

# SINICE I ICH INTERAKCJE Z METALAMI CIĘŻKIMI

## *Cyanobacteria* and their interactions with heavy metals

Barbara PAWLIK-SKOWROŃSKA, Tadeusz SKOWROŃSKI

**Summary.** *Cyanobacteria* (= *Cyanophyta* – blue-green algae) still play an important role in different biotopes of the whole biosphere. This review concerns interactions between these microorganisms and heavy metals – the common pollutants of aquatic environment. *Cyanobacteria* bind superficially and accumulate intracellularly both essential and toxic metals. In this way, they influence the partitioning of metals between different components of ecosystem, and the equilibrium concentration of metals in water. Under some specific environmental conditions (high pH) cyanobacteria can exist and grow in strongly heavy-metal polluted waters, although their metabolism is more sensitive to toxic metals than that of eukaryotic algae and fungi. Toxic impact of heavy metals on cyanobacteria comprises inhibition of photosynthetic processes, changes of enzyme activities, inhibition of growth and metabolism, desintegration of cell structure etc. All these effects are a consequence of metal uptake. *Cyanobacteria* bind heavy metals in two phase process comprising surface sorption and intracellular, metabolism-dependent transport. Physico-chemical environmental factors (light conditions, temperature, pH, presence of other metal cations and anions, etc) influence the bioavailability and toxicity of heavy metals due to their influence on both phases of uptake process and chemical metal speciation. In aquatic environment, cyanobacteria as a component of seston, play an important role in biogeochemical metal cycling. They are also a significant source of organic compounds excreted or released during senescence into the water, which can change the heavy metal speciation and availability to living organisms.

**Key words:** cyanobacteria, heavy metals, uptake processes, toxic effects, tolerance, metal speciation

Dr Barbara Pawlik-Skowrońska, prof. dr hab. Tadeusz Skowroński, Stacja Badawcza, Instytut Ekologii, Polska Akademia Nauk, ul. Niecała 18/3, 20–080 Lublin

### WSTĘP

Sinice (*Cyanophyta*, *Cyanobacteria*) zaliczane często zgodnie ze starą tradycją botaniczną do glonów [40], są organizmami prokariotycznymi, filogenetycznie należącymi do *Eubacteria* [41]. Pod wieloma względami, np. budowy ściany komórkowej, podobne są do bakterii, zwłaszcza gramujemnych. Zasadnicza różnica pomiędzy bakteriami a sinicami dotyczy procesu fotosyntezy. Sinice są bowiem prokariotami, u których fotosynteza przebiega z wydzielaniem tlenu, tak jak u roślin wyższych. Jednak u sinic oprócz chlorofilu *a*, istotnymi barwnikami fotosyntezy są fikobiliproteiny [85]. Liczne badania cytologiczne, fizjologiczne i biochemicz-

ne pozwoliły na postawienie hipotezy, że chloroplasty organizmów eukariotycznych pochodzą od sinic, które stały się endosymbiontami w niefotosyntetyzujących komórkach gospodarza [102].

### NIEKTÓRE ASPEKTY FIZJOLOGII SINIC

Sinice są autotrofami lub miksotrofami zdolnymi do asymilowania CO<sub>2</sub>, a ponadto do korzystania z organicznych związków węgla [42, 86]. Niektóre gatunki posiadające heterocysty (np. z rodzajów *Anabaena*, *Nostoc*) mają zdolność wiązania azotu atmosferycznego. Są to organizmy powszechnie występujące, o ogromnej skali przystosowania do różnorodnych warunków życia. Spotykane są zarówno w wodach

słodkich jak i słonych, w gorących źródłach i w wysokich górach oraz na śniegu i lodach obszarów podbiegunowych. Wiele gatunków znosi wysychanie i zamarzanie przez długi czas, zachowując zdolność do życia [86]. Odczyn kwaśny nie jest optymalny dla wzrostu sinic [10], mimo to stwierdzono występowanie niektórych ich rodzajów (*Chroococcus* i *Merismopedia*) w kwaśnych jeziorach [18]. Sinice stanowią prawdopodobnie największą i najbardziej rozpowszechnioną grupę fotosyntetyzujących prokariotów [1]. Niektóre szczepy z rodzajów *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Oscillatoria*, *Nodularia* i innych, mogą powodować obfite zakwity zarówno w wodach słodkich jak i słonych. Czynnikiem prowadzącym do zwiększenia liczebności sinic jest zwykle eutrofizacja, chociaż nie jest to regułą. W takich warunkach mogą ujawniać się toksyczne właściwości niektórych produktów metabolizmu sinic [23]. Toksyczne szczepy należą do rodzajów *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Gomphosphaeria*, *Lyngbya*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Oscillatoria* i *Schizothrix* [50, 83]. Wśród przebadanych sinic pochodzących z jezior fińskich 44% szczepów było toksycznych, przy czym 35% z nich zawierało neurotoksyny, a 65% hepatotoksyny [78] niebezpieczne zarówno dla zwierząt jak i dla ludzi [13]. Ten sam szczep sinic może być w pewnych warunkach toksyczny, a w innych nie, jednakże przyczyny tego zjawiska nie są jeszcze dostatecznie poznane. Niektóre sinice wytwarzają metabolity powodujące przykrą woń, a także zły smak wody [39, 87]. Pewne gatunki sinic żyją w symbiozie z bakteriami i grzybami [40].

#### ROLA SINIC W EKOSYSTEMACH WODNYCH

Badania przeprowadzane w ostatnich latach ukazują w nowym świetle ekologiczną rolę sinic. Wykazano, że w pelagialu ekosystemów wodnych sinice są dominującym składnikiem pikoplanktonu (frakcja fitoplanktonu o wymiarach 0,2–2  $\mu\text{m}$ ) [25] i mają znaczący udział w produkcji pierwotnej. W wyniku badań fotosyntetycznego wiązania węgla w oligotroficznym tropikalnym Północnym Pacyfiku, stwierdzono, że 60% produkcji pierwotnej przypada

na frakcję otrzymaną po sączeniu przez filtr o porach 1  $\mu\text{m}$ , w której znajdowało się  $10^4/\text{ml}$  komórek sinic [59]. Podobne rezultaty uzyskali Li i wsp. [46], badając intensywność fotosyntezy we wschodniej, tropikalnej części Pacyfiku, oraz Takashi i Bienfang [93] prowadząc badania subtropikalnych wód w pobliżu wysp Hawajskich. W północnym Pacyfiku i południowym Morzu Chińskim, 70% chlorofilu przypadało na pikoplankton, w którym dominującymi formami były sinice (o wymiarach 0,5–2  $\mu\text{m}$ ) i eukariotyczne mikroglony podobne do *Chlorella* (1,2–1,5  $\mu\text{m}$ ) [94]. W wyższych szerokościach geograficznych udział frakcji zawierającej sinice, w fotosyntetycznej asymilacji węgla jest również znaczny (10–25%) [84]. Także w jeziorach Europy Centralnej ok. 30% produkcji pierwotnej jest wynikiem aktywności pikoplanktonu. Stanowi on do 20% całkowitej biomasy fitoplanktonu, przy czym dominują w nim gatunki z rodzaju *Synechococcus* [19]. Badania El Hag i Fogg [16], oparte na pomiarach liczebności sinic i zawartości w nich chlorofilu również potwierdzają tezę, że sinice stanowią znaczącą część ogólnej biomasy fotoautotrofów planktonowych i w dużym stopniu decydują o produkcji pierwotnej.

Zdolność sinic do wzrostu przy małej intensywności światła sprzyja ich rozwojowi w wodach na dużej głębokości [30]. Intensywność światła, która jest wystarczająca do nasycenia ich fotosyntezy, stanowi 2–7% tej, która występuje na powierzchni wody w słoneczny dzień. Jednakże sinice rozwijają się obficie także w powierzchniowych warstwach wód [37, 101].

