

AGATA BŁASZCZYK, ANNA TORUŃSKA, JUSTYNA KOBOS,
GRAŻYNA BROWARCZYK-MATUSIAK, HANNA MAZUR-MARZEC

*Zakład Biologii i Ekologii Morza
Instytut Oceanografii
Uniwersytet Gdański
Al. Marszałka Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia
E-mail: annat@ocean.univ.gda.pl*

EKOLOGIA TOKSYCZNYCH SINIC*

ZAKWITY SINIC (CYJANOBAKTERII)

Każdego roku, w zbiornikach wodnych strefy umiarkowanej, obserwowane są cykliczne zmiany biomasy i składu taksonomicznego zespołów fitoplanktonu. W zależności od pory roku oraz dostępności substancji biogenicznych mogą pojawiać się zakwity sinicowe (Cyanobacteria), bruzdnicowe (Dinoflagellatae), zielenicowe (Chlorophyceae) i okrzemkowe (Bacillariophyceae).

Zakwity wody definiowane są jako masowy rozwój fitoplanktonu, któremu towarzyszy silne zmętnienie i zabarwienie wody. Wpływ zakwitów na ekosystem przejawia się obniżeniem bioróżnorodności, które jest skutkiem dominacji jednego lub najwyżej kilku gatunków fitoplanktonowych. Jednocześnie zakwit charakteryzuje się małą stabilnością oraz niejednorodnością pod względem systematycznym, biologicznym i fizjologicznym (PAERL 1996). Najbardziej niebezpieczne dla człowieka są zakwity cyjanobakterii występujące w zbiornikach wody pitnej oraz w sztucznie utworzonych akwenach śródlądowych (CARMICHAEL 1992, BELL i CODD 1994, BURCHARDT i PAWLIK-SKOWROŃSKA 2005, KARDINAAL 2007). Cyjanobakterie rozwijają się w odpowiedzi na zwiększoną eutrofizację wód, ale również w wyniku zaburzenia rów-

nowagi ekosystemu (MUR i współaut. 1999). Masowy wzrost sinic wpływa negatywnie na jakość wody, powodując obniżenie stężenia tlenu i pojawienie się siarkowodoru w wodach przydennych. Charakterystyczny nieprzyjemny zapach i smak wody towarzyszący zakwitom sinic znacznie pogarsza jej jakość i walory rekreacyjne. Zakwity sinic pojawiają się zarówno w morzach, jak i w zbiornikach słodkowodnych.

Pierwsze doniesienia dotyczące toksycznych zakwitów sinicowych pochodzą z XIX w. W 1842 r. w Anglii nastąpiło masowe zatrucie ludzi cyjanotoksynami zawartymi w wodzie jeziornej objętej zakwitami. Następne informacje pochodzą z 1878 r. z Australii, gdzie wystąpiły liczne przypadki śmierci i zachorowania zwierząt domowych w wyniku spożywania wody ze zbiorników, w których masowo występowały cyjanobakterie. Obserwacje te zostały po raz pierwszy szczegółowo opisane w literaturze przez FRANCISA (1878). Kilka lat później, w 1884 r., toksyczne zakwity cyjanobakterii odnotowano w Jeziorze Barlewice w Polsce. Ich skutkiem było masowe śnięcie ryb i zachorowania zwierząt hodowlanych (CODD i współaut. 2004).

*Praca naukowa współfinansowana przez Urząd Marszałkowski w Gdańsku, nr umowy 370/UM/BPR/2008. Praca naukowa współfinansowana przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach projektu „InnoDoktorant – stypendia dla doktorantów, I edycja” 3-253.

Wzrost i rozwój danego gatunku cyjanobakterii, zarówno w wodach śródlądowych, jak i morskich, zależy od jego zdolności do zdobywania niezbędnych do życia zasobów oraz umiejętnego ich wykorzystywania przy minimalnych stratach. Mało prawdopodobne jest, by każdy organizm mógł dostosowywać się do wszystkich zmian warunków środowiska. Sinice na drodze ewolucji wykształciły szereg mechanizmów adaptacyjnych, które dziś pozwalają im rozwijać się przy chwilowo niesprzyjających warunkach.

Możliwość tworzenia zakwitów w wodach powierzchniowych ograniczona jest do gatunków, które wytwarzają aerotopy. Struktury te składają się z licznych, cylindrycznych pęcherzyków gazowych (do 10000 w jednej komórce). Pozwalają one na pionowe przemieszczanie się cyjanobakterii w kolumnie wody i umożliwiają bytowanie w optymalnych warunkach światła i stężenia substancji odżywczych. Aerotopy występują u nitkowatych gatunków z rodzaju *Nodularia*, *Aphanizomenon*, *Dolichospermum* (*Anabaena*), *Planktothrix* i *Cylindrospermopsis* oraz kolonijnych cyjanobakteriach z rodzaju *Microcystis* i *Woronichinia* (WALSBY i współaut. 1997, MUR i współaut. 1999, WALSBY 2005).

Wiele cyjanobakterii tworzy agregaty o rozmiarach zawierających się zwykle w przedziale od 0,2 mm do 5,0 mm, ale mogą osiągać nawet kilka centymetrów. Wielkość skupisk determinuje prędkość opadania i unoszenia się komórek w kolumnie wody oraz minimalizuje efekty wyżerania przez zooplankton. Wiosną cyjanobakterie występują w postaci pojedynczych komórek lub niewielkich kolonii. Znacznie częściej mikroorganizmy te pojawiają się w planktonie w miesiącach letnich, gdy tworzą większe kolonie czy agregaty, sprzyjające szybszemu unoszeniu ku powierzchni. W stabilnych warunkach, przy braku falowania, ilość komórek cyjanobakterii występujących przy powierzchni wody może szybko wzrastać.

Stwierdzono, iż pływalność cyjanobakterii z gatunku *Microcystis aeruginosa* zależy od wielkości koloni. Kolonie o średnicy do 20 μm prawie nie migrują w toni, natomiast w przypadku koloni o średnicy około 160 μm opadanie do głębokości 10 m i powrót do powierzchni wody zajmuje jeden dzień. Duże kolonie, powyżej średnicy 1600 μm , mogą trzykrotnie sedymentować do głębokości 10 m i wrócić do powierzchni wody w ciągu jednego dnia (KONONEN 2001). Brakuje doniesień, z jaką prędkością dryfują ku

powierzchni cyjanobakterie z rodzaju *Planktothrix* oraz *Cylindrospermopsis*. Ponieważ organizmy te nie tworzą agregatów, przyjmuje się, że proces migracji zachodzi znacznie wolniej. Może to być powodem ich mniejszej liczebności w wodach powierzchniowych. Opisane procesy przyczyniają się do znacznego, przestrzennego i czasowego, zróżnicowania biomasy sinic w trakcie zakwitu.

Istotnym mechanizmem przystosowawczym cyjanobakterii jest zdolność do wiązania azotu atmosferycznego, którą wykazuje około jedna trzecia wszystkich gatunków cyjanobakterii m.in. *Nodularia spumigena*, *Aphanizomenon flos-aquae* oraz gatunki z rodzaju *Dolichospermum*. Wiązanie N_2 zachodzi w wyspecjalizowanych komórkach zwanych heterocytami, wewnątrz których następuje redukcja N_2 do NH_3 . Przystawanie azotu cząsteczkowego N_2 zachodzi w warunkach beztlenowych, przy udziale enzymu nitrogenazy. Posiadanie heterocytów umożliwia cyjanobakteriom pokrycie zapotrzebowania na azot w około 95%. W ten sposób są one niezależne od stężenia innych form tego pierwiastka (NH_4^+ i NO_3^-) w środowisku wodnym. U cyjanobakterii nie posiadających heterocytów (*Trichodesmium*) wiązanie azotu odbywa się w ciągu dnia, przy minimalnej zawartości tlenu w środowisku i na ogół w miejscach splatania się nici. Najnowsze badania (LAROCHE i BREITBARTH 2005) wykazują, iż mechanizm wiązania azotu przez *Trichodesmium* przebiega w warunkach tlenowych, w komórkach zwanych diazocytami. W odróżnieniu od heterocytów, zawierają one barwniki fotosystemu II i nie posiadają grubej ściany komórkowej. Zaobserwowano także, iż latem i jesienią, w zbiornikach eutroficznych, istotny wpływ na dominację sinic ma wzrost stężenia jonów amonowych, uwalnianych z osadów i unoszonych (zwłaszcza w czasie miksji wiosennej i jesiennej) w górne warstwy toni wodnej (GOLOSOV i współaut. 1999, FERBER 2004, STAAL i współaut. 2007). Według BLOMQVISTA i współaut. (1994), przewaga konkurencyjna cyjanobakterii nad glonami eukariotycznymi może wynikać z mechanizmu pobierania jonów amonowych, nawet przez sinice nie posiadające zdolności wiązania azotu cząsteczkowego np. *Planktothrix*.

Cyjanobakterie wiążące azot N_2 wymagają podwyższonego stężenia jonów żelaza w środowisku, gdyż jony te są istotnym elementem nitrogenazy i ferredoksyny, będącej donorem elektronów dla nitrogenazy (MUR i

współaut. 1999). Dodatkowo, sinice zdolne są do gromadzenia i odkładania azotu i fosforu w komórkach. Zdolność kumulacji polifosforanów umożliwia funkcjonowanie organizmu, pomimo deficytu tych związków w środowisku. Polifosforany uczestniczą także w regulacji transkrypcji i procesach chelatowania. Według ROMANSA i współaut. (1994) pływalność niektórych morskich gatunków cyjanobakterii (m.in. *Trichodesmium*) zależy od zmian zawartości polifosforanów w komórkach.

Choć cyjanobakterie wykształciły szereg mechanizmów adaptacji różnych wartości natężenia światła, czynnik ten w znacznej mierze determinuje tworzenie zakwitów, zwłaszcza w przypadku organizmów wiążących azot. Przy niskim natężeniu promieniowania słonecznego i spowolnionym procesie fotosyntezy, cyjanobakterie gromadzą materiał zapasowy w postaci polisacharydów, co skutkuje obniżeniem potencjału osmotycznego w komórce. Stan taki sprzyja zwiększonej produkcji pęcherzyków gazowych powodujących unoszenie się komórek w toni wodnej. Planktonowe gatunki z rodzaju *Planktothrix*, *Limnothrix* lub *Cylindrospermopsis* wrażliwe są na wysokie natężenie światła i nie tworzą masowych zakwitów przy powierzchni wody. Mogą natomiast licznie występować w wodach słodkich o głębokości zbiornika powyżej 8 m.

Wzrost stężenia substancji biogenicznych w zbiorniku sprzyja masowemu występowaniu fitoplanktonu. Zależność pojawiania się zakwitów cyjanobakterii od stopnia eutrofizacji jest powszechnie odnotowywana (PAERL 1996). Niska wartość stosunku całkowitego azotu do całkowitego fosforu ($N/P < 16$) została uznana za istotny, chociaż nie jedyny, czynnik sprzyjający rozwojowi cyjanobakte-

rii. Niska wartość N/P oznacza często deficyt azotu w wodzie, co sprzyja większej konkurencyjności tych gatunków cyjanobakterii, które posiadają heterocyty i wykazują zdolność wiązania azotu atmosferycznego.

Ważnym, obok stężenia soli biogenicznych, czynnikiem determinującym masowy rozwój cyjanobakterii jest temperatura wody. Stwierdzono, iż w wodzie o temperaturze wyższej niż 20°C cyjanobakterie są dominującą grupą organizmów fitoplanktonowych (KONONEN 2001), a najwyższe tempo wzrostu osiągają w temperaturze powyżej 25°C. Czynnik ten ma istotne znaczenie zwłaszcza w odniesieniu do wód płytkich. W strefie umiarkowanej, spadek temperatury wody jesienią powoduje, że tempo fotosyntezy cyjanobakterii jest szybsze niż tempo oddychania, a powstający „balast” polisacharydowy nie jest rozkładany. Dlatego kolonie cyjanobakterii opadają na dno zbiornika wody, gdzie mogą „przeżyć” zimą, zużywając powoli materiały zapasowe w procesach oddychania lub fermentacji.

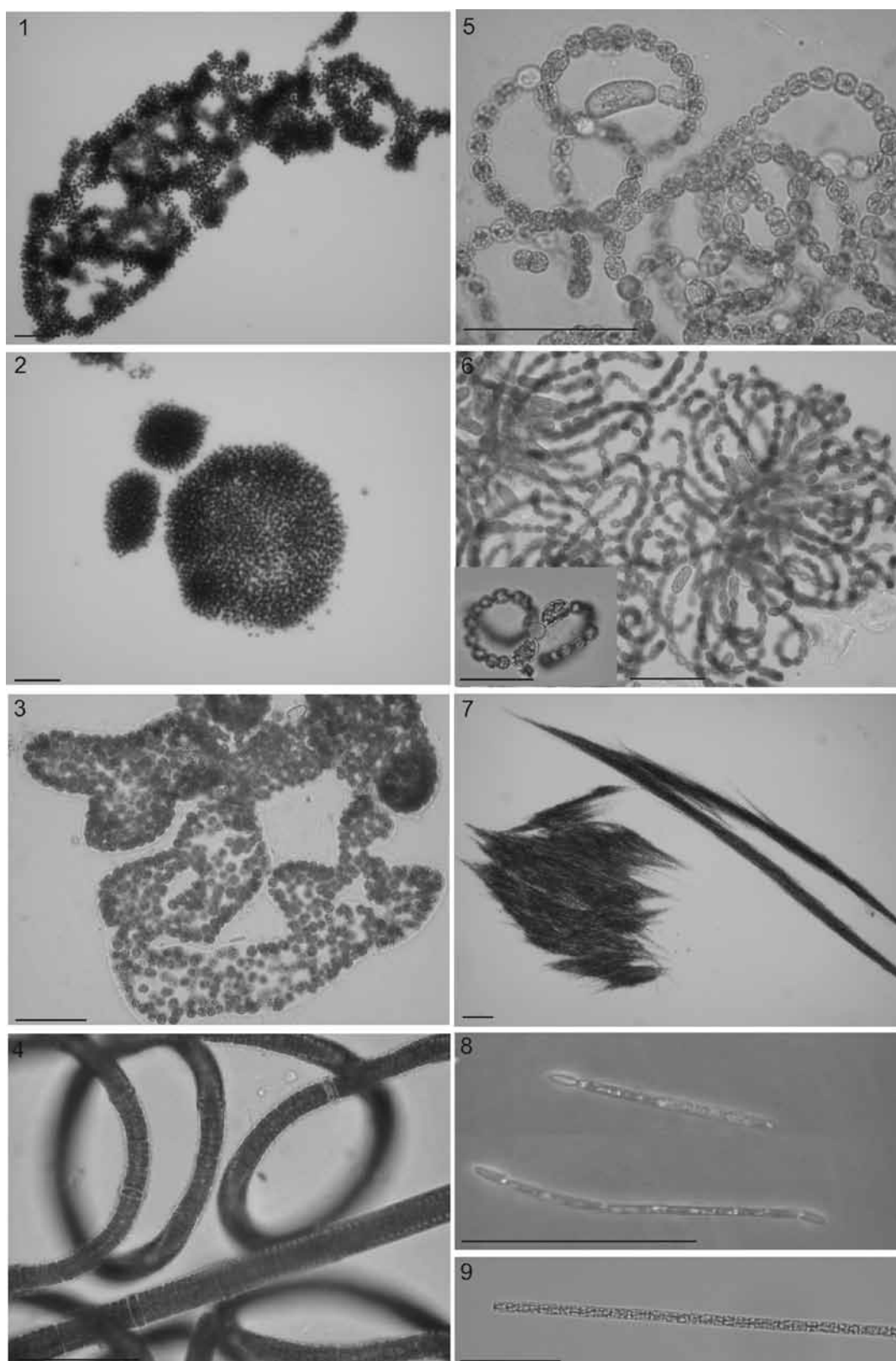
Istotną cechą faworyzującą wzrost sinic spośród innych organizmów fitoplanktonowych jest możliwość przeprowadzenia fotosyntezy przy niskim stężeniu CO_2 i wartości pH w zakresie 7–9 (SHAPIRO 1990).

Warunkiem powstania powierzchniowych skupisk cyjanobakterii jest bezwietrzna pogoda (prędkość wiatru poniżej 4 m s⁻¹) i słabe mieszanie się mas wody. Skupiska te mogą być transportowane przez wiatr na znaczne odległości, daleko od miejsca, gdzie zakwit był utworzony. Spychane do zatok mikroorganizmy kumulują się, tworząc zakwity. Intensywne mieszanie się mas wody, wywołane m.in. silnymi opadami deszczu, powoduje równomierny rozkład sinic w kolumnie wody.

