.2010	25371	30837	27937
22.02.2010	33081	77245	72269
24.02.2010	51934	133732	151882

Załącznik 55. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 1)

Data	A	B	C
17.02.2010	20816	19737	24665
19.02.2010	25782	28362	35827
22.02.2010	33826	55729	72971
24.02.2010	39726	99357	119374

Załącznik 56. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* (seria 2)

Data	A	B	C
17.02.2010	20365	24377	22373
19.02.2010	26911	32116	32987
22.02.2010	30658	66539	69725
24.02.2010	35882	90265	106379

Załącznik 57. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 1)

Data	A	B	C
14.12.2010	19038	20198	22938
16.12.2010	22832	22527	26391
19.12.2010	29384	38722	42816
22.12.2010	30387	55300	63290

Załącznik 58. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1102 (MAKR0205) (seria 2)

Data	A	B	C
14.12.2010	20388	20996	21210
16.12.2010	25392	23900	24837
19.12.2010	27399	37830	36490
22.12.2010	31931	60277	59033

Załącznik 59. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 1)

Data	A	B	C
14.12.2010	18268	20376	20882
16.12.2010	21029	25299	22937
19.12.2010	26390	36672	38122
22.12.2010	34958	61037	63048

Załącznik 60. Liczebność (kom./ml) *Microcystis aeruginosa* CCNP1103 (MK10.10) (seria 2)

Data	A	B	C
14.12.2010	21382	21936	20092
16.12.2010	23098	24957	23940
19.12.2010	25038	37009	39487
22.12.2010	32098	64858	59027

Załącznik 61. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 1)

Data	A	B	C
17.02.2010	20364	18353	22735
19.02.2010	30522	27535	28341
22.02.2010	69315	46882	44992
24.02.2010	99201	78535	67922

Załącznik 62. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* (seria 2)

Data	A	B	C
17.02.2010	21032	20383	20118
19.02.2010	30998	33928	23920
22.02.2010	64821	49200	50163
24.02.2010	106839	90233	89251

Załącznik 63. Liczebność (kom./ml) *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 1)

Data	A	B	C
17.02.2010	20830	19027	21038
19.02.2010	26523	23497	24029
22.02.2010	40287	39466	41037
24.02.2010	70276	58362	60377

Załącznik 64. Liczebność (kom/ml) *Planktothrix agardhi* CCNP1303 (seria 2)

Data	A	B	C
17.02.2010	21837	22710	20371
19.02.2010	26309	26355	25339
22.02.2010	37494	36049	38028
24.02.2010	64873	52937	57932

Załącznik 65. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 1)

Data	A	B	C
17.02.2010	22943	25737	20473
19.02.2010	43958	47462	42484
22.02.2010	83944	82472	66293
24.02.2010	113944	103948	104583

Załącznik 66. Liczebność (kom./ml) *Synechocystis* sp. (seria 2)

Data	A	B	C
17.02.2010	19473	22249	21049
19.02.2010	39845	41330	44064
22.02.2010	82734	89043	90248
24.02.2010	129384	119325	120473

Załącznik 67. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria)

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
15.02.2008	77283	79992	40940	56661	64735	152996	210328	59200
18.02.2008	174665	44217	151090	265529	62922	100452	190292	208904
21.02.2008	260073	751036	126765	735482	120882	934192	233920	555832
24.02.2008	612390	2375318	186064	2433090	178021	2223819	290320	1624738

Załącznik 68. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)

Data	S	Z	S1:Z1	S1:Z3	S3:Z1
------	---	---	-------	-------	-------

15.02.2008	82392	68927	72998	67291	83821	200281	270221	70287
18.02.2008	220738	70732	132098	302876	70873	180276	220980	250736
21.02.2008	290621	822765	172827	983776	150287	1107482	300718	700181
24.02.2008	759273	2192766	158765	2008761	160827	2590219	407211	1903822

Załącznik 69. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria).

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
19.05.2010	67277	47777	49750	54444	108288	241121	216372	52242
21.05.2010	229694	126666	94861	34000	79133	455555	142783	82777
23.05.2010	292727	397775	82866	128222	57638	508333	151172	112366
25.05.2010	298627	459821	76436	132685	54795	548719	225328	264762

Załącznik 70. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
19.05.2010	59766	58176	55281	62987	62098	210765	239112	53877
21.05.2010	238714	122965	104871	82198	63876	428166	200769	78919
23.05.2010	300621	422891	102878	149754	57298	489005	240887	134088
25.05.2010	331087	500372	80277	160448	56333	602338	283227	266018

Załącznik 71. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria)

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
15.02.2008	20365	18997	21876	22987	22662	55722	66022	24811
18.02.2008	22877	42337	25872	49876	18755	74339	89918	34665
21.02.2008	43981	128765	39876	100985	33352	100987	100776	100988
24.02.2008	92877	248771	69276	258887	65611	367332	148998	199887

Załącznik 72. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
15.02.2008	22987	20767	17228	20889	24765	62877	58229	23381
18.02.2008	22487	50621	20088	50721	25876	100892	77218	42988
21.02.2008	50877	120899	50219	90218	40006	189922	90672	112298
24.02.2008	89312	282242	89223	190387	75218	420117	133662	200987

Załącznik 73. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria).