W ekosystemach wodnych pikoplanktonowe sinice stanowią pierwsze ogniwo łańcuchów pokarmowych. Nannoplanktonowe pierwotniaki takie jak *Actinomonas* i *Uronema*, karmione w warunkach laboratoryjnych sinicami przez okres dłuższy niż rok, preferowały raczej sinice niż heterotroficzne bakterie [20]. Chrookokalne sinice znajdowano także w treści pokarmowej widłonogów. Johnson i wsp. [36] sugerują, że mogą być one źródłem pokarmu dla głębinowych i bentosowych pierwotniaków. Pikoplanktonowe sinice, dzięki korzystnemu współczynnikowi wielkości powierzchni do objętości komórek, są zdolne do szybkiego pobierania sub-

stancji odżywczych i bardzo wydajnego absorbowania światła. Pasywnie przenoszone wraz z prądami wody, w sprzyjających warunkach szybko się rozmnażają. Zaadaptowane do prowadzenia fotosyntezy przy małej intensywności światła, sinice mogą obficie występować w dolnej warstwie strefy eufotycznej ekosystemów wodnych. Dominują one w wodach oligotroficznych, natomiast ustępują ilościowo mikroplanktonowi w warunkach obfitszego występowania substancji pokarmowych.

Mikroplanktonowe, wolno-żyjące sinice takie jak *Trichodesmium*, *Nodularia*, *Aphanizomenon* czy *Anabaena* spp., występują powszechnie zarówno w wodach słodkich, słonych jak i słonych. W ostatnich latach różne gatunki z rodzajów *Nodularia*, *Aphanizomenon* i *Anabaena* pojawiają się bardzo obficie w wodach Bałtyku, prawdopodobnie na skutek ich eutrofizacji [11, 20], szczególnie przy wysokim stężeniu fosforanów [31]. Zakwity sinic wydają się być także związane z temperaturą wody wyższą niż 17°C, co stwierdził Elder [15] badając sukcesję fitoplanktonu w Bałtyku. Wielka przewaga tych mikroorganizmów w konkurencji z licznymi gatunkami glonów eukariotycznych, widoczna bywa również w żyznych jeziorach. Z jedenastoletnich badań Szyszkii [90], dotyczących zmian w fitoplanktonie hypertroficznego jeziora Jelonek wynika, że w sezonie letnim biomasa sinic jest dominująca i może osiągnąć gęstość w zakresie 0,1–72,5 mg/l. Charakterystyczną cechą jeziora było to, że zakwit w tym okresie był jednogatunkowy – *Aphanizomenon flos-aquae*. Jak podaje Barica [7], wielka liczba małych, eutroficznych jezior w centralnej Kanadzie i środkowo-zachodnich regionach USA jest zdominowana w lecie przez sinice (*Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Anabaena*). Istnieje wiele hipotez dotyczących dominacji sinic w jeziorach. Bardzo trafna wydaje się ta, że sinice mają wielokrotnie większą zdolność wiązania CO<sub>2</sub> niż zielenice i rozwijają się znacznie szybciej w warunkach małej dostępności CO<sub>2</sub> przy wzrastającej zasadowości wody [71]. Ten sam czynnik (CO<sub>2</sub>/pH) może także dawać przewagę sinicom w oligotroficznych jeziorach o bardzo małym stężeniu węgla nieorganicznego [17].

Sinice mikroplanktonowe mogą mieć lokalnie największy udział w produkcji pierwotnej. Stanowią one również istotne ogniwo w krążeniu azotu w ekosystemach wodnych. Horne i Goldman [29] podają, że w jeziorach eutroficznych ilość azotu wiązanego przez sinice w ciągu roku, może stanowić połowę azotu ogólnego. Z kolei pikoplankton w wodach oceanów pobiera 27% związanego ogólnego azotu [60]. Jakkolwiek niektóre pikoplanktonowe sinice są zdolne do wiązania wolnego azotu, nie zawsze udawało się to stwierdzić w wodach oceanicznych [20, 48]. Wydaje się, że jednokomórkowe gatunki pikoplanktonowe mają bardzo nieznaczny udział w wiązaniu wolnego azotu, w przeciwieństwie do wszystkich form nitkowatych sinic, które azot atmosferyczny asymilują. Zdolnością tą charakteryzują się zarówno sinice wolnożyjące jak i symbiotyczne, których przykładem może być *Anabaena azollae*, asymilujący N<sub>2</sub> symbiont paproci wodnej *Azolla filiculoides* [70]. Stwierdzono, że sinice w układach symbiotycznych asymilują azot atmosferyczny w tempie znacznie wyższym niż gatunki wolnożyjące [88].

#### INTERAKCJE SINIC Z METALAMI CIĘŻKIMI

Przedstawione wyżej dane ilustrują istotną, lecz ambiwalentną rolę sinic w ekosystemach wodnych oraz wskazują na istnienie skomplikowanych zależności pomiędzy tymi mikroorganizmami, a innymi składnikami ekosystemów, w których występują.

Pod wpływem zanieczyszczeń chemicznych zaburzeniom ulega nie tylko metabolizm sinic, ale również ich funkcja ekologiczna. Do najbardziej niebezpiecznych substancji chemicznych przenikających do środowiska wodnego w wyniku działalności przemysłowej i rolniczej, należą metale ciężkie takie jak miedź, cynk, cyna, ołów, rtęć, kadm, mangan, kobalt, nikiel, chrom itd. Ulegają one kumulacji w organizmach żywych i charakteryzują się długim okresem połowicznego zaniku w tych organizmach. Oddziaływania pomiędzy metalami ciężkimi a mikroorganizmami w ekosystemach wodnych są złożone i poznane w niedostatecznym stopniu. Kluczową rolę odgrywa w nich zjawisko biosorpcji.

Analizując biomasę pobraną z zanieczyszczonych wód można wykazać w niej zawartość metali znacznie przewyższającą stężenie metali w otaczającej wodzie. Współczynnik koncentracji CF (tj. stosunek stężenia metalu w komórkach do stężenia metalu w otaczającej wodzie) może przybierać wartość od kilkuset do kilkudziesięciu tysięcy [96]. Zarówno otoczkujące, jak i nie tworzące regularnych otoczek sinice mają zdolność sorpcji metali ciężkich. Na przykład *Anacystis nidulans* i *Spirulina platensis* mogą akumulować nikiel w ilościach kilkadziesiąt tysięcy razy przewyższających stężenie metalu w wodzie [6]. *Chroococcus parisi* [45] może wiązać (w sposób odwracalny) ok. 90% Cd, Cu i Zn obecnych w wodzie, a inne sinice jak *Aphanocapsa* sp., *A. nidulans*, *A. cylindrica* i *Synechocystis aquatilis* (zarówno żywe jak i martwe) mogą pobierać kadm w ilości 10–40  $\mu\text{mol}$  Cd/g s.m. [32]. Ostatnio wykazano [58], że pojemność sorpcyjna sinic (mierzona jako pojemność kationowymienna) jest znacznie większa, niż eukariotycznych glonów nitkowatych. Może to mieć związek ze specyfiką budowy kompleksu ścianowo-błonowego sinic, a także z większym współczynnikiem powierzchni do objętości (szczególnie u organizmów jednokomórkowych). Komórki sinic stanowią istotną część sestonu w ekosystemach wodnych, charakteryzującą się dużą powierzchnią sorpcyjną. Biorą więc udział w rozmieszczeniu jonów metali ciężkich pomiędzy fazę wodną i cząsteczkową [65] i tym samym wpływają na stężenie równowagowe metali w wodzie. Z ich udziałem może także zachodzić przemieszczanie metali z toni wodnej do osadów dennych. Sinice, podobnie jak cząstki detrytus, odgrywają tym samym znaczną rolę w krążeniu metali. Działając jako sorbent metali mogą zmniejszać potencjalną ich toksyczność względem innych organizmów, które także pobierają metale wprost z wody.