BUDOWA I WYSTĘPOWANIE TOKSYCZNYCH CYJANOBAKTERII

Zakwity cyjanobakterii obserwowane są powszechnie na całym świecie w morzach i oceanach, jeziorach, stawach, zbiornikach retencyjnych i wolno płynących rzekach. Wśród cyjanobakterii wyróżnia się jednokomórkowy i kolonijny pikoplankton, kolonijny nanoplankton i mikroplankton, pojedynczy trychomowy mikroplankton oraz trychomowy mikroplankton tworzący kolonie lub maty. Na podstawie takich cech jak: rozmiar, kształt i sposób podziału komórki, RIPPKA i współaut. (1979) wyróżnili pięć sekcji/rzędów: Chroococcales, Pleurocapsales, Oscilla-

toriales, Nostocales i Stigonematales (Ryc. 1). Sekcja Chroococcales (Ryc. 1.1–1.3) zawiera gatunki z pojedynczymi, kokoidalnymi komórkami, których typowym przedstawicielem są gatunki z rodzaju *Microcystis*, *Chroococcus* i *Merismopedia*. Do Pleurocapsales zaliczane są te gatunki, które dzielą się (wyłącznie lub w pewnym okresie ich cyklu życiowego) poprzez tworzenie małych, kulistych komórek – baeocytów. Cyjanobakterie należące do pozostałych trzech sekcji występują w postaci trychomów lub nici. U Oscillatoriales (Ryc. 1.9) trychomy składają się je-



Ryc. 1. Potencjalnie toksyczne gatunki sinic zidentyfikowane w polskich wodach (skala 50 μm).

Chroococcales: 1 – *Microcystis aeruginosa*, 2 – *M. flos-aquae*, 3 – *M. wesenbergii*; Nostocales: 4 – *Nodularia spumigena*, 5 – *Dolichospermum flos-aquae*, 6 – *D. lemmermannii*, 7 – *Aphanizomenon flos-aquae*, 8 – *Cylindrospermopsis raciborskii* Oscillatoriales: 9 – *Planktothrix agardhii*.

dynie z komórek wegetatywnych, natomiast w trychomach Nostocales (Ryc. 1.4–1.8) i Stigonematales można wyróżnić charakterystyczne komórki zwane heterocytami oraz akinety (komórki przetrwalne). W wyniku podziału komórek w różnych płaszczyznach, zarówno prostopadle jak i podłużnie, nici Stigonematales mogą dodatkowo tworzyć rozgałęzienia prawdziwe.

Znanych jest ponad 1500 gatunków cyjanobakterii należących do około 80 rodzajów Chroococcales, 43 rodzajów Oscillatoriales, 32 rodzajów Nostocales, 48 rodzajów Stigonematales oraz kilka rodzajów Pleurocapsales. Jedynie nieliczne z nich występują masowo tworząc zakwity. Można wyróżnić dwa typy zakwitów wody: obserwowane na powierzchni oraz te, które występują w głębszych warstwach toni wodnej, zazwyczaj w metalimnionie (czyli termoklinie). Powierzchniowe zakwity tworzą najczęściej gatunki *Microcystis* spp., *Planktothrix agardhii*, *Dolichospermum* spp., *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Aphanizomenon flos-aquae* oraz *Nodularia spumigena*. Natomiast gatunki takie jak *Planktothrix rubescens* i *Limnothrix redeckei* najwyższą biomasę mogą osiągać w głębszych warstwach toni wodnej (8–12 m).

Szczególną uwagę zwraca się na zakwity tych cyjanobakterii, które produkują związki toksyczne. W wodach śródlądowych są to najczęściej mikroorganizmy z rodzaju *Microcystis*, *Planktothrix*, *Dolichospermum*, *Aphanizomenon* i *Woronichinia*; w morzu natomiast toksyczne zakwity tworzy *Trichodesmium* (w tropikalnych i subtropikalnych wodach oceanu) oraz *N. spumigena* (Morze Bałtyckie).

Gatunki z rodzaju *Microcystis* są typowym przykładem sinic tworzących grube powierzchniowe skupiska w eutroficznym i hipertroficznym jeziorach. Do gatunków najczęściej obserwowanych należą *M. aeruginosa* (Kütz.) Kütz., *M. flos-aquae* (Wittr.) Kirch., *M. viridis* (Braun in Raben.) Lemm. oraz *M. wesenbergii* (Kom.) Kom. in Kond. Mogą one występować w formie kolonii o kształcie kulistym, owalnym, nieregularnie wydłużonym, czasem złożone są z subkolonii lub otoczone śluzem. Kolonie składają się jedynie z komórek wegetatywnych, tworząc w trzech płaszczyznach duże (makroskopowe) agregaty, w których liczba komórek może wynosić ponad 10000. Cyjanobakterie z rodzaju *Microcystis* należą do najbardziej kosmopolitycznych. Masowe występowanie *Microcystis* jest powszechne zarówno w wo-

dach subtropikalnych jak i w rejonach strefy umiarkowanej (CARMICHAEL i współaut. 1988, WATANABE 1996, FRANK 2002, MOHAMED i współaut. 2003, ZNACHOR i współaut. 2006). Organizmy te występują również w różnych rejonach Polski, głównie od sierpnia do połowy października, stanowiąc główny składnik fitoplanktonu (Tabela 1) (GRABOWSKA 1998, MAZUR i współaut. 2003). Natomiast inny kolonijny gatunek – *Woronichinia naegeliana* (Ung.) Elenk., należący również do Chroococcales, chociaż często odnotowywany w wodach eutroficznym, rzadko dominuje w fitoplanktonie. Jego zakwity obserwowano m.in. w jeziorach Belgii centralnej (WILLAME i współaut. 2005) oraz w wodach Polski południowej (BUCKA i WILK-WOŹNIAK 1999).

Cyjanobakterie z rodzaju *Planktothrix* (Oscillatoriales) są ważnym producentem mikrocytyn w wodach klimatu umiarkowanego, zwłaszcza na półkuli północnej, gdzie mogą występować cały rok. Spośród tej grupy sinic najczęściej zakwity tworzą dwa gatunki: *P. agardhii* (Gom.) Anagn. et Kom. oraz *P. rubescens* (DC. ex Gom.) Anagn. et Kom. *Planktothrix* występuje w postaci prostych lub lekko powyginanych trychomów, w których komórki zwykle są nieco krótsze niż szersze. Czasem tworzą wolnopływające skupiska. Trychomy *P. agardhii* są jasno niebieskozielone i występują powszechnie w płytkich, eutroficznym i hipertroficznym, mętnych wodach (KARDINAAL 2007). Najwięcej doniesień o toksycznych zakwitach cyjanobakterii z rodzaju *Planktothrix* pochodzi z Niemiec (WIEDNER i współaut. 2001) oraz Belgii i Luksemburga (WILLAME i współaut. 2005). *P. agardhii* występuje również w Norwegii, Szwecji i Finlandii (SIVONEN i współaut. 1990, SKULBERG i współaut. 1994, WILLÉN i MATSSON 1997), jednak rzadko dominuje w tych rejonach. Również w Polsce odnotowywane są masowe występowania tego gatunku (Tabela 1) (PAWLIK-SKOWROŃSKA i współaut. 2004, KOBOS i współaut. 2005, STEFANIAK i współaut. 2005). Pomimo powszechnego występowania *P. agardhii* w wielu rejonach świata, organizm ten sporadycznie odnotowywany jest w wodach Australii. Natomiast cyjanobakterie z gatunku *P. rubescens* występują przede wszystkim w mezotroficznym, głębokich i czystych wodach, a największą biomasę osiągają w metalimnionie. Trychomy *P. rubescens* mają barwę purpurowoczerwoną do brązowoczerwonej, gdyż komórki zawierają duże ilości czerwonego barwnika – fikoerytryny. Jesienią, gatunek ten może

Tabela. 1. Potencjalnie toksyczne gatunki sinic w wybranych jeziorach i zbiornikach zaporowych w Polsce

Gatunek	Zbiornik	Źródło
Chroococcales		
<i>Microcystis</i> spp.	Jezioro Biały Bór, Jezioro Sztumskie, zbiorniki retencyjne: Biała Rawska, Dobromierz, Siemianówka	JURCZAK i współaut. 2004
<i>M. aeruginosa</i> (Kütz.) Kütz., <i>M. flos-aquae</i> (Wittr.) Kirch., <i>M. viridis</i> (Braun in Raben.) <i>M. wesenbergii</i> (Kom.) Kom. in Kond.	Zbiornik Sulejów Jezioro Trzesiecko jeziora kaszubskie: Jezioro Karczemne, Klasztorne Małe, Klasztorne Duże, Tuchomskie jeziora kociewskie	GALICKA i współaut. 1998 MANKIEWICZ i współaut. 2005 MAZUR i współaut. 2003 BŁASZCZYK i współaut. 2009 KOBOS i współaut. 2005
<i>Woronichinia naegeliana</i> (Unger) Elenkin.	zbiorniki południowej Polski	BUCKA i WILK-WOŹNIAK 1999
Oscillatoriales		
<i>Planktothrix agardhii</i> (Gom.) Anagn. Kom./ <i>Oscillatoria agardhii</i> (Gom.)	jeziora wielkopolskie jeziora mazurskie jeziora lubelskie jeziora kaszubskie jeziora kociewskie	MESSYASZ 1998, ZIĘBEK 1998, PAWLIK-SKOWROŃSKA i współaut. 2004, STEFANIAK i współaut. 2005 MAZUR i współaut. 2003, BŁASZCZYK i współaut. 2009 KOBOS i współaut. 2005
<i>P. rubescens</i>	jezioro Miedwie	ROZMIAREK 1983
Nostocales		
<i>Dolichospermum</i> spp. (<i>Anabaena</i> spp.) <i>D. flos-aquae</i> ([Lyngbye] Brébisson ex Bornet et Flahault) Wacklin, Hoffmann et Komárek <i>D. spiroides</i> (Kleb.) (Richt. in Lemm.) Wacklin, Hoffmann et Komarek <i>D. lemmermannii</i> (Richt. in Lemm.) Wacklin, Hoffmann et Komarek	Zbiornik Siemianówka Zbiornik Zembrzycki jeziora kaszubskie jeziora kociewskie Zalew Wiślany Morze Bałtyckie, Zatoka Gdańska	GRABOWSKA 1998 PAWLIK-SKOWROŃSKA i współaut. 2004 MAZUR i współaut. 2003, BŁASZCZYK i współaut. 2009 KOBOS i współaut. 2005 RYBICKA 2005 MAZUR i współaut. 2003
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> (L. Raffs)	Zbiornik Goczałkowice Zbiornik Siemianówka Jezioro Kaliszany Duże Zbiornik Zembrzycki Jezioro Barlevice zbiornik w Toruniu	KRZYŻANEK i współaut. 1993 GRABOWSKA 1998 BURCHARDT 1998 PAWLIK-SKOWROŃSKA i współaut. 2004 Codd i współaut. 2004 KONARZEWSKA i GŁOGOWSKA 2005
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (Wolosz.) Seena. & R. Raju	jeziora wielkopolskie	STEFANIAK i KOKOCIŃSKI 2005 ZAGAJEWSKI i współaut. 2007
<i>Gloeotrichia echinulata</i> J.E. Smith	jeziora kaszubskie	MAZUR i współaut. 2003
<i>Nodularia spumigena</i> Mert.ex Born. et Flah.	Morze Bałtyckie, Zatoka Gdańska	PLIŃSKI i JOŹWIAK 1996, MA- ZUR-MARZEC i współaut. 2006

powodować czerwone zabarwienie przypowierzchniowych warstw wody. *P. rubescens* jest szeroko rozpowszechniony w zimnych wodach środkowej Europy, zwłaszcza w podalpejskich jeziorach (LEGNANI i współaut. 2005). Obecność tego gatunku stwierdzono również w metalimnionie czystych jezior Polski, np. jeziorze Miedwie (ROZMIAREK 1983).

Do rzędu Oscillatoriales należą też planktonowe, powszechne dla oligotroficznych tropikalnych i subtropikalnych wód oceanicznych, cyjanobakterie z rodzaju *Trichodesmium*. Najczęściej obserwowane są dwa pelagiczne gatunki *T. erythraeum* i *T. thiebauti*. Występują one w formie trychomów zebranych w duże agregaty (50-200 trychomów), rzadziej pojedynczo (CAPONE i współaut. 2005). W zależności od wieku oraz zagęszczenia, komórki sinic mogą nadawać wodzie różną barwę (czerwoną, brązową, zieloną, żółtą, srebrnoszarą). Najintensywniej rozwijają się na głębokości 15–30 metrów (SUBRAMANIAM i współaut. 2001).

Śród Nostocales, kosmopolitycznym występowaniem w wodach śródlądowych charakteryzują się cyjanobakterie z rodzaju *Dolichospermum* (KARDINAAL 2007). Komórki należące do tego rodzaju ułożone są w trychomy proste lub w różny sposób pozwijane, jednakowo szerokie na całej długości. Trychomy najczęściej są pojedyncze, czasem zebrane w miękkie, śluzowate, kłaczkowate skupiska, które łatwo się rozpadają. Pochwy mają delikatne, rozplywające się, zwykle niewidoczne. Heterocyty interkalarne, akinecy pojedyncze albo ułożone w łańcuszkach, przylegające do heterocyt lub z dala od nich. Na podstawie szczegółowych badań morfologicznych i genetycznych, planktonowe gatunki z rodzaju *Anabaena*, tworzące zarówno pozwijane nici (np. *A. spiroides* Kleb., *A. lemmermannii* Richt. in Lemm.), jak i nici proste (np. *A. planktonica* Brunn., *A. affinis* Lemm.), zostały zaliczone do rodzaju *Dolichospermum*. Obecnie gatunki te będą nazywane odpowiednio *Dolichospermum spiroides* (Kleb.) Wacklin, Hoffmann et Komarek 2009, *D. lemmermannii* (Richt. in Lemm.) Wacklin, Hoffmann et Komarek 2009, *D. planktonicum* (Brunn.) Wacklin, Hoffmann et Komarek 2009, *D. affinis* (Lemm.) Wacklin, Hoffmann et Komarek 2009 (KOMÁREK i ZAPOM LÓWÁ 2007, 2008; WACKLIN i współaut. 2009). Gatunki cyjanobakterii należące do dawnego rodzaju *Anabaena* często występują masowo w chłodnych i zimnych jeziorach północnej Europy. Według SKULBER-

GA i współaut. (1994), tworzy ona zakwity w 50% badanych wód południowej Norwegii. W jeziorach Szwecji i Finlandii rodzaj *Dolichospermum* należy do cyjanobakterii najczęściej tworzących zakwity (SIVONEN 1990, WILLÉN i MATTSON 1997). Również w Polsce rodzaj ten stanowi ważny składnik fitoplanktonu i często występuje masowo zarówno w jeziorach (PAWLIK-SKOWROŃSKA i współaut. 2004, KOBOS i współaut. 2005), Zalewie Wiślanym (RYBICKA 2005), jak i Zatoce Gdańskiej (Tabela 1) (MAZUR i współaut. 2003).

Gatunek *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seynaya et Subba Raju został opisany w 1912 r. jako *Anabaena raciborskii* (Woloszynska), a następnie zaliczono go do rodzaju *Anabaenopsis* (Miller). Organizm ten występuje w postaci pojedynczych trychomów: prostych, lekko wygiętych lub esowato zgiętych. Cechą charakterystyczną jest terminalne położenie stożkowato ściętej heterocyty. Cylindrycznie owalne akinety położone są przy heterocycie lub oddzielone od niej jedną lub kilkoma komórkami wegetatywnymi. Gatunek *C. raciborskii* może występować masowo, ale nie tworzy typowych powierzchniowych zakwitów. Największą biomasa osiąga 2–3 m pod powierzchnią wody, dlatego czasem jest trudny do wykrycia (SAKER i GRIFFITHS 2001). Do niedawna uważano, iż gatunek ten tworzy zakwity jedynie w strefie tropikalnej i subtropikalnej – na terenach centralnej Afryki, Ameryki Południowej, Kuby, Florydy, Meksyku oraz Australii (BRANCO i SENNA 1994, BOUVY i współaut. 2000, GRIFFITHS i SAKER 2003). *C. raciborskii* obecnie rozprzestrzeniła się również w wodach klimatu umiarkowanego, gdzie wcześniej nie był odnotowywany (DRUART i BRIAND 2002). Został on już zidentyfikowany w rejonie centralnej Azji i Europy, zwłaszcza Niemiec (FASTNER i współaut. 2007) oraz w Morzu Kaspijskim i południowej Rosji (PADISAK 1997). Gatunek *C. raciborskii* tworzył też masowe zakwity od 1980 r. do połowy lat 90. XX w. w Jeziorze Balaton na Węgrzech (PADISAK 1992). Istnieją również doniesienia o obecności *C. raciborskii* w jeziorach Wielkopolski (STEFANIAK i KOKOCIŃSKI 2005, ZAGAJEWSKI i współaut. 2007).

Występowanie cyjanobakterii z rodzaju *Aphanizomenon* odnotowano przede wszystkim w wodach strefy umiarkowanej. Rodzaj ten charakteryzuje się trychomami prostymi lub lekko zgiętymi, pojedynczymi lub skupionymi w wolnopływające wiązki o kształcie sierpików. Komórki w środkowych czę-

ściach trychomów są krótkocylindryczne, prawie kwadratowe, natomiast przy końcu trychomów wydłużają się i czasem zwężają ku końcom. Heterocyty interkalarne, najczęściej są cylindryczne. Akinety cylindryczne, pojedyncze, nie łączą się z heterocytami. Również w obrębie tego rodzaju najnowsze badania genetyczne wykazały brak jednorodności. Przykładowo, gatunek *Aph. issatschenkoi* Usač. pospolicie obserwowany (również w polskich wodach), choć nie występujący masowo, wyodrębniono ostatnio jako *Cuspidothrix issatschenkoi* (Usač.) Rajan. (KOMÁREK i KOMÁRKOVÁ 2006). Gatunkiem najczęściej obserwowanym w miesiącach letnich w jeziorach europejskich jest *Aph. flos-aquae* Ralfs ex Born. et Flah. (FERRIERA i współaut. 2001, KOMARZEWSKA i GŁOGOWSKA 2005, PREUSSEL i współaut. 2006). Tworzy on gęsto upakowane, podobne do snopków skupiska nici, które mają zazwyczaj kilka mm długości. Organizm ten niekiedy może występować również w metalimnionie (BURCHARDT 1998), gdyż cechuje się tolerancją szerokiego zakresu temperatur i możliwością znacznych migracji pionowych (DOKULLIL i TEUBNER 2000). Również w Morzu Bałtyckim gatunek *Aph. flos-aquae* jest istotnym składnikiem fitoplanktonu w całym okresie wegetacyjnym (LAAMANEN i współaut.