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
29.05.2010	40227	44982	48766	42881	38332	132899	129002	40777
31.05.2010	48992	78299	55988	40332	36178	153882	149902	36221
3.06.2010	100821	230877	90271	82998	60998	208311	238221	53327
5.06.2010	190225	780224	132008	228021	76221	269873	400225	108428

Załącznik 74. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
29.05.2010	42371	44221	44621	50721	42987	120765	114997	38776
31.05.2010	55881	84300	62177	51776	40663	160886	150888	32008
3.06.2010	120897	200812	89002	123097	68212	222638	319722	63303
5.06.2010	220668	666902	158776	200811	90363	320884	432332	121448

Załącznik 75. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria)

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
19.05.2010	20399	23771	19554	22008	19888	71565	59623	22763
21.05.2010	26882	38759	23809	30662	22673	106372	86352	24725
23.05.2010	56002	85750	55408	32721	47282	128630	157299	18735
25.05.2010	80772	211764	107745	19663	99726	137826	176299	14672

Załącznik 76. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria).

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
29.05.2010	15762	17352	18522	15799	15342	50223	42391	13493
31.05.2010	18260	30223	21736	29717	15627	80263	53827	22933
3.06.2010	25271	73291	23891	59171	17981	132094	72521	59382
5.06.2010	42831	189229	31772	112212	10372	178236	80282	102011

Załącznik 77. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria).

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
29.05.2010	15762	17352	18522	15799	15342	50223	42391	13493
31.05.2010	18260	30223	21736	29717	15627	80263	53827	22933
3.06.2010	25271	73291	23891	59171	17981	132094	72521	59382
5.06.2010	42831	189229	31772	112212	10372	178236	80282	102011

Załącznik 78. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
29.05.2010	15362	19272	17253	17342	17625	47610	50836	16352
31.05.2010	20372	40287	23815	28635	20736	107362	63487	30794
3.06.2010	30828	92512	26209	57231	16352	142974	80387	76253
5.06.2010	52373	163422	32386	132876	14298	197462	100736	129473

Załącznik 79. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria).

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
------	---	---	-------	--	-------	--	-------	--

29.05.2010	30846	29736	28219	31223	31299	87420	89329	32799
31.05.2010	29746	47624	27490	42984	27992	120937	103556	42847
3.06.2010	42764	99762	36389	58221	32849	162888	130043	65003
5.06.2010	78625	173500	59811	85601	43928	219376	167029	62948

Załącznik 80. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
29.05.2010	32837	34899	30284	29743	31889	92762	89090	30991
31.05.2010	35289	65439	33895	43012	30284	117442	96839	44922
3.06.2010	54626	107650	38112	60328	35492	159726	123853	70668
5.06.2010	71997	203746	60125	82096	40995	237543	180337	62933

Załącznik 81. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria)

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
19.05.2010	20736	23827	22732	24199	20386	59721	63942	21934
21.05.2010	32874	40737	30473	43007	23847	78276	87253	28462
23.05.2010	53847	102833	60726	48720	35827	93722	102874	22839
25.05.2010	78002	131752	73971	44927	49027	142873	139756	18928

Załącznik 82. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria).

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
19.05.2010	19373	20664	20337	21837	21736	62983	62983	23871
21.05.2010	33990	38263	32642	44912	23182	80372	90264	31947
23.05.2010	56912	92746	59873	47261	40263	89373	118743	27493
25.05.2010	76995	145087	82310	39621	52948	153782	147021	24954

Załącznik 83. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (1 seria)

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
29.05.2010	25836	27492	26482	26399	24828	76443	77324	25883
31.05.2010	47022	44927	44847	42048	40621	103722	93611	22048
3.06.2010	90427	89364	85032	53049	49922	124093	128474	27490
5.06.2010	142948	131844	117820	72011	78362	150821	184022	42945

Załącznik 84. Liczebność (kom./ml) testowanych organizmów (2 seria)

Data	S	Z	S1:Z1		S1:Z3		S3:Z1	
29.05.2010	25003	24330	25883	27492	25992	80213	74391	26912
31.05.2010	46920	47291	47291	44037	42482	119373	88376	31655
3.06.2010	86420	79372	89421	58301	55294	134828	148220	28573
5.06.2010	150249	141993	111834	69024	80247	155246	186259	38376