#### WYSTĘPOWANIE I ODPORNOŚĆ SINIC W WODACH ZANIECZYSZCZONYCH METALAMI

W zanieczyszczonych metalami środowiskach obserwuje się dwa charakterystyczne zja-

wiska: 1. redukcję liczby mikroorganizmów i zmniejszenie ich różnorodności gatunkowej oraz 2. rozwój populacji mikroorganizmów o podwyższonej tolerancji/odporności na metale [97]. Takamura i wsp. [91] stwierdzili w zanieczyszczonych wodach rzek (o alkalicznym odczynie), płynących przez regiony wydobywania miedzi i cynku, występowanie licznych gatunków sinic z rodzajów *Phormidium*, *Chamaesiphon* i *Aphanocapsa*. W próbkach perifitonu, pobranych z zanieczyszczonych metalami rzeki Miyata wśród glonów dominowały sinice, a szczególnie ich dwa gatunki: *Chamaesiphon subglobosus* i *Phormidium foveolarum* [91]. W wodzie strumienia zanieczyszczonego kadmem (0,2 mg/l) [72] obserwowano obfity rozwój *Aphanocapsa* sp., a w zanieczyszczonych cynkiem wodach rzek i strumieni o wysokim pH, dominowały nitkowate, nie zawierające heterocyst sinice z rodzajów *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Plectonema* i *Schizothrix* [68, 69, 103]. Izolowane z takich miejsc mikroorganizmy wykazywały często odporność na cynk [72], natomiast nie stwierdzano u sinic trwałej odporności na miedź [92]. Próby uzyskania mutantów *A. nidulans* odpornych na miedź nie powiodły się [67]. W warunkach laboratoryjnych, w wyniku stopniowej adaptacji do wzrastających stężeń metali wyselekcjonowano jednakże szczepy *Synechococcus* sp. tolerujące podwyższone stężenia cynku i kadmu [26, 73]. Na obecnym poziomie wiedzy przyjmuje się, że u sinic tolerancja tych metali jest wynikiem ich wewnątrzkomórkowego wiązania do ligandów podobnych do metalotionein organizmów eukariotycznych, i że gen *smtA* odpowiedzialny za syntezę prokariotycznych metalotionein jest umiejscowiony na chromosomie [26]. Indukowane przez kadm i cynk białka sinic (miedź nie działa w ten sposób), wykazują wysoką zawartość cysteiny, lecz różnią się od metalotionein organizmów eukariotycznych występowaniem aromatycznych reszt aminokwasowych [55]. Ponadto, istnieją doniesienia sugerujące, że mechanizmem odpowiedzialnym za tolerancję wysokich stężeń miedzi przez sinice jest energiozależne usuwanie jonów  $\text{Cu}^{2+}$  z komórek. Stwierdzono to u mutantu *Nostoc caliccola* [99].

## EFEKTY TOKSYCZNE METALI

Niektóre z metali ciężkich (Zn, Cu, Mn, Fe, Co, Ni) jako mikroelementy są niezbędne do prawidłowego wzrostu i metabolizmu sinic. Inne natomiast, takie jak Cd, Pb, Hg, Ag nie pełnią żadnej istotnej funkcji biologicznej i nawet w niskich stężeniach wykazują toksyczne właściwości. W komórkach sinic metale gromadzone są w cytoplazmie [34] oraz w strukturach zwanych granulami polifosforanowymi, co stwierdzono dzięki zastosowaniu analizy rentgenowskiej [8, 62]. Wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia metali ciężkich, takich jak kadm i cynk powoduje zmiany w ilości i objętości tych granul [61, 63] oraz w ilościowym składzie pierwiastków zwykle w nich obecnych, takich jak Ca i Mg [62]. Miedź i ołów wywołują spadek zawartości potasu i wzrost zawartości wapnia w granulach polifosforanowych [35], a więc również zaburzają równowagę jonową organizmu. Gdy badano odporność na metale sinic izolowanych z naturalnych ekosystemów wodnych [91] okazało się, że sinice w porównaniu z eukariotycznymi glonami (zielenice i okrzemki) cechują się większą wrażliwością na Cu, Cd i Zn, niezależnie od tego czy izolowano je z miejsc zanieczyszczonych czy niezanieczyszczonych metalami ciężkimi, i że u wszystkich szczepów produkcja pierwotna pod wpływem metali ulega znacznemu zahamowaniu. Także w badaniach laboratoryjnych nad wpływem miedzi i kadmu stwierdzano, że wśród różnych przedstawicieli fitoplanktonu morskiego sinice wykazują największą wrażliwość na te metale [9], a tempo ich wzrostu ulega najsilniejszemu obniżeniu. Wskaźnik EC<sub>50</sub> (określany po 96 godz), czyli stężenie metalu powodujące 50% efekt toksyczny, w przypadku sinic przyjmuje znacznie niższe wartości niż dla innych fotosyntetyzujących mikroorganizmów planktonowych, takich jak zielenice czy okrzemki [57, 100]. W zależności od stężenia metali, morfologii organizmu oraz warunków doświadczalnych czy środowiskowych, sinice poddane działaniu metali ciężkich, wykazują liczne objawy zaburzeń struktury subkomórkowej, morfologii i metabolizmu. Przykłady negatywnego wpływu szeregu metali

ciężkich na sinice przedstawione są w tabeli 1. Jak widać metale te powodują różnorodne efekty toksyczne, przy czym wszystkie główne mechanizmy tej toksyczności wynikają ze zdolności ich jonów do tworzenia trwałych wiązań z grupami funkcyjnymi w komórkach [54].

## CZYNNIKI REGULUJĄCE TOKSYCZNOŚĆ METALI

Metale ciężkie w środowisku wodnym mogą występować w formach: rozpuszczalnej (obejmującej wolne jony, kompleksy jonowe i/lub metale schelatowane z nieorganicznymi lub organicznymi ligandami) lub cząsteczkowej (np. koloidy, precypitaty). Stwierdzono, że toksyczność metali takich jak kadm i miedź jest zależna od aktywności wolnych, uwodnionych jonów [21], jednakże inne metale np. cyna, są bardziej toksyczne w formie związków metaloorganicznych [3]. W naturze skażeniu metalami towarzyszy zmienność abiotycznych czynników środowiskowych, takich jak: temperatura, oświetlenie, pH, potencjał oksydo-redukcyjny, obecność kationów innych metali, anionów, związków chelatujących. Wywierają one istotny wpływ na dostępność metali do organizmów żywych (biodostępność). Stwierdzono na przykład, że wody rzek silnie skażonych metalami, w których obserwowano obfite występowanie sinic, charakteryzowały się alkalicznym odczynem [92]. Takie warunki (wysokie pH) są nie tylko korzystniejsze dla fizjologii sinic i ich wzrostu, ale także istotnie modyfikują formę chemiczną metali. Przy wartościach pH zbliżonych do 7 i wyższych, metale ciężkie precypitują jako nierozpuszczalne tlenki i wodorotlenki, co może ograniczać ich biodostępność i toksyczne oddziaływanie [22, 82]. Badania nad wpływem kadmu na sinice dowiodły [56, 57, 81], że jego toksyczność (przejawiająca się w zaburzeniach asymilacji CO<sub>2</sub>, fotosyntetycznego wydzielania tlenu i zmianach aktywności enzymatycznej anhidrazy węglanowej u *Synechocystis aquatilis*) zmienia się wraz ze zmianą cech fizyko-chemicznych środowiska. Toksyczność ta jest zależna od pH [57] i zmniejsza się wraz z jego spadkiem (Ryc.1). Zależy ona również od