2002, STAL i współaut. 2003). Według doniesień JANSONA i współaut. (1994) szczepy *Aphanizomenon* występujące w wodach Morza Bałtyckiego różnią się od słodkowodnych szczepów *Aph. flos-aquae* pod względem ultrastruktury (m.in. ułożeniem tylakoidów) oraz bardzo rzadko produkują akinety. Inną cechą szczepów bałtyckich jest brak syntezy toksyn (LEHTIMÄKI i współaut. 1997) takich jak anatoksyna-a, saksitoksyny czy cylindrospermopsyna, których obecność wielokrotnie wykazywano w komórkach szczepów słodkowodnych (PEREIRA i współaut. 2000, FERRIERA i współaut. 2001, PREUSSEL i współaut. 2006).

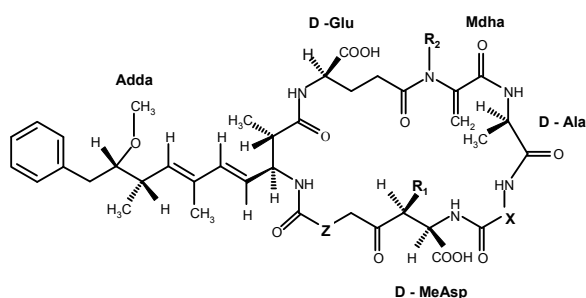
Kolejnym diazotroficznym gatunkiem, często tworzącym latem powierzchniowe zakwity w wodach Morza Bałtyckiego jest *N. spumigena* Mert. ex Born. et Flah. (PLIŃSKI i JÓŻWIĄK 1996, WASMUND 1997, STAL i współaut. 2003, MAZUR-MARZEC i współaut. 2006b, HAJDU i współaut. 2007). Gatunek ten występuje w postaci kilku morfotypów o prostych, poskręcanych lub pozwijanych niciach, różnej wielkości komórek oraz liczbie heterocytów (MAZUR-MARZEC i współaut. 2006b). Nici *N. spumigena* często tworzą agregaty o średnicy do 10 cm, jednak są one bardzo nietrwałe i znacznie mniej upakowane niż u gatunku *Aph. flos-aquae*.

TOKSYNY CYJANOBAKTERII

Masowe występowanie cyjanobakterii wpływa negatywnie na funkcjonowanie środowisk wodnych. Zjawisko to może również obniżać jakość wód użytkowych. Sinice są bowiem producentem związków o negatywnym działaniu na organizm człowieka i zwierząt (KUIPER-GOODMAN i współaut. 1999). Poznano wiele metabolitów cyjanobakterii należących do hepatotoksyn, neurotoksyn, cytotoxyn i dermatotoksyn; inne związki szkodliwe produkowane przez te mikroorganizmy są zapewne jeszcze nieznanne. Objawy chorobowe i dolegliwości, które ujawniają się w wyniku sporadycznego lub chronicznego kontaktu z cyjanobakteriami, są efektem addytywnego lub synergicznego działania produkowanych przez nie związków. Poniżej omówiono najważniejsze grupy cyjanotoksyn, których negatywny wpływ na organizmy wyższe został wielokrotnie udokumentowany.

Mikrocystyny (MC) należą do najczęściej występujących toksyn sinicowych. Związki te produkowane są głównie przez planktonowe

cyjanobakterie należące do rodzaju *Microcystis*, *Dolichospermum* i *Planktothrix* (*Oscillatoria*). Wykryto je również u *Anabaenopsis*, *Nostoc*, *Radiocystis*, *Arthrospira*, *Fischerella*, *Phormidium*, *Pseudanabaena*, *Synechocystis* oraz u cyjanobakterii pikoplanktonowych (DOMINGOS i współaut. 1999, SIVONEN i BÖRNER 2008, FIORE i współaut. 2009). Pod względem struktury, mikrocystyny są cyklicznymi heptapeptydami o ogólnym wzorze cyklo-(D-Ala¹-X²-D-MeAsp³-Z⁴-Adda⁵-D-Glu⁶-Mdha⁷) (RINEHART i współaut. 1994). MeAsp oznacza kwas D-erythro-β-metyloasparaginowy, Adda jest 20-węglowym kwasem (2S,3S,8S,9S)-3-amino-9-metoksy-2,6,8-trimetylo-10-fenyldeka-4,6-dienowym charakterystycznym tylko dla cyjanobakterii, a Mdha jest symbolem N-metylodehydroalaniny (Ryc. 2). W pozycji 2 (X²) i 4 (Z⁴) znajdują się zmienne reszty L-aminokwasowe, oznaczane w nazwie toksyn jednoliterowymi symbolami. Przykładowo, u jednej z najczęściej spotykanych i silnie toksycznych mikrocystyn, MC-LR (LD₅₀ =



Ryc. 2. Struktura chemiczna mikrocytyny (MC).

50 $\mu\text{g kg}^{-1}$), występują odpowiednio leucyna (L) i arginina (R) (Tabela 2). W cząsteczkach innych mikrocytyn pozycje te zajmowane są m.in. przez kwas D-glutaminowy (E), homoargininę (Har), metioninę (M), serynę (S), fenyloalaninę (F), tryptofan (W) lub tyrozynę (Y). W strukturze wszystkich aminokwasów mogą występować pewne modyfikacje, z których najczęściej spotykane to formy bez grupy metylowej w pozycji 3 i/lub 7. Charakterystyczną cechą struktury jest również obecność wiązania γ -peptydowego przy kwasie D-glutaminowym oraz występowanie α,β -nienasyconych aminokwasów, takich jak MdhA czy MdhB (kwas N-metylodehydomasłowy). Dehydroaminokwasy są związkami powszechnie występującymi u bakterii. Zidentyfikowano już około 80 analogów MC (SIVONEN i BÖRNER 2008). W Europie, obecność MC stwierdzono w 10–90% próbek pobranych w czasie trwania zakwitnięcia cyjanobakterii; w przypadku poszczególnych krajów było to najczęściej 50–60%.

Cyjanobakterie z gatunku *Nodularia spumigena*, masowo występujące w Morzu Bał-

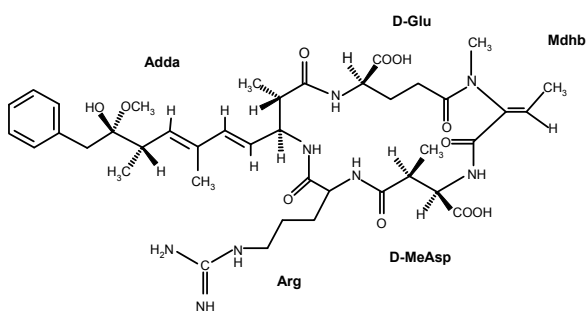
tyckim oraz estuariach i słonawych jeziorach Australii, produkują nodularynę (NOD) – pentapeptyd o ogólnym wzorze cząsteczki cyklo-(D-MeAsp¹-L-Arg²-Adda³-D-Glu⁴-Mdhb⁵) (Ryc. 3). Zidentyfikowano około 11 analogów NOD różniących się m.in. obecnością lub brakiem grup metylowych w pozycji 1, 3 i 5 (NAMIKOSHI i współaut. 1994, MAZUR-MARZEC i współaut. 2006a). Ze względu na duże podobieństwo struktury i aktywności biologicznej ($\text{LD}_{50} = 50 \mu\text{g kg}^{-1}$), nodularyna najczęściej omawiana jest razem z mikrocytynami. Nietoksyczne odmiany obu grup oligopeptydów mają formę liniową, zawierają stereoizomer [6Z-Adda] lub ester kwasu glutaminowego (RINEHART i współaut. 1994). Heatotoksyny są związkami dobrze rozpuszczalnymi w wodzie, o masie cząsteczkowej w zakresie 800–1100 Da i wartości LD_{50} w zakresie 50–1200 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Tabela 2). MC i NOD syntezowane są pozarybosomalnie przy udziale kompleksu enzymatycznego kodowanego przez syntetazę białkową i syntetazę poliketydową (TILLET i współaut. 2000). Ta droga syntezy toksyn tłumaczy ich nietypowy charakter, tzn.: cykliczny układ, obecność niebiałkowych aminokwasów i liczne modyfikacje w ich strukturze.

W naturalnych warunkach, większość produkowanych toksyn występuje w komórkach cyjanobakterii. Wzrost stężenia rozpuszczonych mikrocytyn i nodularyn w wodzie może nastąpić dopiero po lizie komórek w procesie zamierania zakwitnięcia lub po zastosowaniu algicydów. Najwyższe zanotowane stężenia MC w materiale zebranym podczas zakwitnięcia wynosiły 25 mg w dm^3 wody i 19,5 mg w gramie suchej masy fitoplanktonu. W większości wód stężenie MC przekraczało 10 $\mu\text{g dm}^{-3}$ (SIVONEN i JONES 1999). Według MANKIE-

Tabela 2. Struktura i toksyczność kilku wybranych analogów mikrocytyn; wartości stosunku masy do ładunku (m/z) dla jonów cząsteczkowych.

Microcystin	X ²	Z ⁴	R ₁	R ₂	m/z [M+H] ⁺	LD ₅₀ [$\mu\text{g kg}^{-1}$]
MC-LR	Leu (L)	Arg (R)	CH ₃	CH ₃	995	50
MC-RR	Arg (R)	Arg (R)	CH ₃	CH ₃	519 [*]	500-800
MC-YR	Tyr (Y)	Arg (R)	CH ₃	CH ₃	1045	150-200
MC-LA	Leu (L)	Ala (A)	CH ₃	CH ₃	910	50
[D-Asp ³]MC-LR	Leu (L)	Arg (R)	H	CH ₃	981	50
[D-Asp ³]MC-RR	Arg (R)	Arg (R)	H	CH ₃	1024	250
[Dha ⁷]MC-LR	Leu (L)	Arg (R)	CH ₃	H	981	250
[Dha ⁷]MC-RR	Arg (R)	Arg (R)	CH ₃	H	1024	180
[D-Asp ³ , Dha ⁷]MC-LR	Leu (L)	Arg (R)	H	H	967	200-250
[D-Asp ³ , Dha ⁷]MC-RR	Arg (R)	Arg (R)	H	H	1010	n.a.

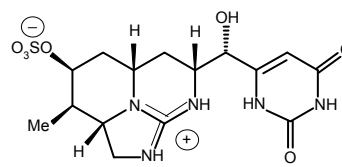
*[M+2H]⁺, ²n.a. – nieaktywna



Ryc. 3. Struktura chemiczna nodularyny (NOD).

WICZ i współaut. (2005), średnie stężenie MC w jeziorach północnej Polski wynosiło $4\text{--}5 \mu\text{g dm}^{-3}$ (maksymalne $12,14 \mu\text{g dm}^{-3}$). Wieloletnie badania prowadzone w rejonie Pojezierza Kaszubskiego (północna Polska) przez MAZUR-MARZEC i współaut. (2008) wykazały, że w niektórych jeziorach stężenie to osiągało nawet wartość ponad $300 \mu\text{g dm}^{-3}$. W przypadku masowych zakwitów *N. spumigena* w strefie przybrzeżnej Morza Bałtyckiego, stężenie NOD okresowo przekraczało $25000 \mu\text{g dm}^{-3}$ (MAZUR-MARZEC i współaut. 2006b).

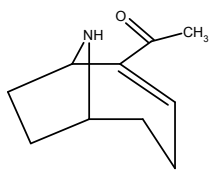
Organotropizm mikrocytyn związany jest ze specyficznym systemem transportu amfipatycznych związków organicznych, występującym w błonach komórek wątroby (MERILUOTO i współaut. 1990, FISCHER i współaut. 2005). Toksyczne działanie mikrocytyn i nodularyn wynika z ich silnego niekwalencyjnego wiązania się w cytozolu komórek wątroby z fosfatazami serynowo-treoninowymi typu PP 1 i PP 2A (MACKINTOSH i współaut. 1990, OHTA i współaut. 1994). Reakcja ta powoduje zahamowanie aktywności fosfataz, co z kolei prowadzi do nadmiernej fosforylacji białek (filamentów pośrednich i mikrofilamentów) i uszkodzenia cytoszkieletu komórek wątroby. Ponadto mikrocytyny i nodularyny indukują apoptozę i nekrozę hepatocytów, są też promotorami guzów nowotworowych (FALCONER 2005). W przypadkach ciężkich zatruc może dojść do przesączenia się krwi z naczyń do wątroby i uszkodzenie tego organu. Charakterystycznymi objawami zatrucia są zaburzenia żołądkowo-jelitowe i wątrobowe, osłabienie, anoreksja. W opinii Międzynarodowej Agencji do Badań nad Rakiem (IARC), brak jest dostatecznych dowodów na karcynogenne działanie MC-LR, jednak ze względu na udokumentowane działanie jako promotora zmian nowotworowych, ten analog mikrocytyny został zaklasyfikowany do potencjalnych karcynogenów



Ryc. 4. Struktura chemiczna cylindrospermopsyny (CYN).

(COGLIANO i współaut. 2008). Choć wyklucza się bezpośredni wpływ mikrocytyn i nodularyn na strukturę DNA, to według LANKOFF i współaut. (2002) oraz BOUA CHA i MAATOUK (2004), hepatotoksyny sinic indukują stres oksydacyjny, tym samym w sposób pośredni powodują uszkodzenie DNA. Ostatnio, wykazano również nefrotoksyczne działanie MC-LR u szczurów oraz w teście na ludzkich i zwierzęcych liniach komórek nerkowych (DIAS i współaut. 2009).

Cylindrospermopsyna (CYN) ($M_{cz} = 415$ Da) jest cyklicznym guanidynowym alkaloidem (Ryc. 4) produkowanym przez słodkowodne cyjanobakterie z gatunku *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Aphanizomenon ovalisporum*, *Aph. flos-aquae*, *Umezakia natans*, *Dolichospermum bergii* i *Raphidiopsis curvata* (FALCONER 2005). Czysty związek podany dootrzewnowo myszom charakteryzuje się wartościami $LD_{50} = 2,1 \text{ mg kg}^{-1}$ (po 24 godzinach) i $LD_{50} = 0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ (po 5–6 dniach). Obok działania hepatotoksycznego, CYN wykazuje aktywność cytotoksyczną. Dowiedziono, że czysty związek uszkadza wątrobę, natomiast surowy ekstrakt z komórek cyjanobakterii produkujących CYN wywołuje patologiczne zmiany również w nerkach, śledzionie, grasicy i sercu. CYN indukuje apoptozę komórek wątroby oraz hamuje syntezę białka. Do poważnego wypadku zatrucia tą toksyną doszło w 1979 r. w Queensland, w Australii, gdzie u 140 dzieci oraz 10 dorosłych osób zaobserwowano dolegliwości gastryczne, bóle głowy, gorączkę, bolesne powiększenie wątroby (KUIPER-GOODMAN i współaut. 1999). Ostatnio, CYN została zidentyfikowana w 3 wielkopolskich jeziorach gdzie dominujący gatunek cyjanobakterii *Planktothrix aghardii* współwystępował z *C. raciborskii* oraz *Aph. gracile*. Zmierzone stężenie cylindrospermopsyny zawierało się w zakresie od $0,16\text{--}1,8 \mu\text{g dm}^{-3}$ (KOKOCIŃSKI i współaut. 2009). Podobnie jak w przypadku MC-LR przyjmuje się, że stężenie cylindrospermopsyny w wodzie pitnej nie powinno przekraczać $1 \mu\text{g dm}^{-3}$.

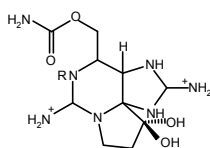


Ryc. 5. Struktura chemiczna anatoksyny-a.

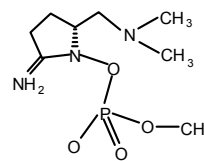
Do najczęściej opisywanych związków o działaniu neurotoksycznym produkowanych przez cyjanobakterie należą alkaloidy: anatoksyna-a i jej pochodne, anatoksyna-a(s) oraz saksitoksyny, a także niebiałkowy aminokwas β -N-metyloamino-L-alanina. Neurotoksyny należą do rzadziej występujących toksyn cyjanobakterii. Z wymienionych związków, w polskich wodach zidentyfikowano dotychczas jedynie anatoksynę-a (MAZUR i współaut. 2003, PAWLIK-SKOWROŃSKA i współaut. 2004).

Anatoksyna-a ($M_{cz} = 165$ Da, $LD_{50} = 200-250$ $\mu\text{g kg}^{-1}$) jest alkaloidem (Ryc. 5) występującym u słodkowodnych szczepów z rodzaju – *Dolichospermum*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermum*, *Oscillatoria*, *Planktothrix*, *Phormidium* oraz w niewielkich ilościach również u *Microcystis* (SIVONEN i JONES 1999). Obecność metylowej pochodnej tego związku, homoanatoksyny-a ($M_{cz} = 179$ Da), wykryto u *Planktothrix formosa*. Anatoksyna-a jest silnym agonistą nikotynowego receptora cholinergicznego występującego w błonie postsynaptycznej. Do ostrych objawów zatrucia należy: drżenie i skurcze mięśni, a w skrajnych przypadkach porażenie mięśni oddechowych i śmierć w wyniku uduszenia.