Tabela 1. Skutki toksycznego działania metali ciężkich na sinice

Table 1. Toxic effects of heavy metals on cyanobacteria

ORGANIZM ORGANISM	METAL	REAKCJA RESPONSE	PIŚM. REF.
FOTOSYNTENZA PHOTOSYNTHESIS			
<i>Anabaena flos-aquae</i>	Cd	Redukcja powierzchni tylakoidów Reduction of thylakoid surface area	[62]
<i>Anabaena inaequalis</i>	Ni, Hg	Zahamowanie fotosyntezy, zanik pigmentu Photosynthesis inhibition, pigment bleaching	[89]
<i>Anacystis</i>	Cu, Pb	Degradacja aparatu fotosyntetycznego i mitochondrialnego Photosynthetic apparatus and mitochondrial degradation	[74]
<i>Plectonema boryanum</i>	Mn, Pb, Co, Ni, Cd	Zwiększenie powierzchni tylakoidów Increase in thylakoid surface area	[61]
<i>Anabaena flos-aquae</i>	mieszanina 10 metali 10 metal mixture	Zahamowanie wiązania CO <sub>2</sub> Reduced CO <sub>2</sub> fixation	[104]
<i>Anacystis nidulans</i> <i>Spirulina platensis</i>	Cu, Cd, Ni	Spadek zawartości chlorofilu a zahamowanie wiązania CO <sub>2</sub> Decrease of chlorophyll a content reduced CO <sub>2</sub> fixation	[4, 5, 6]
<i>Anacystis nidulans</i>	Cu, Cd, Zn	Zahamowanie reakcji Hilla i wydzielania tlenu Inhibition of Hill activity and photosynthetic oxygen evolution	[75]
<i>Anabaena flos-aquae</i>	Cd	Spadek ilości karboksosomów Reduction in number of carboxysomes	[64]
<i>Synechocystis aquatilis</i>	Cd	Zahamowanie wiązania CO <sub>2</sub> , wydzielania O <sub>2</sub> , spadek aktywności anhidrazy węglanowej Reduced CO <sub>2</sub> fixation, O <sub>2</sub> evolution and carbonic anhydrase activity	[57, 81]
WZROST I METABOLIZM GROWTH AND METABOLISM			
<i>Anabaena inaequalis</i>	Ni, Hg	Zahamowanie wzrostu i redukcji acetyleny Inhibited growth and acetylene reduction	[89]
<i>Anabaena 7120</i>	Cu, Cd, Pb	Zahamowanie wzrostu Growth inhibition	[44]
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Zn	Zahamowanie wzrostu Growth inhibition	[2]
<i>Chroococcus parisi</i>	Cu, Cd, Zn	Zahamowanie wzrostu Growth inhibition	[45]
<i>Nostoc muscorum</i> <i>Nostoc sp</i>	Cd	Zahamowanie wiązania wolnego azotu Reduction in nitrogen fixation	[28]
<i>Anacystis nidulans</i>	Cd	Zahamowanie pobierania azotanów Inhibition of nitrate uptake	[76]
<i>Synechocystis aquatilis</i>	Cd	Zmiany w metabolizmie związków adenylowych Changes in cellular adenylate metabolism	[56]

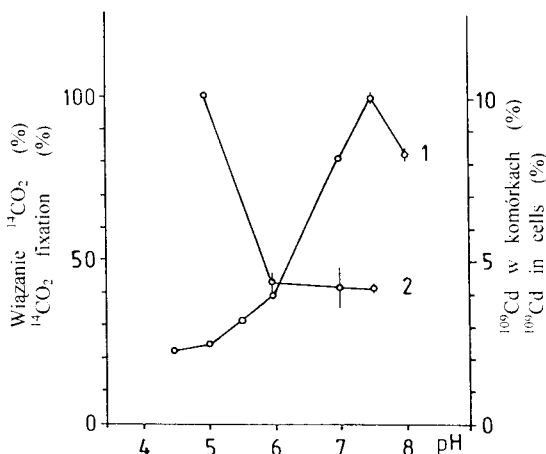
Tabela 1. (c.d.)

Table 1. (cont.)

ORGANIZM ORGANISM	METAL	REAKCJA RESPONSE	PIŚM. REF.
<i>Anabaena cylindrica</i>	Cd	Zahamowanie wzrostu, zniekształcenia komórek wegetatywnych, wzrost liczby heterocyst, liza komórek <i>Growth inhibition, cellular malformations, increase in heterocyst number, cell lysis</i>	[14]
<i>Anabaena 7120</i>	Cu, Cd	Zmiany w strukturze subkomórkowej i wzrost liczby heterocyst <i>Changes in subcellular structure and larger proportions of heterocysts</i>	[49]
<i>Plectonema boryanum</i>	Cd	Wzrost ilości granul polifosforanowych <i>Increased number of polyphosphate bodies</i>	[61]
<i>Anabaena flos-aquae</i> <i>Anabaena variabilis</i>	Zn	Wzrost ilości granul polifosforanowych <i>Increased number of polyphosphate bodies</i>	[63]
<i>Anabaena flos-aquae</i>	Cd	Zanik struktur subkomórkowych, liza ściany komórkowej <i>Reduction in subcellular structures, cell wall lysis</i>	[64]

stężenia jonów chlorkowych (tabela 2) [81]. W środowisku zawierającym wyższe stężenia  $\text{Cl}^-$ , toksyczność Cd (mierzona jako zahamowanie asymilacji  $^{14}\text{CO}_2$ ) wyraźnie zmniejsza się, na

skutek tworzenia chlorkowych kompleksów, które są znacznie słabiej pobierane niż jony  $\text{Cd}^{2+}$ . W wyższej temperaturze (20–30°C) i na świetle, niezbędnym dla fotosyntezy sinic, kadm



Ryc. 1. Transport  $\text{Cd}^{2+}$  (1) i fotosyntetyczne wiązanie  $^{14}\text{C}$  (2) w komórkach *Synechocystis aquatilis* poddanych działaniu kadmu przy różnym pH. Całkowite stężenie kadmu (8,9  $\mu\text{M}$ ) oraz wiązanie  $^{14}\text{C}$  w hodowlach kontrolnych bez kadmu przy każdej wartości pH, przyjęto za 100%. Transport kadmu do komórek badano po 40 min inkubacji z metalem [57]

Fig. 1.  $\text{Cd}^{2+}$  transport (1) and  $^{14}\text{C}$  fixation (2) in cells of *Synechocystis aquatilis* exposed to cadmium at different external pH. Total Cd concentration (8.9  $\mu\text{M}$ ) and  $^{14}\text{C}$  fixation in the control without Cd at each pH value were taken as 100%. Cd transport measurements were made after 40 min of incubation with metal [57]

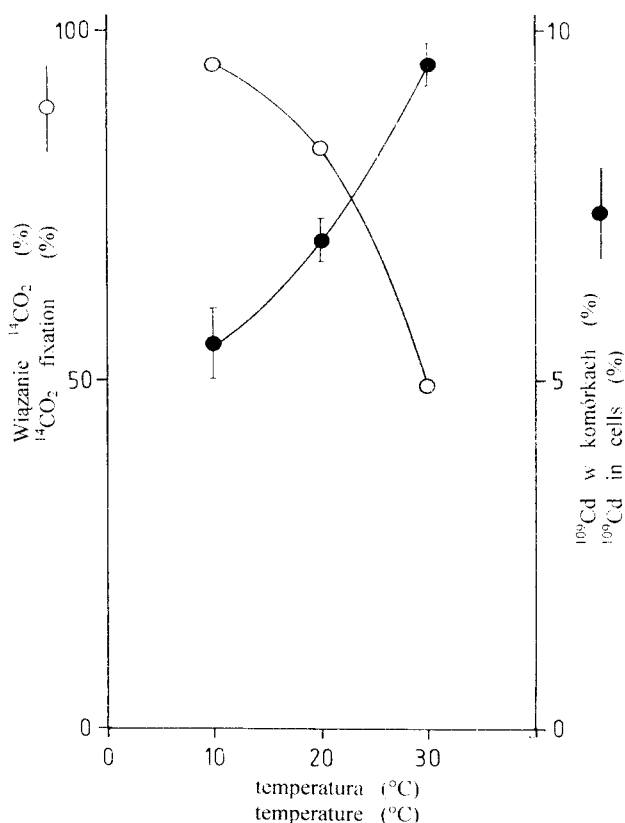
Tabela 2. Fotosyntetyczne wiązanie węgla nieorganicznego przez *Synechocystis aquatilis* w roztworach zawierających 2 mg Cd/l i kompleksujące (KCl) lub niekompleksujące (KNO<sub>3</sub>) kadm sole (%)<sup>a</sup> [81]

Table 2. Carbon assimilation (%)<sup>a</sup> by *Synechocystis aquatilis* in cadmium complexing (KCl) or non-complexing (KNO<sub>3</sub>) solutions [81]

stężenie soli (M) salt concentration (M)	KCl	KNO <sub>3</sub>
0,001	0,35	0,52
0,01	4,10	0,12
0,05	38,40	1,11
0,1	70,00	0,45
0,5	87,50	0,43

<sup>a</sup> Wiązanie węgla (<sup>14</sup>C) przez sinicę w odpowiednich roztworach soli bez kadmu przyjęto za 100%.

<sup>a</sup> <sup>14</sup>C assimilation by the cyanobacterium in appropriate salt solution without cadmium is set to 100%.