Anatoksyna-a(s) ($M_{cz} = 252$ Da, $LD_{50} = 20$ $\mu\text{g kg}^{-1}$), produkowana przez cyjanobakterie z rodzaju *Dolichospermum* (*D. flos-aquae* NRC-525-17 oraz *D. lemmermannii*), wywołuje podobne objawy do anatoksyny-a, jednak jej budowa oraz mechanizm działania są inne (SIVONEN i JONES 1999). Anatoksyna-a(s) jest naturalnie występującym związkiem fosforoorganicznym (Ryc. 6), który hamuje aktywność acetylocholinoesterazy. Charakterystycznym objawem działania anatoksyny-a(s) u kręgowców jest obfity ślinotok.



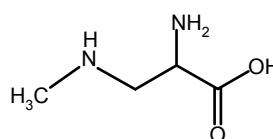
Ryc. 7. Struktura chemiczna saksitoksyny.



Ryc. 6. Struktura chemiczna anatoksyny-a(s).

Saksitoksyna ($M_{cz} = 299$ Da, $LD_{50} = 8$ $\mu\text{g kg}^{-1}$) i jej pochodne wytwarzane są między innymi przez słodkowodne cyjanobakterie z gatunku *Aphanizomenon flos-aquae*, *Dolichospermum circinalis*, *Oscillatoria mougeotti*, *Lyngbya wollei*, *Cylindrospermopsis raciborskii* i *Planktothrix* sp. (SIVONEN i JONES 1999). Obecnie znanych jest ponad 21 analogów tego alkaloidu (Ryc. 7); podzielono je na: najbardziej toksyczne saksitoksyny pozbawione grupy sulfonowej (STX), zawierające w swej strukturze jedną grupę sulfonową goniautoksyny (GTX) oraz zawierające dwie grupy sulfonowe C-toksyny. Saksitoksyny blokując transport jonów Na^+ przez kanały jonowe w komórkach nerwowych, zaburzają propagację potencjału czynnościowego wzdłuż wypustki nerwowej.

β -N-metyloamino-L-alanina (BMAA) ($M_{cz} = 118$ Da), niebiałkowy aminokwas (Ryc. 8), po raz pierwszy wykryto w owocach sagowca, a następnie u cyjanobakterii z rodzaju *Nostoc* żyjącej w symbiozie z tą rośliną. Na wyspie Guam (Ocean Spokojny, Archipelag Mariański) owocami sagowca żywią się duże nietoperze z gatunku *Pteropus mariannus*, stanowiące przysmak w diecie ludu Chamorro zamieszkującego wyspę. Cox i współaut. (2003) wykazali silną bioakumulację BMAA w łańcuchu pokarmowym, głównie w formie związanej z białkiem. Metabolizm białka prowadzi do stopniowego uwalniania BMAA, stąd związek ten zaliczono do wolno działających toksyn. Przypuszcza się, iż BMAA może być przyczyną neurodegeneracyjnej choroby przypominającej objawami stwardnienie zanikowe boczne i chorobę Parkinsona (ang. amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonian dementia complex, ALS-PDC). Główne wą-



Ryc. 8. Struktura chemiczna BMAA.

pliwości dotyczące przypisania zmian neurodegeneracyjnych działaniu BMAA wynikają z faktu, iż ujawniają się one dopiero po podaniu wysokich dawek toksyny. Według COX i współaut. (2005), BMAA występuje u 95% rodzajów badanych cyjanobakterii. W innych pracach autorzy nie zidentyfikowali BMAA w żadnym z analizowanych szczepów sinic (ROSEN i HELLENÄS 2008, KRÜGER i współaut. 2009)

Lipopolisacharydy (LPS), klasyfikowane jako endotoksyny, są składnikiem zewnętrznej warstwy ściany komórkowej gramujemnych bakterii; występują u wszystkich cyjanobakterii. W skład ich struktury wchodzi lipid A, oligosacharydowy rdzeń R oraz O-swoiste łańcuchy wielocukrowe. Związki te zidentyfikowano u chrookokalnych cyjanobakterii z rodzaju *Synechococcus*, *Synechocystis*, *Microcystis* oraz u nitkowatych: *Dolichospermum*, *Oscillatoria*, *Spirulina* i *Schizothrix* (SIVONEN i JONES 1999, STEWART i współaut. 2006). Kontakt z LPS u ludzi i zwierząt może wywoływać tzw. szok septyczny; najczęściej jednak są to objawy typowe dla grypy: stany gorączkowe, dreszcze, kaszel, ból gardła. BEST i współaut. (2002) wykazali, iż LPS hamują aktywność S-transferazy glutationowej, która uczestniczy w detoksykacji wielu ksenobiotyków. LPS produkowane przez cyjanobakterie są 10-krotnie mniej toksyczne niż te produkowane m.in. przez bakterie *Salmonella*.

W wielu laboratoriach jedynym sposobem oceny potencjalnej toksyczności wód objętych zakwitem cyjanobakterii jest analiza mikroskopowa. W przypadku zakwitu planktonowego gatunku *Nodularia spumigena* ocena jest dość łatwa, ponieważ gatunek ten zawsze produkuje nodularinę (RINEHART i współaut. 1994). W naturalnej populacji innych gatunków mogą występować zarówno szczepy nietoksyczne, jak i toksyczne, charakteryzujące się różnym profilem syntezowanych toksyn. Zmiana składu fitoplanktonu w zbiorniku wodnym będzie więc skutkowałą zmianą rodzaju i stężenia mikrocyzyn. Niestety, w oparciu o klasyczną analizę mikroskopową nie jest możliwe odróżnienie organizmów toksycznych od nietoksycznych. Nie stwierdzono również wyraźnej zależności pomiędzy intensywnością zakwitu cyjanobakterii, a stężeniem toksyn. Co więcej, w przypadku *Microcystis* zawartość mikrocyzyn w jednostce biomasy cyjanobakterii była często odwrotnie proporcjonalna do intensywności zakwitu

(WELKER i współaut. 2003). W większości jezior zdominowanych przez cyjanobakterie z rodzaju *Microcystis*, na początku sezonu wegetacyjnego pojawiają się szczepy toksyczne, które wraz z wzrostem biomasy, zastępowane są przez szczepy nietoksyczne. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń laboratoryjnych wysunięto hipotezę, że wysokie stężenie soli biogenicznych w sezonie wiosennym silniej wpływa na wzrost szczepów toksycznych niż szczepów nietoksycznych (VEZIE i współaut. 2002). Według innej hipotezy, przy niskiej gęstości komórek, cyjanobakterie muszą syntezować większe ilości mikrocyzyn aby ich stężenie w wodzie było dostatecznie silnym czynnikiem chroniącym je przed wyżeraniem przez zooplankton. Nie można też wykluczyć, że to selektywne wyżeranie nietoksycznych sinic przez zooplankton powoduje przebudowę składu fitoplanktonu i okresowe zwiększenie udziału szczepów toksycznych (BENN-DORF i HENNING 1989).

Ocena stanu sanitarnego wód na podstawie wielkości biomasy jest trudna. Wieloletnie obserwacje pozwalają jednak na wyciągnięcie pewnych ogólnych wniosków, co do zależności pomiędzy składem gatunkowym sinic, ich morfologią i potencjalną toksycznością zakwitu.

Wartości stężeń mikrocyzyn w jeziorach i innych zbiornikach wodnych na całym świecie wykazują dużą czasową i przestrzenną zmienność. Jest ona spowodowana zmianami w wielkości biomasy cyjanobakterii, wpływem czynników środowiskowych na tempo biosyntezy toksyn oraz udziałem genotypów *mcy* w ogólnej liczbie organizmów fitoplanktonowych. Wykazano, że warunki środowiska, takie jak temperatura, natężenie promieniowania słonecznego czy stężenie soli biogenicznych, w niewielkim jedynie stopniu zmieniają intensywność syntezy toksyn (średnio 3–5-krotnie). Mogą natomiast spowodować wzrost biomasy sinic toksycznych i tym samym, w sposób pośredni, zwiększyć stężenia produkowanych związków (KURMAYER i CHRISTIANSEN 2009). Obecnie, uważa się, że decydujący wpływ na toksyczność zakwitu, rodzaj i stężenie mikrocyzyn w wodzie ma struktura gatunkowa cyjanobakterii i udział szczepów produkujących mikrocyzyny.

Cyjanobakterie z rodzaju *Microcystis* produkują głównie niezmodyfikowane formy toksyn: MC-LR, RR, YR, WR. Na podstawie badań prowadzonych w Jeziorze Wannsee

w Niemczech, KURMAYER i współaut. (2002) stwierdzili, że około 73% cyjanobakterii należących do gatunku *M. aeruginosa* zawiera gen *mcyB* stanowiący fragment klastra genowego kodującego syntezę mikrocytyn. Obecność tego genu autorzy wykryli również u *M. flos-aquae* (37%), *M. botrys* (45%) i *M. ichtyoblabe* (16%); nie stwierdzono go natomiast u żadnego szczepu należącego do gatunku *M. wesenbergii*. Badania prowadzone w siedmiu krajach europejskich przez VIA-ORDORIKI i współaut. (2004) wykazały podobną zależność pomiędzy morfotypem, a obecnością genów *mcy*. Najczęściej geny te występowały u *M. aeruginosa* (72%) i *M. botrys* (90%), wykryto je również u 50% kolonii *M. flos-aquae*. Znacznie rzadziej geny *mcy* występowały u *M. ichtyoblabe* (20%) i *M. viridis* (17%); nie wykryto ich u *M. wesenbergii*. Zwrócono również uwagę na zależność pomiędzy częstością występowania genów *mcy*, a rozmiarem kolonii (JUNGMANN i współaut. 1996, KURMAYER i KUTZENBERGER 2003). Komórki *Microcystis* tworzące największe kolonie (> 100 µm) częściej zawierały gen *mcyB* niż komórki tworzące najmniejsze kolonie (< 50 µm). Na podstawie badań cyjanobakterii z kilku jezior europejskich, VIA-ORDORIKI i współaut. (2004) oszacowali, że 88% kolonii większych niż 1 100 µm produkuje mikrocytynę, natomiast udział genotypów *mcy* wśród kolonii o rozmiarach mniejszych niż 400 µm wynosi ok. 20%.

W danej populacji *Microcystis* obserwuje się krótkoterminowe wahania w ilości szczepów posiadających geny *mcy*, jednak ich średnia ilość jest w przybliżeniu stała i wynosi ok. 10–20% populacji (SCHÖBER i współaut. 2007). Przykładowo, w Jeziorze Wannsee (Niemcy) toksyczne genotypy stanowiły 1–38% wszystkich kolonii *Microcystis* (KURMAYER i KUTZENBERG 2003), w Jeziorze Mikata (Japonia) było to 0,5–35% (YOSHIDA i współaut. 2007), a w Jeziorze Erie (USA) 8,5–22,5% populacji (RINTA-KANTO i współaut. 2005). Dotychczasowe badania wskazują na niewielki procent (2,5–3%) nieaktywnych genów *mcy* u *Microcystis* (KURMAYER i współaut. 2002, VIA-ORDORIKI i współaut. 2004).

Cyjanobakterie z rodzaju *Planktothrix* należą do najczęściej występujących w wodach europejskich, zwłaszcza na półkuli północnej. Ich charakterystyczną cechą jest synteza demetylowych form MC (m.in. dmMC-RR, dmMC-LR, dmMC-YR). Jeziora, w których występowały zakwity *Planktothrix* charakteryzowały się zwykle wyższymi stężeniami toksyn niż te, w których dominował rodzaj *Microcystis* (FASTNER i współaut. 1999). Analiza szczepów *P. rubescens* z austriackich jezior wykazała obecność jedynie genotypów *mcy*, przy czym 5–21% z nich było nieaktywnych. W populacji *P. agardhii* odnotowano obecność zarówno genotypów *mcy* jak i szczepów pozbawionych genów *mcy*. Jednocześnie, wśród szczepów *P. agardhii* częstość występowania nieaktywnych genów *mcy* była mniejsza niż u *P. rubescens* (KURMAYER i współaut. 2004).

Trzecim z rodzajów cyjanobakterii, dominującym w toksycznych zakwitach jest *Dolichospermum*. Badania prowadzone w Belgii i Luksemburgu przez WILLAME i współaut. (2005) wykazały, że jedynie 12% zakwitów zdominowanych przez gatunki z tego rodzaju było toksycznych. Ten rodzaj cyjanobakterii tworzy zakwity również w Morzu Bałtyckim; niekiedy towarzyszy im występowanie mikrocytyn. Wśród gatunków produkujących mikrocytynę dominują *D. flos-aquae*, *D. circinalis*, *D. lemmermannii* i *D. viguieri*. Rodzaj *Dolichospermum* częściej niż inne cyjanobakterie produkuje mikrocytynę zawierającą w pozycji 7 serynę zamiast reszty Mdha (SIVONEN i JONES 1999).

Mimo wielu lat badań nad cyjanobakteriami, do dziś nie ma jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, dlaczego produkują one związki o tak silnie toksycznym działaniu. Mikrocytynom przypisuje się między innymi rolę w allelopatycznych oddziaływaniach z innymi mikroorganizmami. Według niektórych autorów mikrocytynę mogą również stanowić element mechanizmu obronnego przed wyżeraniem przez zooplankton (DEMOTT i MOXTER 1991, BEDNARSKA 2006) lub litycznym działaniem cyjanofagów (YOSHIDA i współaut. 2006, 2008).

METODY ANALIZY TOKSYCZNYCH CYJANOBAKTERII

Opracowano wiele testów na organizmach oraz metod fizyko-chemicznych i bio-

chemicznych, które znajdują zastosowanie w identyfikacji i pomiarach stężenia cyjanotok-

syn oraz ich aktywności biologicznej. Metody te charakteryzują się różną selektywnością i czułością, niekiedy wymagają zastosowania zaawansowanych urządzeń pomiarowych.

Test immunoenzymatyczny ELISA, z zastosowaniem poliklonalnych lub monoklonalnych przeciwciał, pozwala na określenie całkowitego stężenia mikrocytyn i nodularyn w wodzie i organizmach, jako równoważnika stężenia MC-LR (AN i CARMICHAEL 1994). Test ten charakteryzuje się dużą czułością; wzorzec mikrocytyny wchodzący w skład dostępnych w handlu zestawów, umożliwi wykonanie pomiarów stężenia mikrocytyn w zakresie 0,05–1,0 $\mu\text{g dm}^{-3}$. Jednak ze względu na różne powinowactwo analogów mikrocytyn do stosowanych przeciwciał oraz istniejące prawdopodobieństwo reakcji krzyżowych z innymi grupami związków, uzyskany wynik nie zawsze jest miarą rzeczywistego stężenia mikrocytyn (AN i CARMICHAEL 1994, RAPALA i współaut. 2002). Przykładowo, mikrocytyny i nodularyny ze zmienioną strukturą lub konformacją reszty Adda, np. izomery [(6Z)Adda] lub analogi [DMAdda], nie wchodzi w reakcje krzyżowe ze stosowanymi przeciwciałami; również bardziej hydrofobowe mikrocytyny, z tryptofanem lub fenyloalaniną w miejscu Arg, wykazują słabe powinowactwo do przeciwciał specyficznych dla MC-LR. Natomiast, tworzone w organizmach koniugaty mikrocytyn z glutationem (GSH) wiążą się z przeciwciałami podobnie jak wolne toksyny. Fakt ten ma istotne znaczenie w analizie całkowitego stężenia peptydowych cyjanotoksyn (wolnych i związanych z GSH) w tkankach organizmów.

W teście hamowania aktywności fosfataz białkowych (PPIA) wykorzystywana jest zdolność mikrocytyn i nodularyn do inhibicji serynowo-treoninowych fosfataz typu PP 1 i PP 2A. Stopień inhibicji fosfataz jest miarą toksyczności i stężenia analizowanych związków. Test PPIA charakteryzuje się dużą specyficznością i czułością; granica wykrywalności toksyn wynosi 0,3 $\mu\text{g dm}^{-3}$ (AN i CARMICHAEL 1994, RAPALA i współaut. 2002). Nie wszystkie jednak mikrocytyny reagują z fosfatazami białkowymi w jednakowym stopniu; z drugiej strony ich aktywność może być modyfikowana działaniem innych związków obecnych w badanym materiale. Przykładowo, mikrocytyny bez grupy metylowej w reszcie kwasu asparaginowego, [D-Asp³]MC-LR i [D-Asp³]MC-RR, są znacznie mniej aktywne. Fosfatazy białkowe PP 1 i PP 2A hamowane są również przez koniugaty mi-

krocystyn z GSH i Cys, jednak ich powinowactwo do miejsca wiązania z enzymem jest słabsze.

Ze względu na dużą czułość ELISA i PPIA oraz fakt, że analizę przeprowadza się bez konieczności zagęszczenia materiału, testy te są rekomendowane w badaniach przesiewowych próbek wody.