Ryc. 2. Transport kadmu i wiązanie <sup>14</sup>C w komórkach *Synechocystis aquatilis* poddanych działaniu metalu w różnych temperaturach. Całkowite stężenie kadmu (8,9 μM) i wiązanie <sup>14</sup>C w kontrolach bez kadmu, przyjęto za 100% [56]

Fig. 2. Cadmium transport and <sup>14</sup>C fixation in *Synechocystis aquatilis* treated with metal at different temperatures. Total Cd concentration (8.9 μM) and <sup>14</sup>C fixation in controls without Cd at each temperature were taken as 100% [56]

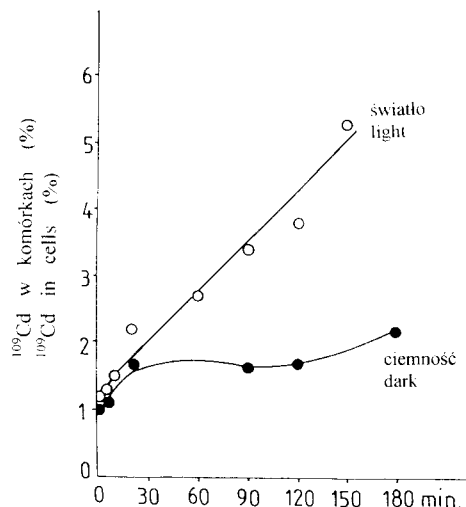


wykazuje silniejsze działanie toksyczne niż w temperaturze 10°C lub w ciemności, co ma bezpośredni związek z wpływem tych czynników na transport  $\text{Cd}^{2+}$  do komórek (Ryc. 2) [56]. Stwierdzono także [76], że kationy wapnia i cynku (w nietoksycznych stężeniach) zmniejszają hamujący wpływ kadmu na pobieranie azotanów przez *A.nidulans*, natomiast kationy rtęci i kadmu wywołują efekt synergistyczny.

#### POBIERANIE METALI CIĘŻKICH PRZEZ SINICE

Negatywne skutki działania metali ujawniają się wtedy, gdy ich nadmiar wnika do komórek (dotyczy to mikroelementów), lub gdy zostanie pobrany metal trujący, zbędny dla metabolizmu (Cd, Pb, Ag, Hg). Pobieranie metali ciężkich przez sinice, podobnie jak w przypadku bakterii i mikroorganizmów eukariotycznych (glony, grzyby), jest procesem złożonym z dwóch faz o różnej naturze. Pierwsza – to szybka, odwracal-

na sorpcja powierzchniowa zachodząca na skutek oddziaływań pomiędzy jonami metali a grupami reaktywnymi obecnymi na powierzchni komórek. Głównym mechanizmem tego procesu jest wymiana jonowa. Les i Walker [45] stwierdzili, że 90% Cd, Cu i Zn było wiązane w sposób odwracalny przez komórki otoczkującej sinicy *Chroococcus paris* już w ciągu 1 min. kontaktu komórek z jonami metali. Izotermie sorpcji badane w zakresie stężeń 1–200 ppm były zgodne z modelem Langmuira, a wielkość sorpcji zależała w sposób istotny od pH (wzrastała wraz ze wzrostem pH w zakresie 4–7). Składniki kompleksu ścianowo-błonowego sinic, a szczególnie warstwa śluzów otoczkowych zawierających kwasy organiczne z licznymi grupami karboksylowymi, mogą mieć duże znaczenie w sorpcji powierzchniowej metali [33]. Zaobserwowano również, że pojemność kationowymienna powierzchni sinic (*Anacystis nidulans* i *Synechocystis aquatilis*), decydująca o wielkości sorpcji metali, jest zależna od pH. W kwaśnym środowisku (pH 5) jest ona 2–3 razy niższa niż w środowisku obojętnym [58]. Druga faza dotyczy wnikania metalu do komórek i jest długotrwała oraz zależna od energii metabolicznej, a więc ma miejsce tylko w komórkach żywych. Transport metali do komórek sinic był dotychczas mało badany. Stwierdzono np., że nikiel, niezbędny w procesie wiązania wolnego azotu, jest pobierany przez *Anabaena cylindrica* [12] z udziałem specyficznego systemu transportu, o dużym powinowactwie do metalu. Świadczy o tym niska wartość stałej Michaelisa,  $K_m$  17 nM. Proces pobierania Ni jest zależny od potencjału membranowego komórek i jest hamowany w ciemności oraz pod wpływem inhibitorów i rozpręgaczy fosforylacji fotosyntetycznej i oksydacyjnej. Verma i Singh [98] stwierdzili istnienie zależnego od światła i ATP transportu miedzi do komórek *Nostoc calcicola*. W przypadku pobierania kadmu przez *A. nidulans* zaobserwowano, że proces ten przebiega zgodnie z kinetyką nasycenia Michaelisa-Menten i że wywierają nań wpływ odczyn środowiska oraz obecność kationów innych metali i substancji chelatujących [77]. Badania przeprowadzone z udziałem N,N'-dicykloheksylokarbodiimidu (DCCD),



Ryc. 3. Przebieg transportu kadmu do komórek *Synechocystis aquatilis* na świetle i w ciemności. Gęstość hodowli sinic 350 mg s.m./l. Całkowite stężenie kadmu przyjęto za 100% [56]

Fig. 3. Time-course of cadmium transport into *Synechocystis aquatilis* in light or darkness. Cell suspension density 350 mg dry wt/l. Total Cd concentration was taken as 100% [56]

karbonylocyjanku 3-chlorofenylohydrazonu (CCCP), 3–3,4-dichlorofenylo 1,1-metylomocznika (DCMU) i 2,4-dinitrofenolu (DNP) – inhibitorów i rozprzęgaczy fosforylacji fotosyntetycznej i oksydatywnej dowiodły, że u sinicy *Synechocystis aquatilis* (rozpowszechnionej w wielu różnych ekosystemach wodnych) zachodzi aktywny transport kationów  $\text{Cd}^{2+}$  do komórek, zależny od energii metabolicznej [56]. Można go stwierdzić już po kilku sekundach kontaktu komórek z jonami  $\text{Cd}^{2+}$  [57], jednakże zwykle jest on maskowany przez przeważającą ilościowo sorpcję powierzchniową [33]. Proces ten przebiega znacznie bardziej efektywnie na świetle niż w ciemności (Ryc. 3) (u sinic w ciemności źródłem ATP jest fosforylacja oksydacyjna [53]), i jest hamowany przez rozprzęgacze fosforylacji. Przebiega on zgodnie z kinetyką nasycenia Michaelisa-Menten, z szybkością  $V_{\text{max}} = 1,43 \mu\text{mola Cd/min} \times \text{g s.m.}$ . Wysoka wartość stałej Michaelisa  $K_m 286 \mu\text{M}$  wskazuje jednak na to, że u sinicy tej nie istnieje specyficzny dla  $\text{Cd}^{2+}$  system transportu [56]. pH środowiska [57] i temperatura [56] również wywierają znaczny wpływ na transport kadmu. Optymalnie przebiega on przy pH 7,5, natomiast wraz z zakwaszaniem środowiska transport  $\text{Cd}^{2+}$  ulega zahamowaniu (Ryc. 1), pomimo że w takich warunkach metal występuje w formie wolnego kationu, a więc najbardziej biodostępnej. Transport kadmu wzrasta się wraz ze wzrostem temperatury (w badanym zakresie 10–30°C, Ryc. 2). Hamowanie tego procesu przez równomolowe stężenia  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$  [56] sugeruje konkurencję między tymi kationami a kadmem o system transportu oraz możliwość wnikania kadmu za pośrednictwem systemów transportu dla pierwiastków fizjologicznie istotnych. Działanie zależnego od ATP systemu transportu wapnia wykazano wcześniej w błonie cytoplazmatycznej innej sinicy *Anabaena variabilis* [47]. Mechanizm pobierania kadmu stwierdzony u *Synechocystis aquatilis* różni się więc od występującego u mikroglonów eukariotycznych [58, 79] i niektórych bakterii heterotroficznych [43], do których metal ten wnika za pośrednictwem systemu transportu manganu. Przytoczone wyżej dane wskazują, że czynniki fizyko-chemiczne

środowiska poprzez swój wpływ na formę chemiczną metali oraz na proces sorpcji powierzchniowej i energio-zależny transport metali do komórek sinic, decydują w dużej mierze o dostępności metali ciężkich dla mikroorganizmów, a co za tym idzie o ich toksycznym oddziaływaniu.