Najszerze zastosowanie w analizie mikrocytyn i nodularyn znajduje wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) z detektorem fotodiodowym (DAD) (SPOOF i współaut. 2001). HPLC-DAD umożliwia wykrycie i analizę ilościową analogów MC i NOD, których wzorcami dysponujemy. Podstawą wstępnej identyfikacji związku jest wartość jego czasu retencji oraz widmo absorpcyjne z maksimum przy 238 nm. Gdy jednym z aminokwasów w cząsteczce MC jest tryptofan, dodatkowe maksimum absorpcji występuje przy 222 nm. Podobne właściwości spektralne większości mikrocytyn i nodularyn pozwalają na przeprowadzenie analizy ilościowej również tych toksyn, których wzorcami nie dysponujemy. W badanej próbce mogą być obecne związki charakteryzujące się podobnym widmem absorpcyjnym, lecz posiadające inną strukturę chemiczną. Zakres zastosowania HPLC-DAD limitowany jest granicą wykrywalności, którą szacuje się na 0,1 mg dm^{-3} . Ponieważ wartości stężeń MC i NOD w środowisku często wynoszą poniżej 1 $\mu\text{g dm}^{-3}$, próbki wody przed analizą muszą ulec 500–1000 krotnemu zateżeniu. W tym celu najczęściej stosuje się ekstrakcję typu ciecz-ciało stałe (SPE). Technika HPLC-DAD, ze względu na zbyt małą czułość, nie znajduje zastosowania w analizie toksyn sinicowych w tkankach i narządach organizmów wodnych. W 2005 roku opublikowano standardową procedurę ekstrakcji, rozdziału i oznaczania mikrocytyn MC-RR, MC-YR i MC-LR w wodzie w oparciu o HPLC z detektorem UV (ISO 20179 2005).

Potwierdzenie struktury toksyn wykrytych za pomocą HPLC oraz charakterystyka nieznanymi związków możliwe są do przeprowadzenia z zastosowaniem bardziej zaawansowanych technik, do których zaliczamy głównie chromatografię cieczową sprzężoną z tandemowym spektrometrem mas (LC-MS/MS) (SPOOF i współaut. 2003, DIEHNELT i współaut. 2005). Analiza składu próbki poprzedzona jest rozdziałem związków na kolumnie chromatograficznej. Przed trafieniem do analizatora, analit musi ulec jonizacji; w tym celu najczęściej stosuje się

rozpylanie w polu elektrycznym (ESI) lub desorpcję laserową wspomaganą matrycą (MALDI). Identyfikacja toksyny następuje poprzez pomiar wartości stosunku masy do ładunku (m/z) jej jonu macierzystego $[M+H]^+$ oraz jonów fragmentacyjnych (w przypadku tandemowej spektrometrii mas MS/MS) (Tabela 2). Najnowsze modele aparatów umożliwiają wykrycie oraz analizę ilościową toksyn występujących w skomplikowanych matrycach środowiskowych w stężeniach rzędu $0,02 \mu\text{g dm}^{-3}$.

W ostatnim czasie, coraz szersze zastosowanie w analizie mikrocytyn znajdują metody genetyczne, w których wykorzystuje się reakcję łańcuchowej polimerazy PCR (ang. polymerase chain reaction) (PEARSON i NEILAN 2008). W poszukiwaniu potencjalnie toksycznych szczepów z rodzaju *Microcystis*, *Dolichospermum* i *Planktothrix* analizowany jest klaster genów *mcy* (~55 kpz), których produktami są m.in. syntetazy peptydowe

i syntazy poliketydowe odpowiedzialne za biosyntezę mikrocytyn. Poszczególne geny, m.in. *mcyA*, *mcyB*, *mcyC* i *mcyE*, kodują syntezę enzymów uczestniczących w aktywacji i przyłączaniu kolejnych reszt aminokwasowych do cząsteczki mikrocytyny (DITTMANN i BÖRNER 2005, KURMAYER i CHRISTIANSES 2009). Obecność tych genów jest cechą charakterystyczną toksycznych szczepów cyjanobakterii; zostały one jednak wykryte również u szczepów nie produkujących mikrocytyn (VIA-ORDORIKI i współaut. 2004). Czułość metody wykrywania genu *mcyA* szacuje się na $0,001 \mu\text{g dm}^{-3}$. Tym samym jest to najczulsze narzędzie w wykrywaniu obecności potencjalnie toksycznych mikroorganizmów. Zastosowanie PCR w czasie rzeczywistym (RT-PCR) pozwala na ilościową analizę genotypów *mcy* w próbkach fitoplanktonu (KURMAYER i współaut. 2002, RINTA-KANTO i współaut. 2005, PEARSON i NEILAN 2008).

KUMULACJA TOKSYN PRODUKOWANYCH PRZEZ CYJANOBAKTERIE W OSADACH I ORGANIZMACH WODNYCH

Liczne publikacje naukowe opisują przypadki śmiertelnego zatrucia zwierząt: psów, bydła, owiec, koni, świń, ryb, gryzoni, płazów, ptaków, nietoperzy, zebra, nosorożców wywołane kontaktem z sinicami (WHO 2003). Dane zawarte w literaturze wskazują na występowanie zjawiska kumulacji mikrocytyn i nodularyn w organizmach zasiedlających akweny objęte zakwitami cyjanobakterii. Omawiane związki wykryto w organizmach zooplanktonowych i bentosowych, a także mięśniach i organach ryb (MARTINS i VASCONCELOS 2009).

Unoszące się przy powierzchni wody komórki sinic mogą stanowić pokarm dla innych organizmów planktonowych. Jednak ze względu na tworzenie kolonii, występowanie grubych osłon komórek i otoczek śluzowych, a także zdolność cyjanobakterii do produkcji substancji toksycznych, żerowanie na nich przez zooplankton jest ograniczone (LAMPERT 1981, HANEY i współaut. 1994, JUNGSMANN i BENNDORF 1994). Obecność hepatotoksyn sinicowych zanotowano jednak np. w ciele krewetek (CHEN i XIE 2005). MOHAMED (2001) wykazał, iż organizmy z rodzaju *Daphnia* mogą żerować na toksycznym gatunku cyjanobakterii *Microcystis aeruginosa*, gdy podstawowy pokarm zostanie wyczerpany. Doświadczenia laboratoryjne pokazują, iż

toksyny mogą dostać się do organizmu także bezpośrednio z wody, jako związki rozpuszczone w środowisku. Dowiedli tego KARJALAINEN i współaut. (2005) w teście na widłonogach *Acartia bifilosa* i *Eurytemora affinis* oraz orzęsku *Strombidium sulcatum* hodowanych w wodzie morskiej z dodatkiem znakowanej radioaktywnie nodularyny. CHEN i XIE (2005) stwierdzili obecność mikrocytyn w jajach słodkowodnych krewetek. Toksyczne działanie mikrocytyn obserwowane jest w postaci zmiany procesów fizjologicznych, budowy i behawioru zooplanktonu (BEDNARSKA 2006). Udokumentowana kumulacja hepatotoksyn w organizmach zooplanktonowych pozwala sądzić, iż stanowią one istotne ogniwo w transporcie tych związków na wyższe poziomy troficzne (ENGSTRÖM-ÖST 2002).

Hepatotoksyny zidentyfikowano również w ciele mięczaków: wodnych ślimaków i małży. Szacuje się, że pojedynczy osobnik małża może przefiltrować nawet 1538 cm^3 wody w ciągu godziny (HALL i CARSON 2006). Przeniesienie toksyn tą drogą wydaje się być bardzo efektywne. Obecność nodularyny stwierdzono w osobnikach pochodzących z różnych rejonów Bałtyku (KANKAANPÄÄ i współaut. 2001; SIPIÄ i współaut. 2001a, 2002a; MAZURMARZEC i współaut. 2007). Przykładowo, w

Tabela 3. Najwyższe zmierzone wartości stężeń mikrocytyn (MC) i nodularyny (NOD) w wątrobie i mięśniach ryb.

Gatunek ryby	Maksymalne stężenie w tkankach (ng g ⁻¹ suchej masy)		Rejon badań	Metoda detekcji	Źródło
	Wątroba	Mięśnie			
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	301	n.b.	Klamath River, USA	LC/MS/MS	KANN 2008
<i>Perca</i> sp.	n.b.	473	Klamath River, USA	LC/MS/MS	KANN 2008
<i>Tilapia rendalli</i>	31300 m.m.*	26 m.m.	zalew Jacarepagua, Brazylia Laguna, Brazylia	ELISA	MAGALHÃES i współaut. 2001
<i>Oreochromis niloticus</i> , <i>Tilapia rendalli</i>	32100	12,0	Zbiorniki Funil i Furnas, Brazylia	PPIA 1 i HPLC	DEBLOIS i współaut. 2008
<i>Carassius gibelio</i>	84,50	11,97	Jezioro Pamvotis, Grecja	ELISA	KAGALOU i współaut. 2008
<i>Cyprinus</i> sp.	n.b.	300 m.m.	Portugalia	ELISA	VASCONCELOS 1999
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	4520	2860	Rzeka Tiesha, Japonia	HPLC-ESI-MS	ZHANG i współaut. 2009
<i>Platichthys flesus</i>	410	0	Morze Bałtyckie	ELISA	SIPIÄ i współaut. 2002a
<i>Platichthys flesus</i>	637	n.b.	Morze Bałtyckie	ELISA	KARLSSON i współaut. 2003

m.m. – mokra masa, n.b. – nie badano

2006 r., najwyższa wartość stężenia NOD w miękkich tkankach omułka z Zatoki Gdańskiej wyniosła 139 ng g⁻¹ i została odnotowana w czasie największej liczebności sinic z gatunku *Nodularia spumigena* (MAZUR-MARZEC i współaut. 2007). Badania prowadzone przez niezależne grupy naukowców potwierdzają zwiększone tempo kumulacji hepatotoksyn podczas wzrostu liczebności cyjanobakterii (FALCONER 1993, SIPIÄ i współaut. 2001a). Publikacje wskazują na kumulację hepatotoksyn także u małży słodkowodnych (WATANABE i współaut. 1997, YOKOYAMA i PARK 2003). Wysokie wartości stężeń mikrocytyn oznaczyli OZAWA i współaut. (2003) w wątrobo-trzustce i jelitach ślimaka *Sinotia histrica* (3,2 µg g⁻¹ i 19,5 µg g⁻¹) z jeziora Biwa w Japonii. GÉRARD i współaut. (2009) odnotowali wyższe stężenie mikrocytyn u płucodysznych ślimaków, niż u małży. Mikrocytyny mogą być usuwane z organizmu małża na drodze detoksykacji (AMORIM i VASCONCELOS 1999). Doświadczenia YOKOYAMA i PARK (2003) oraz LANCE i współaut. (2008) wykazały, iż procesy te zachodzą mniej efektywnie u ślimaków. Detoksykacja może być

zahamowana np. przez spadek temperatury otoczenia (YOKOYAMA i PARK 2003). Notowane stężenia hepatotoksyn w tkankach małży są często wysokie w związku z czym FALCONER (1993) postulował wprowadzenie czasowego zakazu odławiania tych organizmów w celach konsumpcyjnych.

W przypadku ryb, źródłem skażenia cyjanotoksynami może być ich pokarm (mięczaki lub mniejsze ryby, sinice) (TENCALLA i współaut. 1994). Dane potwierdzające kumulację MC i NOD w tkankach i organach ryb pochodzą z różnych rejonów świata (Tabela 3).

Najwyższe wartości stężeń mikrocytyn i nodularyn odnotowano w wątrobie, głównym miejscu oddziaływania hepatotoksyn. Nodularynę zidentyfikowano w próbkach różnych ryb bałtyckich: storni, dorsza, ciernika, śledzia i łososia (KANKAANPÄÄ i współaut. 2001; SIPIÄ i współaut. 2001b, 2002a, b). U osobników odłowionych w rejonie Zatoki Gdańskiej wartości stężeń NOD w wątrobie zawierały się w przedziale 99-538 ng g⁻¹ (MAZUR-MARZEC i współaut. 2007; dane niepublikowane); obserwowano duże różnice pomiędzy różnymi osobnikami odłowionymi w tym

samym czasie. Również praca KANKAANPÄÄ i współaut. (2005) wykazała istotne różnice w wartościach stężeń NOD pomiędzy pojedynczymi osobnikami ryb. MAZUR-MARZEC i współaut. (2007) stwierdzili, że mięśnie ryb są prawdopodobnie wolne od toksyn, ponieważ w większości próbek wykryte stężenia NOD (ok. $1 \text{ ng g}^{-1} \text{ s.m.}$) były niższe niż wartości uzyskane dla materiału referencyjnego. Najnowsze badania wskazują jednak na obecność hepatotoksyn w mięśniach storni, leszcza, sandacza i płoci odławianych z Zatoki Gdańskiej i Zalewu Wiślanego (dane niepublikowane). Wcześniejsze badania wykazały też obecność NOD w mięśniach łosia i śledzia odłowionych w północnej części Bałtyku (KANKAANPÄÄ i współaut. 2002, SIPIÄ i współaut. 2002b). Mikrocyliny mogą ulegać akumulacji także w innych częściach ciała ryby: nerkach, skrzelach, gonadach, przewodzie pokarmowym (MOHAMED i współaut. 2003, KANKAANPÄÄ i współaut. 2005, ZHANG i współaut. 2007, KAGALOU i współaut. 2008). Wyżej wymienione toksyny wykryto ostatnio w mózgu karasia srebrzystego (*Carassius gibelin*), co może wskazywać na zdolność mikrocylin do pokonywania bariery krew/mózg (KAGALOU i współaut. 2008). Notowane są też przypadki wystąpienia wyższych stężeń toksyn w przewodzie pokarmowym, niż w wątrobie (ZHANG i współaut. 2007). Taka sytuacja może wystąpić u ryb, które żerowały na toksycznych sinicach. Autorzy stwierdzili obecność komórek *Microcystis aeruginosa* w przewodzie pokarmowym planktonożernej ryby tołpygi białej (*Hypophthalmichthys molitrix*).

Badania ZHANG i współaut. (2009) wykazały najwyższe stężenia cyjanotoksyn w rybach planktonożernych, niższe we wszystkożernych i najniższe u gatunków drapieżnych. Dotychczas opublikowane wyniki badań nad kumulacją mikrocylin w łańcuchu troficznym nie są jednak jednoznaczne. Trzyletni monitoring prowadzony w jeziorze IJsselmeer (Holandia) obejmujący pomiary mikrocylin w organizmach planktonowych, małżach, rybach i ptakach, nie wykazał występowania zjawiska biomagnifikacji (IBELINGS i współaut. 2005). Przenoszenie mikrocylin w łańcuchu pokarmowym zostało jednak wielokrotnie dowiedzione (MAGALHES i współaut. 2003, IBELINGS i współaut. 2005, SMITH i HANEY 2006, ZHANG i współaut. 2009). Źródłem nodularyny wykrytej u bałtyckiego edredona (*Somateria molissima*) były prawdopodobnie spożywane przez

tego ptaka zanieczyszczone omułki (SIPIÄ i współaut. 2003). Brak biomagnifikacji wynika prawdopodobnie z efektywnego procesu detoksykacji, który przebiega na drodze łączenia się hepatotoksyn ze zredukowanym glutationem (GSH). Utworzone koniugaty są bardziej polarne, tym samym są łatwiej usuwane z organizmu. MC i NOD mogą wywołać stres oksydacyjny prowadzący do wzrostu aktywności enzymów należących do grupy oksydoreduktaz np. katalazy (CAT) i peroksydazy gwajakolowej (POD). Toksyny te wpływają również na podwyższenie aktywności S-transferazy glutationowej (GST) katalizującej powstawanie koniugatów z GSH. Obecność takich koniugatów wykazano w organizmach zooplanktonowych, małżach i rybach (PFLUGMACHER i współaut. 1998). BEATTIE i współaut. (2003) zaobserwowali podwyższony poziom S-transferazy glutationowej (GST) u *Artemia salina*, po inkubacji w obecności mikrocylin. Wykorzystanie nowoczesnej techniki MALDI-TOF-MS pozwoliło na identyfikację koniugatów w tkankach małży, u których uprzednio stwierdzono obecność nodularyny (SIPIÄ i współaut. 2002b). Mimo iż liczne badania potwierdzają biotransformację hepatotoksyn w organizmie małży, całkowita depiuracja prawdopodobnie nie zachodzi. Spowodowane jest to chronicznym narażeniem zwierząt na subletalne dawki toksyn. U omułka *Mytilus edulis* i storni *Platichthys flesus* żywiącej się omułkiem nodularynę wykryto w okresie, gdy toksyczne cyjanobakterie występowały w niewielkich ilościach i nie tworzyły zakwitu (SIPIÄ i współaut. 2001a).

Obecnie przyjmuje się, że główne źródło zagrożenia dla człowieka, jakim jest zatrucie toksynami sinicowymi, stanowi woda pitna (CHORUS i BARTRAM 1999). Biorąc jednak pod uwagę coraz liczniejsze publikacje donoszące o wysokich zawartościach hepatotoksyn w rybach, krewetkach i innych jadalnych organizmach wodnych (IBELINGS i CHORUS 2007), niezbędnym wydaje się prowadzenie dalszych badań w tym kierunku. MAG LHAES i współaut. (2003) analizując obecność mikrocylin w mięśniach ryb, jadalnych krabach i krewetkach oszacowali, że w przypadku 19% badanych próbek zawartość hepatotoksyn przekroczyła stężenia uznane za bezpieczne (WHO 2008).

Sedymentacja obumarłych komórek sinic, organizmów, w których toksyna uległa kumulacji, i ich odchodów prowadzi do depozycji toksycznego materiału w osadach.

Stosunkowo niedawno rozpoczęto pierwsze badania w tym kierunku. Nieliczne publikacje wskazują na kumulację mikrocytyn w osadach jezior (np. BABICA i współaut. 2006, CHEN i współaut. 2008) i rzek (MOHAMMED i współaut. 2007), natomiast brakuje danych dotyczących polskich wód śródlądowych. W środowisku morskim po raz pierwszy zaobserwowano puste komórki *N. spumigena* i zanotowano śladowe ilości nodularyny ($90 \mu\text{g dm}^{-3}$), w próbkach osadu pobranego w zachodniej części Zatoki Fińskiej (KANKAANPÄÄ i współaut. 2001). Cztery lata później znacznie wyższe stężenia wykryto w osadach wschodniej części zatoki ($127,5\text{--}342,4 \mu\text{g NOD kg}^{-1}$ osadu) (MAZUR-MARZEC i współaut. 2007). W tym samym czasie prawie o rząd

wielkości niższe stężenia NOD zmierzono w powierzchniowej warstwie osadów Zatoki Gdańskiej (MAZUR-MARZEC i współaut. 2007). Obserwowane różnice wynikają przede wszystkim ze zróżnicowania materiału osadzonego na dnie. Intensywność sorpcji zależy od składu granulometrycznego osadu, a proces ten zachodzi intensywniej w osadach z większym udziałem frakcji mulistej (MORRIS i współaut. 2000, TORUŃSKA i współaut. 2008). Prowadzenie dalszych badań w tym kierunku jest niezwykle ważne w aspekcie oszacowania stopnia narażenia organizmów bentosowych oraz możliwości wtórnego skażenia środowiska poprzez reintrodukcję toksyn do toni wodnej.

ZALECENIA I REGULACJE PRAWNE DOTYCZĄCE TOKSYCZNYCH SINIC W WODACH UŻYTKOWYCH

Na podstawie wieloletnich badań nad szkodliwym działaniem cyjanotoksyn na organizmy ludzi i zwierząt, Światowa Organizacja Zdrowia określiła dopuszczalną maksymalną dawkę tych związków w wodzie pitnej. Zgodnie z Dyrektywą dotyczącą wody pitnej z 1998 r. (WHO/EOS/98.1) dopuszczalne sumaryczne stężenie mikrocytyny LR rozpuszczonej w wodzie i związanej w komórkach wynosi $1 \mu\text{g dm}^{-3}$. Ta sama wartość, uznawana za tymczasową z powodu braku wystarczających danych dotyczących wpływu na zdrowie, została zamieszczona w najnowszej dyrektywie WHO dotyczącej wody pitnej z 2008 r. Ze względu na wysoką toksyczność mikrocytyny-LR (MC-LR), w porównaniu z innymi analogami mikrocytyn (BELL i CODD 1996), oraz z powodu braku danych toksykologicznych dotyczących innych toksyn sinicowych, zalecenia WHO tymczasowo obejmują tylko MC-LR. Dopuszczalna wartość stężenia MC-LR obliczona została na podstawie parametru TDI (ang. tolerable daily intake), który określa ilość substancji w powietrzu, żywności, wodzie pitnej (wyrażoną na jednostkę masy ciała w mg kg^{-1} lub $\mu\text{g kg}^{-1}$), która podczas codziennego przyjmowania nie wpływa znacząco na stan zdrowia organizmu. Parametr TDI obliczony został z kolei na podstawie trzynastotygodniowej obserwacji zmian patologicznych wątroby w teście na myszach. Test ten pozwolił na obliczenie parametru NOAEL (najwyższa dawka nie wywołująca efektu, ang. no observed adverse effect level) (FAWELL i współaut. 1999). Wartość

parametru TDI ($0,04 \mu\text{g kg}^{-1}$ dzień⁻¹) określona została wg wzoru: $\text{TDI} = \text{NOAEL} / \text{UF}$, gdzie UF oznacza współczynniki oceny. Wielkość UF (1000) wynika z faktu, iż test na myszach prowadzony był tylko przez ściśle określony czas, natomiast TDI dotyczy chronicznego narażenia w trakcie życia organizmu. Zakłada się również, że człowiek może być bardziej wrażliwy niż myszy zastosowane w teście. Szacując TDI, nie uwzględniono rakotwórczego działania mikrocytyn, co spowodowałoby trzykrotne obniżenie wartości tego parametru (CODD i współaut. 2005).

Przyjmując, że statystyczny człowiek o masie 60 kg spożywa 2 dm^3 wody w ciągu doby, obliczono dopuszczalne, bezpieczne stężenie MC-LR w wodzie pitnej wg równania:

$$\frac{0,04 \mu\text{g kg}^{-1} \times 60 \text{ kg}}{2 \text{ dm}^3}$$

Szacując wyżej wymienioną wartość założono, iż 80% MC-LR przyjmuje człowiek z wodą, resztę np. spożywając ryby odłowione w obszarze zakwitów. Wszystkie zalecenia WHO mają charakter tymczasowy i należy stosować je z rozwagą. Wartość parametru TDI może zmieniać się, zależnie od rejonu świata. Różnice te wynikają ze zmiennej ilości spożywanej wody i pożywienia, zwyczajów żywieniowych mieszkańców danego regionu, prawdopodobieństwa skażenia żywności toksynami, częstotliwości spożywania skażonego pokarmu itp. (IBELINGS i CHORUS 2007).

Polska jest pierwszym krajem w Europie i piątym na świecie (po Australii, Nowej Zelandii, Kanadzie i Brazylii), który w swoim prawodawstwie dotyczącym wody pitnej uwzględnił zalecenia WHO. Na podstawie art. 13 ustawy z dnia 7 czerwca 2001 r. o zbiorowym zaopatrzeniu w wodę i zbiorowym odprowadzaniu ścieków wydano Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 19 listopada 2002 roku w sprawie wymagań dotyczących jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Do uwzględnianych parametrów fizykochemicznych (załącznik 2 w/w rozporządzenia) dołączono wartość stężenia MC-LR ($1\mu\text{g dm}^{-3}$). Rozporządzenie to obowiązywało do dnia 17 sierpnia 2006 roku. Od 6 kwietnia 2007 obowiązuje nowe rozporządzenie (opublikowane w Dzienniku Ustaw Nr 61 poz. 417), w którym jednakże brakuje zaleceń dotyczących MC-LR, zawartych w rozporządzeniu z 2002 r.

Ze względu na przyjęcie zróżnicowanych parametrów przy określeniu TDI (masa ciała człowieka i objętość spożywanej wody), wartości maksymalnego dopuszczalnego stężenia mikrocytyny LR w wodzie pitnej różnią się nieznacznie w ustawodawstwie różnych krajów, przykładowo w Australii jest to $1,3\mu\text{g dm}^{-3}$, a w Kanadzie $1,5\mu\text{g dm}^{-3}$. W dokumencie określającym standardy dla wody pitnej w Nowej Zelandii oprócz wskazań dotyczących MC-LR ($1,3\mu\text{g dm}^{-3}$) umieszczono także normy dla innych toksyn sinicowych: homoanatoksyny-a ($2\mu\text{g dm}^{-3}$), nodularyny ($1\mu\text{g dm}^{-3}$) i saksitoksyn ($3\mu\text{g dm}^{-3}$). Podobne rozporządzenia, zawierające wskazania WHO odnośnie dopuszczalnych stężeń mikrocytyn w wodzie pitnej, posiadają dziś inne kraje europejskie m.in. Czechy, Francja, Hiszpania, Włochy (JURCZAK i współaut. 2005). Publikacje dostarczają też sporadycznych informacji na temat zalecanych wartości TDI i maksymalnych bezpiecznych stężeń w wodzie pitnej dla anatoksyny-a (TDI=0,51, stężenie maksymalne w wodzie pitnej $12,24\mu\text{g dm}^{-3}$) (ASTRACHAN i współaut. 1980, DUY i współaut. 2000) i cylindrospermopsyny (TDI=0,03, max stężenie w wodzie pitnej $0,81\mu\text{g dm}^{-3}$) (HUMPAGE i FALCONER 2003). Badania prowadzone w tym kierunku są niezwykle ważne, gdyż dane zawarte w literaturze wskazują na występowanie przypadków narażenia ludności na przyjmowa-

nie dużo wyższych dawek toksyn, niż są zalecane przez regulacje WHO (IBELINGS i CHORUS 2007).

Osoby korzystające z wód objętych zakwitem sinic mogą być narażone na działanie cyjanotoksyn podczas kąpieli (dermatotoksyny), przez przypadkowe połknięcie wody czy wdychanie bioaerozoli.

Światowa Organizacja Zdrowia w dyrektywie dotyczącej bezpieczeństwa w kąpieliskach (WHO 2003) zaznacza, iż wystąpienie zagrożenia dla zdrowia człowieka, wynikające z kontaktu z toksynami podczas rekreacji w wodach przybrzeżnych, ograniczone jest do pewnej liczby gatunków tworzących zakwity w wybranych rejonach świata. Dlatego też, choć nie ustalono wartości bezpiecznych stężeń cyjanotoksyn, lokalne społeczności powinny być świadome możliwego zagrożenia. Nie ustalono również wartości bezpiecznych stężeń cyjanotoksyn w słodkowodnych zbiornikach śródlądowych. Ponadto, obserwowane reakcje alergiczne mogą być wynikiem działania niezidentyfikowanych jeszcze związków. Problemem jest również pobieranie reprezentatywnych próbek środowiskowych, co związane jest z nieregularnością występowania zakwitów cyjanobakterii w czasie i przestrzeni. W dyrektywie z 2003 r. umieszczono wytyczne dla oszacowania stopnia zagrożenia zdrowia człowieka na podstawie pomiarów zawartości chlorofilu *a* i liczebności sinic.

Dyrektywa 2006/7/WE Parlamentu Europejskiego uchwalona 15 lutego 2006 r. dotyczy zarządzania jakością wody w kąpieliskach. Profil wody w kąpielisku powinien zawierać: ocenę możliwości rozmnażania sinic, makroglonów i fitoplanktonu, nie przewiduje jednak badań poszczególnych toksyn. Zgodnie z zapisami dyrektywy profile dla wód kąpieliskowych powinny zostać ustalone do roku 2011. Od 16 października 2002 r. obowiązuje w Polsce rozporządzenie w sprawie wymagań, jakim powinna odpowiadać woda w kąpieliskach (Dz. U. Nr 183, poz. 1530). W załączniku nr 1 do w/w rozporządzenia, zawierającym wskazania dotyczące badań podstawowych, pkt. 15 reguluje kwestie występowania zakwitów sinic w kąpieliskach. Według rozporządzenia dopuszcza się „ilości nie powodujące zmiany barwy i zmętnienia oraz/lub zapachu wody”.

ECOLOGY OF TOXIC CYANOBACTERIA

Summary

Eutrophication of waters bodies, as a consequence of human activities, results in the loss of biodiversity followed by massive appearance of cyanobacteria. In freshwater ecosystems, the blooms are mostly formed by the genera *Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena* and *Cylindrospermopsis*; in brackish and marine waters *Nodularia spumigena*, *Aphanizomenon flos-aquae* and *Trichodesmium* can thrive under favorable conditions.

Species belonging to the order Nostocales and Oscillatoriales live in filaments. The vegetative cells of Nostocales may differentiate into heterocytes and akinets. The order Chroococcales aggregates in colonies of different shape and size; they rarely produce akinets.

Cyanobacteria have developed a wide range of adaptation mechanisms which enable them to inhabit different niches of aquatic ecosystems and out-compete other phytoplankton organisms. Due to N₂ fixation, the filamentous and heterocytes forming species can grow in nitrogen depleted waters; gas vesicles are used to regulate buoyancy and adjust to optimal light intensity, while accessory pigments (phycocyanin, phycorytrin) enable them to absorb light in most efficient way. Growth of cyanobacteria is determined by a number of environmental factors, including water temperature, light intensity, ratio between nitrogen and phosphorus concentrations as well as the dynamics of water masses.

Some species produce secondary metabolites harmful to humans and animals. The compounds show hepatotoxic, neurotoxic, cytotoxic and dermatotoxic activities. Cyclic oligopeptides, termed microcystins, are the most commonly occurring cyanobacterial toxins. Like other non-ribosomal peptides, they are synthesized by thiotemplate mechanism. From one water bloom both microcystin-producing and non-microcystin-producing strains can be isolated. In some studies relationship between microcystin production and the morphology of *Microcystis* has been revealed. It was also proved that microcystin concentration in bloom material mostly depends on

the contribution of toxic genotype; it is also affected by environmental factors, but to a lesser extent.

Exposure of aquatic animals to toxin-producing cyanobacteria leads to contamination of their tissues and organs. Microcystins and nodularin may accumulate in the organisms via ingestion, transdermal rout or by taking up directly from water in dissolved form. The toxins were detected in zooplankton, mussels, snails, fish and birds from freshwater and marine environments. In liver and viscera the concentration of the compounds was highest; they were also found in muscles, gonads, kidney, gills and in feather of birds. As polar compounds, cyanobacterial hepatotoxins are probably not biomagnified in aquatic food web. Some authors suggested that detoxication of aquatic organisms proceeds through formation of glutathion conjugates. The process is probably not complete, as microcystin and nodularin were detected in the animal tissues several months after the bloom of toxic cyanobacteria.

Sediments are regarded to be a secondary source of contamination of filter-feeders with the toxins. As many other compounds, microcystin and nodularin are sorbed on sediment particles, especially those with fine-grained structure.

Toxic cyanobacteria blooms pose a serious threat to humans and animals. A variety of methods and techniques, characterized by different sensitivity and selectivity, are used to assess the risk for people exposed to cyanobacterial bloom or dissolved toxin in water. Additionally, some national and international regulations were issued to protect users of drinking and recreational waters. The World Health Organization derived and recommended a provisional guideline value for drinking water of 1 µg dm⁻³. In the Directive of European Union (2006/7/EC) the importance of cyanobacterial risk in bathing sites has been addressed.

With the view of the fact that cyanotoxins accumulate in edible aquatic organisms, this source of intoxication should not be overlooked.

LITERATURA

- AMORIM Á., VASCONCELOS V., 1999. *Dynamics of microcystins in the mussel Mytilus galloprovincialis*. *Toxicon*, 37, 1041-1052.
- AN J., CARMICHAEL W. W., 1994. *Use of a colorimetric protein phosphatase inhibition assay and enzyme linked immunosorbent assay for the study of microcystins and nodularins*. *Toxicon*, 32, 1495-1507.
- ASTRACHAN N. B., ARCHER B. G., HILBELINK D. R., 1980. *Evaluation of the subacute toxicity and teratogenicity of anatoxin-a*. *Toxicon*, 18, 684-688.
- Australian Drinking Water Guidelines 6, 2004. *National Water Quality Management Strategy*. Ministry of Health.
- BABICA P., KOHOUTEK J., BLÁHA L., ADAMOVSKÝ O., MARŠÁLEK B., 2006. *Evaluation of extraction approaches linked to ELISA and HPLC for analyses of microcystin-LR, -RR and -YR in freshwater sediments with different organic material contents*. *Anal. Bioanal. Chem.* 385, 1545-1551.
- BEATTIE K. A., RESSLER J., WIEGAND C., KRAUSE E., CODD G. A., STEINBERG C. E. W., PFLUGMACHER S., 2003. *Comparative effects and metabolism of two microcystins and nodularin in the brine shrimp Artemia salina*. *Aquat. Toxicol.* 62, 219-226.
- BEDNARSKA A., 2006. *Sinice i ich wpływ na roślino-żerne zwierzęta planktonowe*. *Wiad. Ekol.* 52, 59-87.
- BELL S. G., CODD G. A., 1994. *Cyanobacterial toxins and human health*. *Rev. Med. Microbiol.* 5, 256-264.
- BELL S. G., CODD G. A., 1996. *Detection, analysis and risk assessment of cyanobacterial toxins*. *Issues Environ. Sci. Technol.* 5, 109-122.
- BENNDORF J., HENNING M., 1989. *Daphnia and toxic blooms of Microcystis aeruginosa in Bautzen*.