#### ODDZIAŁYWANIE METABOLITÓW SINIC Z METALAMI CIĘŻKIMI

Sinice mogą być źródłem substancji organicznych w wodach powierzchniowych. W przypadku masowego występowania czyli tzw. zakwitu, produkują one znaczne ilości kwasu glikolowego, licznych mono-, oligo- i polisacharydów oraz polipeptydów o właściwościach kompleksujących metale [87]. W morzach, sinice z rodzajów *Microcystis* i *Trichodesmium* wydzielają znaczną ilość niskocząsteczkowych węglowodanów [66]. Większość sinic wytwarza również zewnętrzną warstwę polisacharydową przypominającą bardzo śluz bakterijne. Na przykład zewnątrzkomórkowa otoczka *Gloethece* jest zbudowana z kwaśnych heteropolisacharydów zawierających cukry proste, kwasy uronowe, a także białka [95]. Skład ilościowy śluzów otoczkowych sinic zależy od warunków środowiskowych, a także wieku komórek. Występujące w otoczkach liczne grupy funkcyjne takie np. jak karbonylowe, karboksylowe, hydroksylowe i siarczanowe oddziałują łatwo z kationami metali. Mechanizm ten ułatwia komórkom nie tylko zażycie na ich powierzchni mikroelementów [95], ale sprzyja także sorpcji metali toksycznych, takich jak kadm. Sinice mogą oddziaływać na metale w swoim środowisku również w inny sposób. Stwierdzono, że szereg gatunków z rodzaju *Anabaena*, a także *A. nidulans*, *Microcystis aeruginosa*, *Nostoc muscorum* i sinice morskie wydzielają siderofory, niskocząsteczkowe związki chelatujące żelazo [24] a także miedź [51]. W czasie zakwitu główną formą chemiczną miedzi w wodzie może być więc nietoksyczny kompleks miedź-siderofor. Z kolei jednokomórkowa sinica *Synechococcus leopoliensis* wytwarza związek słabiej kompleksujący miedź, nie będący sideroforem. Ciekaw-

wego przykładu oddziaływania sinic na metale ciężkie w wodach naturalnych dostarcza obserwacja Jones i wsp. [38]. Stwierdzili oni istotne zmiany chemicznej specjacji kadmu i żelaza podczas zakwitu *Trichodesmium* w wodach Wielkiej Rafy Koralowej. Zjawisko to spowodowane było obecnością tzw. morskich kwasów huminowych, uwalnianych przez starzejący się zakwit sinicy. Stwierdzono również, że substancja pochodząca z *Trichodesmium* ma zdolność kompleksowania zarówno kadmu jak i miedzi. Tak więc zmiany form chemicznych metali śladowych, następujące w efekcie zakwitów sinicowych, mogą mieć znaczenie dla sezonowych zmian ich biodostępności. Przytoczone dane ilustrują złożoność oddziaływań istniejących pomiędzy sinicami a metalami w wodach oraz wskazują na potrzebę wnikliwego poznania wzajemnych relacji pomiędzy mikroorganizmami wodnymi a ich abiotycznym środowiskiem.

#### LITERATURA

- [1] ALLEN H. E. 1984. Cyanobacterial cell inclusions. *Ann. Rev. Microbiol.* **38**: 1–25.
- [2] ALLEN H. E., HALL R. H., BRISBIN T. D. 1980. Metal speciation. Effects on aquatic toxicity. *Environ. Sci. Technol.* **14**: 441–443.
- [3] AVERY S. V., MILLER M. E., GADD G. M., CODD G. A., COONEY J. J. 1991. Toxicity of organotins towards cyanobacterial photosynthesis and nitrogen fixation. *FEMS Microbiol. Lett.* **84**: 205–210.
- [4] AZZEZ P. A., BANERJEE D. K. 1986. Effect of copper and cadmium on carbon assimilation and uptake of metals by algae. *Toxicol. Envir. Chem.* **12**: 77–87.
- [5] AZZEZ P. A., BANERJEE D. K. 1987. Influence of light on chlorophyll a content of blue-green algae treated with heavy metals. *Bull. Envir. Contam. Toxicol.* **38**: 1062–1069.
- [6] AZZEZ P. A., BANERJEE D. K. 1991. Nickel uptake and toxicity in cyanobacteria. *Toxicol. Envir. Chem.* **30**: 43–50.
- [7] BARICA J. 1990. Factors controlling the evolution of salinity, productivity and ecological stability of eutrophic lakes in central north America. W: *International Symposium on Evolution of Freshwater Lakes*, Poznań, ss. 9.
- [8] BAXTER M., JENSEN T. E. 1980. A study of methods for *in situ* X-ray energy dispersive analysis of polyphosphate bodies in *Plectonema boryanum*. *Arch. Microbiol.* **126**: 213–215.
- [9] BRAND L. E., SUNDA W. G., GUILLARD R. R. L. 1986. Reduction of marine phytoplankton reproduction rates by copper and cadmium. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **96**: 225–250.
- [10] BROCK T. D. 1973. Lower pH limit for the existence of blue-green algae: evolutionary and ecological implications. *Science* **179**: 480–483.
- [11] BURSA A. S. Epicensy na *Nodularia spumigena* Mertens w Bałtyku. *Acta Hydrobiol.* **10**: 267–297.
- [12] CAMPBELL P. M., SMITH G. D. 1986. Transport and accumulation of nickel ions in the cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. *Arch. Biochem. Biophys.* **244**: 470–477.
- [13] CARMICHAEL W. W. 1994. The toxins of cyanobacteria. *Sci. Amer.* **270**: 78–86.
- [14] DELMOTTE A. 1980. Influence of cadmium on growth and nitrogen metabolism of *Anabaena cylindrica* Lemm. *J. Exp. Bot.* **31**: 1107–1118.
- [15] ELDER L. 1979. Phytoplankton succession in the Baltic Sea. *Acta Bot. Finn.* **110**: 75–78.
- [16] EL HAG A. G. P., FOGG G. E. 1986. The distribution of coccoid blue-green algae (Cyanobacteria). *Br. Phycol. J.* **21**: 315–319.
- [17] ELORANTA P. 1986. Phytoplankton structure in different lake types in central Finland. *Holarctic Ecology* **9**: 214–224.
- [18] ELORANTA P. 1990. Oligotrophic lake development along with acidification. W: *International Symposium on Evolution of Freshwater Lakes*, Poznań, ss. 21.
- [19] ERNST A., SANDMANN G., POSTIUS C., BRASS S., KENTER U., BOGER P. 1992. Cyanobacterial picoplankton from lake Constance II. Classification of isolates by cell morphology and pigment composition. *Bot. Acta.* **105**: 161–167.
- [20] FOGG G. E. 1987. Marine planktonic cyanobacteria. W: *The Cyanobacteria*, P. Fay, C. Van Baalen (red.), Elsevier Sci. Publ. Amsterdam, New York, Oxford, ss. 393.
- [21] FOSTER P. L., MOREL F. M. W. 1982. Reversal of cadmium toxicity in a diatom: an interaction between cadmium activity and iron. *Limnol. Oceanogr.* **27**: 745–752.
- [22] GADD G. M., GRIFFITH A. J. 1978. Microorganisms and heavy metal toxicity. *Microb. Ecol.* **4**: 303–317.
- [23] GLEASON F. K., WOOD J. M. 1987. Secondary metabolism in the cyanobacteria. W: P. FAY, C. VAN BAALEN (red.), *The Cyanobacteria*. Elsevier Sci. Publ. Amsterdam, New York, Oxford, ss. 437.
- [24] GOLDMAN S. J., LAMMERS P. J., BERMAN M. S., SANDERS-LOEHR J. 1983. Siderephore-mediated iron uptake in different strains of *Anabaena* sp. *J. Bact.* **156**: 1144–1150.
- [25] GUILLARD R. R. L., MURPHY L. S., FOSS P., LIAAEN-JENSEN S., 1985. *Synechococcus* spp. as likely zeaxanthindominant ultraphytoplankton in the North Atlantic. *Limnol. Oceanogr.* **30**: 412–414.
- [26] GUPTA A., WHITTON A. B., MORBY A. P., HUCKLE J. W., ROBINSON N. J. 1992. Amplification and rearrangement of a prokaryotic metallothionein locus *smtn* in *Synechococcus* PCC 6301 selected for tolerance to cadmium. *Proc. R. Soc. Lond B*, **248**: 273–281.
- [27] HART B. A., BERTRAM P. E., SCAIFE B. C. 1979. Cad-

- mium transport by *Chlorella pyrenoidosa*. *Environ. Res.* **18**: 327–330.
- [28] HENRIKSSON L. E., DA SILVA E. J. 1978. Effects of some inorganic elements on nitrogen fixation in blue-green algae and some ecological aspects of pollution. *Z. Allg. Mikrobiol.* **18**: 487–494.
- [29] HORNE A. J., GOLDMAN G. R. 1974. Suppression of nitrogen fixation by blue-green algae in a eutrophic lake with trace addition of copper. *Science*. **183**: 409–411.
- [30] HOWARD K. M., JOINT I. R. 1989. Physiological ecology of picoplankton in the North Sea. *Mar. Biol.* **102**: 275–281.
- [31] HUBER A. L. 1984. A simple method for the isolation and enumeration of sparse populations of cyanobacteria in estuarine waters. *J. Phycol.* **20**: 619–621.
- [32] JAKUBOWSKI M., SKOWROŃSKI T. 1991. Cadmium binding by some cyanobacteria and lake sediments. W: I. G. FARMER (red.), *Heavy Metals in the Environment*, Edinburgh, vol. 1, ss. 432.
- [33] JAKUBOWSKI M., SKOWROŃSKI T. 1992. Sorpcja kadmu przez sinice *Synechocystis aquatilis* i *Aphanocapsa* sp. różniące się otoczką śluzową. W: *Materiały Naukowe XXII Zjazdu PTM*, Kraków, ss. 333.
- [34] JENSEN T. E., RACHLIN J. W., BAXTER M., WARKENTINE B., JANI V. 1984. Heavy metal compartmentalization by algal cells. W: G. W. BAILEY (red.), *Proceedings of the 42nd Annual Meeting of the Electron Microscopy Society of America*, San Francisco, ss. 294.
- [35] JENSEN T. E., RACHLIN J. W., JANI V., WARKENTINE B. E. 1986. Heavy metal uptake in relation to phosphorus nutrition in *Anabaena variabilis* (Cyanophyceae). *Environ. Pollut. Ser. A*. **42**: 261–271.
- [36] JOHNSON P. W., XU H., SIEBURTH J. M. C. N. 1982. The utilization of chroococcoid cyanobacteria by marine protozooplankters but not by calanoid copepods. *Ann. Inst. Oceanoogr.* **58**: 297–308.
- [37] JOINT I. R. 1986. Physiological ecology of picoplankton in various oceanographic provinces. *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.* **214**: 287–309.
- [38] JONES G. B., THOMAS F. G., BURDON-JONES C. 1986. Influence of *Trichodesmium* blooms on cadmium and iron speciation in Great Barrier Reef Lagoon Waters. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **23**: 387–401.
- [39] JUETTNER F. 1983. Volatile odours excretion products of algae and their occurrence in the natural aquatic environment. *Water Sci. Technol.* **15**: 247–257.
- [40] KAWECKA B., ELORANTA P. V. 1994. Zarys ekologii glonów wód słodkich i środowisk lądowych, PWN Warszawa, ss. 252.
- [41] KOMAREK J. 1994. Current trends and species delimitation in the cyanoprokaryote taxonomy. *Algalological Studies* **75**: 11–29.
- [42] KUNICKI-GOLDFINGER W. J. H. 1982. Życie bakterii. PWN Warszawa, ss. 577.
- [43] LADDAGA R. A., SILVER S. 1985. Cadmium uptake in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.* **162**: 1100–1105.
- [44] LAUBE V. M., MC KENZIE C. N., KUSHNER D. J. 1980. Strategies of response to copper, cadmium and lead by a blue-green and a green alga. *Can. J. Microbiol.* **26**: 1300–1311.
- [45] LES A., WALKER R. W. 1984. Toxicity and binding of copper, zinc and cadmium by the blue-green alga *Chroococcus parisi*. *Water, Air, Soil Pollut.* **23**: 129–139.
- [46] LI W. K. W., SUBBA RAO D. V., HARRISON G. W., SMITH J. C., CULLEN J. J., IRWIN B., PLATT T. 1982. Autotrophic picoplankton in the tropical ocean. *Science*. **219**: 292–295.
- [47] LOCKAU W., PFEFFER S. 1983. ATP-dependent calcium transport in membrane vesicles of the cyanobacterium *Anabaena variabilis*. *Biochim. Biophys. Acta* **733**: 124–132.
- [48] MAQUE T. H., WEARE N. M., HOLM-HANSEN O. 1974. Nitrogen fixation in the North Pacific Ocean. *Mar. Biol.* **24**: 109–119.
- [49] MASSALSKI A., LAUBE V. M., KUSHNER D. J. 1981. Effects of cadmium and copper on the ultrastructure of *Ankistrodesmus braunii* and *Anabaena* 7120. *Microb. Ecol.* **7**: 183–193.
- [50] MATTSON R., WILLEN T. 1986. Toxin producing blue-green algae in Swedish lakes, 1985. *Naturvardsverket. rap.* 3096/1986, ss. 26.
- [51] MC KNIGHT D. M., MOREL F. M. M. 1980. Copper complexation by siderophores from filamentous blue-green algae. *Limnol. Oceanogr.* **25**: 62–71.
- [52] MUSHRIFAH I., PETERSON P. I. 1990. Toxicity of cadmium and tin to chlorophyll a and protein content of *Anabaena flos-aquae*. *Microb. Lett.* **45**: 151–160.
- [53] NITSCHMANN W. H., PESCHEK G. A. 1986. Oxydative phosphorylation end energy buffering in cyanobacteria. *J. Bacteriol.* **168**: 1205–1211.
- [54] OCHIAI E.-I. 1987. General Principles of Biochemistry of the Elements. Plenum Press New York ss. 187.
- [55] OLAFSON R. W. 1986. Physiological and chemical characterization of cyanobacterial metallothioneins. *Environ. Health Perspect.* **65**: 71–75.
- [56] PAWLIK B., SKOWROŃSKI T. 1994. Transport and toxicity of cadmium: its regulation in the cyanobacterium *Synechocystis aquatilis*. *Env. Exp. Bot.* **34**: 225–233.
- [57] PAWLIK B., SKOWROŃSKI T., RAMAZANOV Z., GARDESTROM P., SAMUELSSON G. 1993. pH-dependent cadmium transport inhibits photosynthesis in the cyanobacterium *Synechocystis aquatilis*. *Env. Exp. Bot.* **33**: 331–337.
- [58] PIRSZEL J., PAWLIK B., SKOWROŃSKI T. 1995. Cation – exchange capacity of algae and cyanobacteria: a parameter of their sorption abilities. *J. Ind. Microbiol.* **14**: 319–322.
- [59] PLATT T., SUBBA RAO D. V., IRWIN B. 1983. Photosynthesis of picoplankton in the oligotrophic ocean. *Nature* **301**: 702–704.
- [60] PROBYN T. A. 1985. Nitrogen uptake by size-fractionated phytoplankton populations in the southern Benguela upwelling system. *Mar. Ecol. Prog. Sci.* **22**: 249–258.
- [61] RACHLIN J. W., JENSEN T. E., BAXTER M., JANI V. 1982. Utilization of morphometric analysis in evaluating response of *Plectonema boryanum* (Cyanophy-