- Reservoir (GDR). Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie 74, 233-248.
- BEST J. H., PFLUGMACHER S., WIEGAND C., EDDY F. B., METCALF J. S., CODD G. A., 2002. *Effects of enteric bacterial and cyanobacterial lipopolysaccharides, and of microcystin-LR, on glutathione S-transferase activities in zebra fish (Danio rerio)*. Aquat. Toxicol. 60, 223-231.
- BLOMQUIST P., PETTERSSON A., HYENSTRAND P., 1994. *Ammonium-nitrogen: a key regulatory factor causing dominance of non-nitrogen fixing cyanobacteria in aquatic systems*. Arch. Hydrobiol. 132, 141-164.
- BLASZCZYK A., KOBOS J., KRAKOWIAK A., TORUŃSKA A., MAZUR-MARZEC, H., PLIŃSKI M., 2009. *A comparison of phytoplankton communities among three Kartuzy la kes (northern Poland), XXVIII Międzynarodowa Konferencja Fykologiczna, Algal biodiversity in ecosystems of protected areas 21-24 V 2009, Szczecin-Cieszyno Drawskie*. Book of abstracts, 61-62.
- BOUA CHA N., MAATOUK I., 2004. *Microcystin-LR and nodularin induce intracellular glutathione alteration, reactive oxygen species production and lipid peroxidation in primary cultured rat hepatocytes*. Toxicol. Lett. 148, 53-63.
- BOUVY M., FALCAO D., MARINHO M., PAGANO M., MOURA A., 2000. *Occurrence of Cylindrospermopsis (cyanobacteria) in 39 Brazilian tropical reservoirs during the 1998 drought*. Aquat. Microb. Ecol. 23, 13-27.
- BRANCO C. W. C., SENNA P. A. C., 1994. *Factors influencing the development of Cylindrospermopsis raciborskii and Microcystis aeruginosa in the Paranoá reservoir, Brasilia, Brazil*. Arch. Hydrobiol. Suppl. Algol. Stud. 75, 85-96.
- BUCKA H., WILK-WOŹNIAK E., 1999. *Cyanobacteria responsible for planktic water blooms in reservoirs in southern Poland*. Algol. Stud. 94, 105-112.
- BURCHARDT L., 1998. *The response of Aphanizomenon flos-aquae (L.) Ralfs to changes of environmental conditions*. Ocean. Stud. 1, 9-14.
- BURCHARDT L., PAWLIK-SKOWROŃSKA B., 2005. *Zakwit sinic – konkurencja międzygatunkowa i środowiskowe zagrożenie*. Wiad. Bot. 49, 39-49.
- CAPONE D. G., BURNS J. A., MONTOJA J. P., SUBRAMANIAM A., MAHAFFEY C., GUNDERSON T., MICHAELS A. F., CARPENTER E. J., 2005. *Nitrogen fixation by Trichodesmium spp.: An important source of new nitrogen to the tropical and subtropical North Atlantic Ocean*. Global Biogeochem. Cycles, 19, 1-17.
- 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 of central China*. Toxicol. 26, 1213-1217.
- CARMICHAEL W. W., 1992. *Cyanobacteria secondary metabolites and the cyanotoxins*. J. Appl. Bacteriol. 72, 445-459.
- CHEN J., XIE P., 2005. *Tissue distributions and seasonal dynamics of the hepatotoxic microcystins-LR and -RR in two freshwater shrimps, Palaemon modestus and Macrobrachium nipponensis, from a large shallow, eutrophic lake of the subtropical China*. Toxicol. 45, 615-625.
- CHEN W., SONG L., PENG L., WAN N., ZHANG X., GAN N., 2008. *Reduction in microcystin concentrations in large and shallow lakes: Water and sediment-interface contributions*. Water Res. 42, 763-773.
- CHORUS I., BARTRAM J., 1999. *Toxic Cyanobacteria in Water: a Guide to Public Health Significance, Monitoring and Management*. E & FN Spon/Chapman & Hall, London.
- CODD G. A., OBEREMM A., TARCZYŃSKA M., 2004. *Recognition and awareness-raising of toxic cyanobacterial blooms and associated poisonings at Lake Barlevice, Poland in 1884, and recent cyanobacterial toxin analyses*. Ecohydrol. Hydrobiol. 4, 3-6.
- CODD G. A., MORRISON L. F., MORRISON L. F., METCALF J. S., 2005. *Cyanobacterial toxins: risk management for health protection*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 203, 264-272.
- COGLIANO V. J., BAAN R. A., STRAIF K., GROSSE Y., SECRETAN B., EL GHISSASSI F., 2008. *Use of mechanistic data in IARC evaluations*. Environ. Mol. Mutagen. 49, 100-9.
- COX P. A., BANACK S. A., MURCH S. J., 2003. *Biomagnification of cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease among Chamorro people of Guam*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100, 13380-13383.
- COX P. A., BANACK S. A., MURCH S. J., RASMUSSEN U., TIEN G., BIDIGARE R. R., METCALF J. S., MORRISON L. F., CODD G. A., BERGMAN B., 2005. *Diverse taxa of cyanobacteria produce β-N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102, 5074-5078.
- DEBLOIS C. P., ARANDA-RODRIGUEZ R., GIANI A., BIRD D. F., 2008. *Microcystin accumulation in liver and muscle of tilapia in two large Brazilian hydroelectric reservoirs*. Toxicol. 51, 435-448.
- DEMOTT W. R., MOXTER F., 1991. *Foraging cyanobacteria by copepods: responses to chemical defences and resource abundance*. Ecol. 72, 1820-1834.
- DIAS E., ANDRADE M., ALVERCA E., PEREIRA P., BATORÉU M. C. C., JORDAN P., SILVA M. J., 2009. *Comparative study of the cytotoxic effect of microcystin-LR on purified extracts from M. aeruginosa on a kidney cell line*. Toxicol. 53, 487-495.
- DIEHNELT C. W., PETERMAN S. M., BUDDÉ W. L., 2005. *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry and accurate m/z measurements of cyclic peptide cyanobacteria toxins*. Trends Anal. Chem. 24, 622-634.
- DITTMANN E., BÖRNER T., 2005. *Genetic contributions to the risk assessment of microcystin in the environment*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 203, 192-200.
- DOKULIL M. T., TEUBNER K., 2000. *Cyanobacterial dominance in lakes*. Hydrobiologia 438: 1-12.
- DOMINGOS P., RUBIM T. K., MOLICA R. J. R., AZEVEDO S. M. F. O., CARMICHAEL W. W., 1999. *First report of microcystin production by picoplanktonic cyanobacteria isolated from a northeast Brazilian drinking water supply*. Environ. Toxicol. 14, 31-35.
- Drinking-water Standards for New Zealand, 2005. Wellington, Ministry of Health.
- DRUART J. C., BRIAND J. F., 2002. *First record of Cylindrospermopsis raciborskii (Woloszynska) Senayya et Subba Raju (Cyanobacteria) in a lotic system in France*. Ann. Limnol. 38, 339-342.
- DUY T. N., LAM P. K., SHAW G. R., CONNELL D. W., 2000. *Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water*. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 163, 113-185.
- Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej, 2006. Dyrektywa 2006/7/WE z dnia 15 lutego 2006 roku Parlamentu Europejskiego i Rady dotycząca zarządzania jakością wody w kąpieliskach, uchylająca dyrektywę 76/160EWG.
- ENGSTRÖM-ÖST J., LEHTINIEMI M., GREEN S., KOZŁOWSKY-SUZUKI B., VIITASALO M., 2002. *Does cyanobacterial toxin accumulate in mysid shrimps and fish via copepods?* J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 276, 95-107.

- FALCONER I. R., 1993. *Algal Toxins in Seafood and Drinking Water*. Academic Press, London, 165–175.
- FALCONER I. R., 2005. *Cyanobacterial toxins of drinking water supplies*. CRC Press, London.
- FASTNER J., NEUMANN U., WIRSING B., WECKESSER J., WIEDNER C., NIXDORF B., CHORUS I., 1999. *Microcystins (hepatotoxic heptapeptides) in German fresh water bodies*. Environ. Toxicol. 14, 13–22.
- FASTNER J., RÜCKER J., STÜKER A., PREUSSEL K., NIXDORF B., CHORUS I., KÖHLER A., WIEDNER C., 2007. *Occurrence of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in northeast Germany*. Environ. Toxicol. 22, 26–32.
- FAWELL J. K., MITCHELL R. E., EVERETT D. J., HILL R. E., 1999. *The toxicity of cyanobacterial toxins in mouse. I: Microcystin-LR*. Hum. Exp. Toxicol. 18, 162–167.
- FERBER L. R., LEVINE S. N., LINI A., LIVINGSTON G. P., 2004. *Do cyanobacteria dominate in eutrophic lakes because they fix atmospheric nitrogen?* Freshw. Biol. 49, 690–708.
- FERRIERA F. M. B., SOLER J. M. F., FIDALGO M. L., FERNÁNDEZ-VILA P., 2001. *PSP toxins from Aphanizomenon flos-aquae (cyanobacteria) collected in the Crestuma-Lever reservoir (Douro river, northern Portugal)*. Toxicon 39, 737–761.
- FIGLIO M. F., GENUÁRIO D. B., DA SILVA C. S. P., SHISHIDO T. K., MORAES L. A. B., NETO R. C., SILVA-STEINICO M. E., 2009. *Microcystin production by a freshwater spring cyanobacterium of the genus Fischerella*. Toxicon 53, 754–761.
- FISCHER W. J., ALTHEIMER S., CATTORI V., MEIER P. J., DIETRICH D. R., HAGENBUCH B., 2005. *Organic anion transporting polypeptides expressed in liver and brain mediate uptake of microcystin*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 203, 257–263.
- FRANCIS G., 1878. *Poisonous Australian Lake*. Nature, 18, 11–12.
- FRANK C. A. P., 2002. *Microcystin-producing cyanobacteria in recreational waters in southwestern Germany*. Environ. Toxicol. 17, 361–366.
- GALICKA W., LESIAK T., RAKOWSKA B., 1998. *Dynamics of blue-green algae development in Sulejów dam reservoir*. Oceanol. Stud. 1, 21–26.
- GÉRARD C., POUILLAIN V., LANCE E., ACOU A., BRIENT L., CARPENTIE A., 2009. *Influence of toxic cyanobacteria on community structure and microcystin accumulation of freshwater mollusks*. Environ. Pollut. 157, 609–617.
- GOLOSOV S. D., IGNATIEVA N., 1999. *Hydrothermodynamic features of mass exchange across the sediment-water interface in shallow lakes*. Hydrobiologia 408/409: 153–157.
- GRABOWSKA M., 1998. *Blooms of Cyanophyta in Siemianówka dam reservoir in the first years after filling*. Oceanol. Stud. 1, 27–31.
- GRIFFITHS D. J., SAKER M. L., 2003. *The Palm Island mystery disease 20 years on: a review of research on the cyanotoxin cylindrospermopsin*. Environ. Toxicol. 18, 78–93.
- Guidelines for Canadian Drinking Water Quality Summary Table, 2008. FPT Committee on Drinking Water.
- HAJDU S., HÖGLANDER H., LARSSON U., 2007. *Phytoplankton vertical distributions and composition in Baltic Sea cyanobacterial blooms*. Harm. Algae. 6, 189–205.
- HALL S., CARSON S., 2006. *Determining the filtration rates of the freshwater mussel Elliptio complanata*. Fayette Co. High School.
- HANEY J. F., FORSYTH D. J., JAMES M. R., 1994. *Inhibition of zooplankton filtering rates by dissolved inhibitors produced by naturally occurring cyanobacteria*. Arch. Hydrobiol. 132, 1–13.
- HUMPAGE A. R., FALCONER I. R., 2003. *Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in male Swiss albino mice: determination of no observed adverse effect level for deriving a drinking water guideline value*. Environ. Toxicol. 18, 94–103.
- IBELINGS B. W., BRUNING K., DE JONGE J., WOLFSTEIN K., PIRES L. M. D., POSTMA J., BURGER T., 2005. *Distribution of microcystins in lake foodweb: No evidence for biomagnifications*. Microb. Ecol. 49, 487–500.
- IBELINGS B. W., CHORUS I., 2007. *Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater „seafood” and its consequences for public health: A review*. Environ. Pollut. 150, 177–192.
- ISO 20179, 2005. *Water Quality: Determination of microcystins – method using solid phase extraction (SPE) and high performance liquid chromatography (HPLC) with ultraviolet detection (UV)*. ISO, Genewa, Szwajcaria.
- JANSON S., CARPENTER E. J., BERGMAN B., 1994. *Fine structure and immunolocalisation of proteins in Aphanizomenon sp. From the Baltic Sea*. Eur. J. Phycol. 29, 203–211.
- JUNGMANN D., BENNDORF J., 1994. *Toxicity to Daphnia of a compound extracted from laboratory and natural Microcystis spp., and the role of microcystins*. Freshw. Biol. 32, 13–20.
- JUNGMANN D., LUDWICHOWSKI K. U., FALTIN V., BENNDORF J., 1996. *A field study to investigate environmental factors that could effect microcystin synthesis of a Microcystis population in the Bautzen reservoir*. Int. Rev. Gesamt. Hydrobiol. 81, 493–501.
- JURCZAK T., TARCZYŃSKA M., KARLSSON K., MERILUOTO J., 2004. *Characterization and diversity of cyanobacterial hepatotoxins (microcystins) in blooms from Polish freshwaters identified by liquid chromatography – electrospray ionization mass spectrometry*. Chromatografia 59, 571–578.
- JURCZAK T., TARCZYŃSKA M., IZDORCZYK K., MANKIEWICZ J., ZALEWSKI M., MERILUOTO J., 2005. *Elimination of microcystins by water treatment processes – examples from Sulejów Reservoir, Poland*. Water Res. 39, 2394–2406.
- KAGALOU I., PAPADIMITRIOU T., BACOPOULOS V., LEONARDOS I., 2008. *Assessment of microcystins in lake water and the omnivorous fish (Carassius gibelio, Bloch) in Lake Pamvotis (Greece) containing dense cyanobacterial bloom*. Environ. Monit. Assess. 137, 185–195.
- KANKAANPÄÄ H., SIPIÄ V. O., KUPARINEN J. S., OTT J. L., CARMICHAEL W. W., 2001. *Nodularin analyses and toxicity of a Nodularia spumigena (Nostocales, Cyanobacteria) water-bloom in the western Gulf of Finland, Baltic Sea, in August 1999*. Phycologia, 40, 268–274.
- KANKAANPÄÄ H., VUORINEN P. J., SIPIÄ V., KEINÄNEN M., 2002. *Acute effects and bioaccumulation of nodularin in sea trout (Salmo trutta m. trutta L.) exposed orally to Nodularia spumigena under laboratory conditions*. Aquat. Toxicol. 61, 155–168.
- KANKAANPÄÄ H., TURUNEN A. K., KARLSSON K., BYLUND G., MERILUOTO J., SIPIÄ V., 2005. *Heterogeneity of nodularin bioaccumulation in northern Baltic Sea flounders in 2002*. Chemosphere 59, 1091–1097.
- KANN J., 2008. *Microcystin Bioaccumulation in Klamath River Fish and Freshwater Mussel Tissue: Preliminary 2007 – Results*, rozprawa doktorska, Karuk Tribe of California. Orleans, California.
- 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.
- KARJALAINEN M., REINIKAINEN M., SPOOF L., MERILUOTO J. A. O., SIVONEN K., VIITASALO M., 2005. *Trophic transfer of cyanobacterial toxins from zooplankton to planktivores: consequences for pike larvae and mysid shrimps*. Environ. Toxicol. 20, 354–362.
- KARLSSON K., SIPIÄ V., KANKAANPÄÄ H., MERILUOTO J., 2003. *Mass spectrometric detection of nodularin and desmethylnodularin in mussels and flounders*. J. Chromatogr. B, 784, 24.
- KOBOS J., MAZUR-MARZEC H., DITTMER M., WITEK B., PLIŃSKI M., 2005. *Toxic cyanobacterial blooms in the Kociewskie lakes (Northern Poland)*. Ocean. Hydrobiol. Stud. 34, 77–84.
- KOKOCIŃSKI M., DZIGA D., SPOOF L., STEFANIAK K., JURCZAK T., MANKIEWICZ-BOCZEK J., MERILUOTO J., 2009. *First report of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in the shallow, eutrophic lakes of western Poland*. Chemosphere 74, 669–675.
- KOMÁREK J., KOMÁRKOVÁ J. 2006. *Diversity of Aphanizomenon-like cyanobacteria*. Czech Phycol. Olomouc 6, 1–32.
- KOMÁREK J., ZAPOMÉLOWÁ E., 2007. *Planctic morpho-species of the cyanobacterial genus Anabaena = subg. Dolichospermum – 1. part: coiled types*. Fottea, Olomouc 8, 1–31.
- KOMÁREK J., ZAPOMÉLOWÁ E., 2008. *Planctic morpho-species of the cyanobacterial genus Anabaena = subg. Dolichospermum – 2. Part: straight types*. Fottea, Olomouc 8, 1–14.
- KOMARZEWSKA K., GŁOGOWSKA B., 2005. *Blooming of Aphanizomenon flos-aquae in the urban pond*. Ocean. Hydrobiol. Stud. 33, 105–113.
- KONONEN K., 2001. *Eutrophication, harmful algal blooms and species diversity in phytoplankton communities: examples from the Baltic Sea*. Ambio 30, 184–189.
- KRÜGER T., MÖNCH B., OPPENHÄUSER S., LUCKAS B., 2009. *LC-MS/MS determination of the isomeric neurotoxins BMAA (β -N-methylamino-L-alanine) and DAB (2,4-diaminobutyric acid) in cyanobacteria and seeds of Cycas revolute and Lathyrus latifolius*. Toxicon 55, 547–557.
- KRZYŻANEK E., KASZA H., PAJĄK G., 1993. *The effect of water blooms caused by blue-green algae on the bottom macrofauna in the Goczałkowice Reservoir (southern Poland) in 1992*. Acta Hydrobiol. 35, 221–230.
- KUIPER-GOODMAN T., FALCONER I., FITZGERALD J., 1999. *Human health aspect*. [W:] *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.
- KURMAYER R., DITTMANN E., FASTNER J., CHORUS I., 2002. *Diversity of microcystin genes within population of the toxic cyanobacterium Microcystis spp. In Lake Wannsee (Berlin, Germany)* Microb. Ecol. 43, 107–118.
- KURMAYER R., KUTZENBERGER T., 2003. *Application of real-time PCR for quantification of microcystin genotypes in a population of the toxic cyanobacterium Microcystis sp.* Appl. Environ. Microbiol. 69, 6723–6730.
- KURMAYER R., CHRISTIANSEN G., FASTNER J., BÖRNER T., 2004. *Abundance of active and inactive microcystin genotypes in populations of the toxic cyanobacterium Planktothrix spp.* Environ. Microbiol. 6, 831–841.
- KURMAYER R., CHRISTIANSEN G. 2009. *The genetic basis of toxin production in Cyanobacteria*. Freshw. Rev. 2, 31–50.
- LA ROCHE J., BREITBARTH E., 2005. *Importance of the diazotrophs as a source of new nitrogen in the ocean*. J. Sea Res. 53, 67–91.
- LAAMANEN M. J., FORSSTRÖM L., SIVONEN K., 2002. *Diversity of Aphanizomenon flos-aquae (cyanobacterium) populations along a Baltic Sea salinity gradient*. Appl. Environ. Microbiol. 68, 5296–5303.
- LAMPERT W., 1981b. *Inhibitory and toxic effects of blue green – algae on Daphnia*. Int. Rev. Ges. Hydrobiol. 66, 285–298.
- LANCE E., BUGAJNY E., BORMANS M., GERARD C., 2008. *Consumption of toxic cyanobacteria by Potamopyrgus antipodarum (Gastropoda, Prosobranchia) and consequences on life traits and microcystin accumulation*. Harm. Algae 7, 464–472.
- LANKOFF A., BANASIK A., NOWAK M., 2002. *Protective effect of melatonin against nodularin-induced oxidative stress*. Arch. Toxicol. 76, 158–165.
- LEGNANI E., COPETTI D., OGGIONI A., TARTARI G., PALUMBO M. T., MORABITO G., 2005. *Planktothrix rubescens' seasonal dynamics and vertical distribution in Lake Pusiano (North Italy)*. J. Limnol. 64, 61–73.
- LEHTIMÄKI J., MOISANDER P., SIVONEN K., KONONEN K., 1997. *Growth, nitrogen fixation, and nodularin production by two Baltic Sea cyanobacteria*. Appl. Environ. Microbiol. 63, 1647–1656.
- MACKINTOSH C., BEATTIE K. A., KLUMPP S., COHEN P., CODD G. A., 1990. *Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants*. FEBS Lett. 264, 187–192.
- MAGALHES V. F., SOARES R. M., AZEVEDO S. M. F. O., 2001. *Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk*. Toxicon 39, 1077–1085.
- MAGALHÃES V. F., MARINHO M. M., DOMINGOS P., OLIVEIRA A. C., COSTA S. M., AZEVEDO L. O., AZEVEDO S. M. F. O., 2003. *Microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brasil, RJ)*. Toxicon 42, 289–295.
- MANKIEWICZ J., KOMÁRKOVÁ J., IZYDORCZYK K., JURCZAK T., TARCZYŃSKA M., ZALEWSKI M., 2005. *Hepatotoxic cyanobacterial blooms in the lakes of northern Poland*. Environ. Toxicol. 20, 499–506.
- MARTINS J. C., VASCONCELOS V. M., 2009. *Microcystin Dynamics in Aquatic Organisms*. J. Toxicol. Environ. Health 12, 65–82.
- MAZUR H., LEWANDOWSKA J., BŁASZCZYK A., KOT A., PLIŃSKI M., 2003. *Cyanobacterial toxins in fresh and brackish waters of Pomorskie Province (Northern Poland)*. Oceanol. Hydrobiol. Stud. 32, 15–26.
- MAZUR-MARZEC H., MERILUOTO J., PLIŃSKI M., SZAFRANEK J., 2006. *Characterization of nodularin variants in Nodularia spumigena from the Baltic Sea using liquid chromatography/mass spectrometry/mass spectrometry*. Rapid. Commun. Mass Spectrom. 20, 2023–2032.
- MAZUR-MARZEC H., KRĘŻEL A., KOBOS J., PLIŃSKI M., 2006. *Toxic Nodularia spumigena blooms in the coastal waters of the Gulf of Gdańsk: a ten-year survey*. Oceanologia 48, 255–273.
- MAZUR-MARZEC H., TYMIŃSKA A., SZAFRANEK J., PLIŃSKI M., 2007. *Accumulation of nodularin in sediments, mussels, and fish from the Gulf of Gdańsk, southern Baltic Sea*. Environ. Toxicol. 22, 101–111.
- MAZUR-MARZEC H., SPOOF L., KOBOS J., PLIŃSKI M., MERILUOTO J., 2008. *Cyanobacterial hepatotoxins, microcystins and nodularins, in fresh and brackish waters of the Pomeranian Province, northern Poland*. Oceanol. Hydrobiol. Stud. 37, 3–21.