- ceae) to exposure to eight heavy metals. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **11**: 323–328.
- [62] RACHLIN J. W., JENSEN T. E., WARKENTINE B. 1984. The toxicological response of the alga *Anabaena flos-aquae* (Cyanophyceae) to cadmium. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **13**: 143–151.
- [63] RACHLIN J. W., JENSEN T. E., WARKENTINE B. 1985. Morphometric analysis of the response of *Anabaena flos-aquae* and *Anabaena variabilis* (Cyanophyceae) to selected concentrations of zinc. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **14**: 395–402.
- [64] RAI L. C., JENSEN T. E., RACHLIN J. W. 1990. A morphometric and X-ray energy dispersive approach to monitoring pH-altered cadmium toxicity in *Anabaena flos-aquae*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **19**: 479–487.
- [65] REVIS N. J. P., MERKS A. G. A., VALENTA P., RUTZEL H. 1989. Heavy metal uptake by plankton and other seston particles. *Chem. Spec. Bioavailab.* **1**: 31–37.
- [66] SAKUGAWA H., HANDA N., YAGI K. 1990. Distribution of glycosylglycerols and oligosaccharides in the marine environment and their ecological significance in the deep sea. *Mar. Biol.* **106**: 309–313.
- [67] SARMA T. A. 1979. An attempt to find cooper resistance in *Anacystis nidulans*. W: SINGH S. P., TIWARI D. N., KASHYAP A. K., YADAWAL P. K. (red.), *Advances in Cyanophyte Research*. Banaras University Press, Banaras, s. 377.
- [68] SAY P. J., WHITTON B. A. 1981. Chemistry and plant ecology of zinc-rich streams in the Northern Pennines. (W): *Heavy metals in Northern England: environmental and biological aspects*. SAY P. J., WHITTON B. A. (red.), University of Durham, England, s: 55–63.
- [69] SAY P. J., WHITTON B. A. 1980. Changes in flora down a stream showing a zinc gradient. *Hydrobiologia* **76**: 255–260.
- [70] SELA M., FRITZ E., HUTTERMANN A., TEL-OR E. 1990. Studies on cadmium localization in the water fern *Azolla*. *Physiol. Plant.* **79**: 547–553.
- [71] SHAPIRO J. 1990. Current beliefs regarding dominance by blue-greens: the case for the importance of CO<sub>2</sub> and pH. *Verh. Int. Verein. Limnol.* **24**: 38–54.
- [72] SHEHATA F. H. A., WHITTON B. A. 1981. Field and laboratory studies in blue-green algae from aquatic sites with high levels of zinc. *Verh. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.* **21**: 1466–1471.
- [73] SHEHATA F. H. A., WHITTON B. A. 1982. Zinc tolerance in strains of the blue-green alga *Anacystis nidulans*. *Br. phycol. J.* **17**: 5–12.
- [74] SICKO-GOAD L. 1982. A morphometric analysis of algal response to low dose, short-term heavy metal exposure. *Protoplasma* **110**: 75–86.
- [75] SINGH D. P., SINGH S. P. 1987. Action of heavy metals on Hill activity and oxygen evolution in *Anacystis nidulans*. *Plant. Physiol.* **83**: 12–14.
- [76] SINGH S. P., YADAVA V. 1983. Cadmium induced inhibition of nitrate uptake in *Anacystis nidulans*: interaction with other divalent cations. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **29**: 297–304.
- [77] SINGH S. P., YADAVA V. 1985. Cadmium uptake in *Anacystis nidulans*: effect of modifying factors. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **31**: 39–48.
- [78] SIVONEN K., NIEMELA S. I., NIEMI R. M., LEPISTO L., LUOMA T. H., RASANEN L. A. 1990. Toxic cyanobacteria (blue-green algae) in Finnish fresh and costal waters. *Hydrobiologia* **190**: 267–275.
- [79] SKOWROŃSKI T. 1988. Wpływ kadmu na glony jednokomórkowe. *Postępy Mikrobiologii* **27**: 77–94.
- [80] SKOWROŃSKI T., PAWLIK B., JAKUBOWSKI M. Reduction of cadmium toxicity to green microalga *Stichococcus bacillaris* by manganese. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **41**: 915–920.
- [81] SKOWROŃSKI T., SZUBIŃSKA S., JAKUBOWSKI M., PAWLIK B. 1992. Cadmium availability to the cyanobacterium *Synechocystis aquatilis* in solutions containing chloride. *Environ. Pollut.* **76**: 163–167.
- [82] SKOWROŃSKI T., SZUBIŃSKA S., PAWLIK B., JAKUBOWSKI M., BILEWICZ R., CUKROWSKA E. 1991. The influence of pH on cadmium toxicity to the green alga *Stichococcus bacillaris* and on cadmium forms in the culture medium. *Environ. Pollut.* **74**: 89–100.
- [83] SKULBERG O. M., CODD G. A., CARMICHAEL W. W. 1984. Toxic blue-green algal blooms in Europe a growing problem. *Ambio* **13**: 244–247.
- [84] SMITH J. C., PLATT T., LI W. K. W., HORNE E. P. W., HARRISON W. G., SUBBA RAO D. V., IRWIN B. 1985. Arctic marine photoautotrophic picoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **20**: 207–220.
- [85] STANIER R. Y., COHEN-BAZIRE G. 1977. Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* **31**: 225–274.
- [86] STARMACH K. 1966. Flora słodkowodna Polski, t. 2 (Cyanophyta – sinice, Glaucophyta – glaukofity), PWN, Warszawa s. 807.
- [87] STEINER A. 1985. Algenburtige Stoffe in Oberflächengewässern. W: *Schadstoffbelastung und Ökosystemschutz im aquatischen Bereich*. R. Oldenburg Verlag GmbH, München, ss. 281.
- [88] STEWART W. D. P., ROWELL P., RAI A. N. 1983. Cyanobacteria-eukaryotic plant symbioses. *Ann. Microbiol.* **134B**: 205–228.
- [89] STRATTON G. W., CORKE C. T. 1979. The effect of mercuric, cadmium and nickel ion combinations on a blue-green alga. *Chemosphere* **10**: 731–740.
- [90] SZYSZKA T. 1990. Changes in the phytoplankton in the hypertrophic lake within the compass of eleven years. W: *International Symposium on Evolution on Freshwater Lakes*, Poznań, ss. 73.
- [91] TAKAMURA N., KASAI F., WATANABE M. M. 1989. Effects of Cu, Cd and Zn on photosynthesis of freshwater benthic algae. *J. Appl. Phycol.* **1**: 39–52.
- [92] TAKAMURA N., HATAKEYAMA S., SUGAYA Y. 1990. Seasonal changes in species composition and production of periphyton in an urban river running through an abandoned copper mining region. *Jpn. J. Limnol.* **51**: 225–235.
- [93] TAKASHI M., BIENFANG P. K. 1983. Size structure of phytoplankton photosynthesis in subtropical Hawaiian waters. *Mar. Biol.* **76**: 203–211.
- [94] TAKASHI M., HORI T. 1984. Abundance of picophyto-

- plankton in the sub-surface chlorophyll maximum (SCM) layer in subtropical and tropical waters. *Mar. Biol.* **79**: 177–186.
- [95] TEASE B. E., WALKER R. W. 1987. Comparative composition of the sheath of the cyanobacterium *Gloeotrichia* ATCC 27152 cultured with and without combined nitrogen. *J. Gen. Microbiol.* **133**: 3331–3339.
- [96] TREVORS J. T., STRATTON G. W., GADD G. M. 1986. Cadmium transport, resistance and toxicity in bacteria, algae and fungi. *Can. J. Microbiol.* **32**: 447–464.
- [97] TYLER G. 1981. Heavy metals in soil biology and biochemistry. E. A. PAUL, J. N. LADD (red.), *Soil Biochemistry*, Marcel Decker New York, ss. 371–441.
- [98] VERMA S. K., SINGH S. P. 1990. Factors regulating copper uptake in a cyanobacterium. *Curr. Microbiol.* **21**: 33–37.
- [99] VERMA S. K., SINGH H. N. 1991. Evidence for energy-dependent copper efflux as a mechanism of Cu resistance in the cyanobacterium *Nostoc calcicola*. *FEMS Microbiol. Lett.* **84**: 291–294.
- [100] VYMAZAL J. 1987. Toxicity and accumulation of cadmium with respect to algae and cyanobacteria: a review. *Toxicity Asses.: Int. Quart.* **2**: 387–415.
- [101] WATERBURY J. B., WATSON S. W., GUILLARD R. R. L., BRAND L. L. E. 1979. Widespread occurrence of a unicellular, marine, planktonic cyanobacterium. *Nature* **277**: 293–294.
- [102] WASMANN C. C., LOEFFELHARDT W., BOHNERT H. J. 1987. Cyanelles: organization and molecular biology. W: P. FAY, C. VAN BAALEN (red.), *The Cyanobacteria* Elsevier Science Publ. B. V. Amsterdam, New York, Oxford, ss. 303.
- [103] WHITTON B. A. 1980. Zinc and plants in rivers and streams. W: NRIAGU J. O. (red.), *Zinc in the Environment, part II*. John Wiley and Sons, New York, ss. 364.
- [104] WONG P. T. S., CHAU Y. K., PATEL D. 1982. Physiological and biochemical responses of several freshwater algae to a mixture of metals. *Chemosphere* **11**: 367–376.