- MERILUOTO J. A., NYGARD S. E., DAHLEM A. M., ERIKSON J. E., 1990. *Synthesis, organotropism and hepatocellular uptake of two tritium-labeled epimers of dihydro-microcystin-LR, a cyanobacterial peptide toxin analog*. *Toxicon*, 28, 1439-1446.
- MESSYASZ B., 1998. *Seasonal changes of phytoplankton dominated by cyanoprokaryota in Lake Łaskownickie*. *Oceanol. Stud.* 1, 33-37.
- MOHAMED Z. A., 2001. *Accumulation of cyanobacterial hepatotoxins by Daphnia in some Egyptian irrigation canals*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 50, 4-8.
- MOHAMED Z. A., CARMICHAEL W. W., HUSSEIN A. A., 2003. *Estimation of microcystin in the freshwater fish Oreochromis niloticus in an Egyptian fish farm containing a Microcystis bloom*. *Environ. Toxicol.* 18, 137-141.
- MOHAMED Z. A., EL-SHAROUNY H. M., ALI W. S., 2007. *Microcystin concentrations in the Nile River sediments and removal of microcystin and removal of microcystin-LR by sediments during batch experiments*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 52, 489-495.
- MORRIS R. J., WILLIAMS D. E., LUU H. A., HOLMES C. F. B., ANDERSEN R. J., CALVERT S. E., 2000. *The adsorption of microcystin-LR by natural clay particles*. *Toxicon*, 38, 303-308.
- MUR L. R., SKULBERG O. M., UTKILEN H., 1999. *Cyanobacteria in the environment*, [W:] Chapter 2, *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences*. CHORUS I., BARTAM J. (red.), Monitoring and Management, 15-39.
- NAMIKOSHI M., CHOI B. W., SAKAI R., SUN F., RINEHART K. L., CARMICHAEL W. W., EVANS W. R., CRUZ P., MUNRO M. H. G., BLUNT J. W., 1994. *New nodularins: A general method for structure assignment*. *J. Org. Chem.* 59, 2349-2357.
- OHTA T., SUEOKA E., IIDA N., KOMORI A., SUGANUMA M., NISHIWAKI R., TATEMATSU M., KIM S. J., CARMICHAEL W. W., FUJIKI H., 1994. *Nodularin, a potent inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A, is a new environmental carcinogen in male F344 rat liver*. *Cancer Res.* 54, 6402-6406.
- OZAWA K., YOKOYAMA A., ISHIKAWA K., KUMAGAI M., WATANABE M. F., PARK H. D., 2003. *Accumulation and depuration of microcystin produced by the cyanobacterium Microcystis in a freshwater snail*. *Limnol.* 4, 131-138.
- PADISAK J., 1992. *Seasonal succession of phytoplankton in the large shallow lake (Balaton, Hungary): A dynamic approach to ecological memory, its possible role and mechanisms*. *J. Ecol.* 80, 217-230.
- PADISAK J., 1997. *Cylindrospermopsis raciborskii (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology*. *Arch. Hydrobiol. (Suppl.)* 107, 563-593.
- PAERL H. W., 1996. *A comparison of cyanobacterial bloom dynamics in freshwater, estuarine and marine environments*. *Phycologia* 35, 25-35.
- PAWLIK-SKOWROŃSKA B., SKOWROŃSKI T., PIERSZEL 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.
- PEARSON L. A., NEILAN B. A., 2008. *The molecular genetics of cyanobacterial toxicity as a basis for monitoring water quality and public health risk*. *Curr. Opin. Biotechnol.* 19, 281-288.
- PEREIRA P., ONODERA H., ANDRINOLO D., FRANCA S., ARAÚJO F., LAGOS N., OSHIMA Y., 2000. *Paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium Aphanizomenon flos-aquae, isolated from Montargil reservoir, Portugal*. *Toxicon* 38, 1689-1702.
- PFLUGMACHER S., WIEGAND C., OBEREMM A., BEATTIE K. A., KRAUSE E., CODD G. A., STEINBERG C. E. W., 1998. *Identification of an enzymatically formed glutathione conjugate of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR: the first step of detoxication*. *Biochim. Biophys. Acta* 1425, 527-533.
- PLIŃSKI M., JÓZWIĄK T., 1996. *Dynamics of heterocystous cyanobacteria growth in the brackish waters*, [W:] *Harmful and Toxic Algal Blooms*. YASUMOTO T., OSHIMA Y., FUKUYO Y. (red.), Intergov. Oceanogr. Commission of UNESCO, 549-551.
- PREUSSEL K., STÜKEN A., WIEDNER C., CHORUS I., FASTNER J., 2006. *First report on cylindrospermopsin producing Aphanizomenon flos-aquae (Cyanobacteria) isolated from two German lake*. *Toxicon*, 47, 156-162.
- RAPALA J., ERKOMAA K., KUKKONEN J., SIVONEN K., LAHTI K., 2002. *Detection of microcystins with protein phosphatase inhibition assay, high-performance liquid chromatography-UV detection and enzyme-linked immunosorbent assay: Comparison of methods*. *Anal. Chim. Acta* 466, 213-231.
- RINEHART K. L., NAMIKOSHI M., CHOI B. W., 1994. *Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria)*. *J. Appl. Phycol.* 6, 159-176.
- RINTA-KANTO J. M., OUELLETTE A. J. A., BOYER G. L., TWISS M. R., BRIDGEMAN T. B., WILHELM S. W., 2005. *Quantification of toxic Microcystis spp. during the 2003 and 2004 blooms in Western Lake Erie using quantitative real-time PCR*. *Environ. Sci. Technol.* 3, 4198-4205.
- RIPPKA R., DERUELLES J., WATERBURY J. B., HERDMAN M., STANIER R. Y., 1979. *Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of Cyanobacteria*. *J. Gen. Microbiol.* 111, 1-61.
- ROMANS K. M., CARPENTER E. J., BERGMAN B., 1994. *Boycancy regulation in the colonial diazotrophic cyanobacterium Trichodesmium tenue: Ultrastructure and storage of carbohydrate, polyphosphate and nitrogen*. *J. Phycol.* 30, 935-942.
- ROSEN J., HELLENÄS K. E., 2008. *Determination of the neurotoxin BMAA (β -N-methylamino-L-alanine) in cycad seed and cyanobacteria by LC-MS/MS (liquid chromatography tandem mass spectrometry)*. *The Analyst* 133, 1785-1789.
- ROZMIAREK G., 1983. *Fitoplankton jeziora Miedwie i jego dopływów na tle charakterystyki zbiornika i jego zlewni - Phytoplankton of Miedwie Lake and its tributaries against the background of the characteristic of the water reservoir and its basin*. *Prace Komis. Biol., Pozn. Tow. Przyj. Nauk., Wyd. Mat.-Przyr.* 64, 128
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 16 października 2002 roku w sprawie wymagań, jakim powinna odpowiadać woda w kąpieliskach, Dz. U. 2002 Nr 183 poz. 1530.
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 19 listopada 2002 roku w sprawie wymagań dotyczących jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi.
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 roku w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi.
- RYBICKA D., 2005. *Potentially toxic blue-green algae (Cyanoprokaryota) in the Vistula Lagoon*. *Ocean. Hydrobiol. Stud. (Suppl.)* 34, 161-173.
- 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.

- SCHOBER E., WERNDL M., LAAKSO K., KORSCHINECK I., SIVONEN K., KURMAYER R., 2007. *Interlaboratory comparison of Taq Nuclease Assays for the quantification of the toxic cyanobacteria Microcystis sp.* J. Microbiol. Methods, 69, 122–128.
- SHAPIRO J., 1990. *Current beliefs regarding dominance of blue-greens: the case for the importance of CO₂ and pH.* Verh. Int. Ver. Limnol. 24: 38–54.
- SIPIÄ V. O., KANKAANPÄÄ H., FLINKMAN J., LAHTI K., MERILUOTO J. A. O., 2001a. *Time-dependent accumulation of cyanobacterial hepatotoxins in flounders (Platichthys flesus) and mussels (Mytilus edulis) from Northern Baltic Sea.* Environ. Toxicol. 16, 330–336.
- SIPIÄ V. O., KANKAANPÄÄ H. T., LAHTI K., CARMICHAEL W. W., MERILUOTO J. A. O., 2001b. *Detection of nodularin in flounders and cod from the Baltic Sea.* Environ. Toxicol. 16, 121–126.
- SIPIÄ V. O., KANKAANPÄÄ H., PFLUGMACHER S., FLINKMAN J., FUREY A., JAMES K. J., 2002a. *Bioaccumulation and detoxication of nodularin in tissues of flounder (Platichthys flesus), mussels (Mytilus edulis, Dreissera polymorpha) and clams (Macoma balthica) from the Northern Baltic Sea.* Ecotoxicol. Environ. Saf. 53, 305–311.
- SIPIÄ V. O., LAHTI K., KANKAANPÄÄ H. T., VUORINEN P. J., MERILUOTO J. A. O., 2002b. *Screening for cyanobacterial hepatotoxins in herring and salmon from the Baltic Sea.* Aquat. Ecosyst. Health Manage. 5, 451–456.
- SIPIÄ V. O., KARLSSON K. M., MERILUOTO J. A. O., KANKAANPÄÄ H. T., 2003. *Eiders (Somateria mollissima) obtain nodularin, a cyanobacterial hepatotoxin, in Baltic Sea food web.* Environ. Toxicol. Chem. 23, 1256–1260.
- SIVONEN K., 1990. *Effects of light, temperature, nitrate, orthophosphate, and bacteria on growth of and hepatotoxin production by Oscillatoria agardhii strains.* Appl. Environ. Microbiol. 56, 2658–2666.
- SIVONEN K., JONES G., 1999. *Cyanobacterial toxins. [W:] 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.
- SIVONEN K., BÖRNER T., 2008. *Bioactive compounds produced by cyanobacteria.* [W:] HERRERO A., FLORES E., (red.). The Cyanobacteria. *Molecular biology, genomics and evolution.* Caister Academic Press, Norfolk, UK., 159–197.
- SKULBERG O. M., UNDERDAL B., UTKILEN H., 1994. *Toxic waterblooms with cyanophytes in Norway – current knowledge.* Arch. Hydrobiol. Suppl. Algol. Stud. 75, 279–289.
- SMITH J. L., HANEY J. F., 2006. *Foodweb transfer, accumulation, and depuration of microcystins, a cyanobacterial toxin, in pumpkinseed sunfish (Lepomis gibbosus).* Toxicon 48, 580–589.
- SPOOF L., KARLSSON K., MERILUOTO J., 2001. *High-performance liquid chromatographic separation of microcystins and nodularin, cyanobacterial peptide toxins, on C₁₈ and amide C₁₆ sorbents.* J. Chromatogr. A, 909, 225–236.
- SPOOF L., VESTERKVIST P., LINDHOLM T., 2003. *Screening for cyanobacterial hepatotoxins, microcystins and nodularin in environmental water samples by reversed-phase liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry.* J. Chromatogr. A, 1020, 105–119.
- STAAL M., RABOUILLE S., STAL L. J., 2007. *On the role of oxygen for nitrogen fixation in the marine cyanobacterium Trichodesmium sp.* Environ. Microbiol. 9, 727–736.
- STAL L. J., ALBERTANO P., BERGMAN B., VON BRÖCKEL K., GALLON J. R., HAYES P. K., SIVONEN K., WALSBY A. E., 2003. *BASIC: Baltic Sea cyanobacteria. An investigation of the structure and dynamics of water blooms of cyanobacteria in the Baltic Sea – responses to a changing environment.* Cont. Shelf Res. 23, 1695–1714.
- STEFANIAK K., KOKOCIŃSKI M., 2005. *Occurrence of invasive Cyanobacteria species in polymictic lakes of the Wielkopolska Region (Western Poland).* Ocean. Hydrobiol. Stud. (Suppl.) 34, 137–148.
- STEFANIAK K., KOKOCIŃSKI M., MESSYASZ B., 2005. *Dynamics of Planktothrix agardhii (Gom.) Anagn. et. Kom. blooms in polymictic Lake Laskownickie and Grylewskie (Wielkopolska Region) Poland.* Ocean. Hydrobiol. Stud. (Suppl.) 34, 125–136.
- STEWART I., SCHLUTER P. J., SHAW G. R., 2006. *Cyanobacterial lipopolysaccharides and human health – a review.* Environ. Health, 24, 5–7.
- SUBRAMANIAM A., BROWN C. W., HOOD R. R., CARPENTER E. J., CAPONE D. G., 2001. *Detecting Trichodesmium blooms in SeaWiFS imagery.* Deep-Sea Res. II 49, 107–121.
- TENCALLA F. G., DIETRICH D. R., SCHLATTER C., 1994. *Toxicity of Microcystis aeruginosa peptide toxin to yearling rainbow trout (Oncorhynchus mykiss).* Aquat. Toxicol. 30, 215–224.
- TILLET D., DITTMANN E., ERHARD M., VON DÖHREN H., BÖRNER T., NEILAN B. A., 2000. *Structural organization of microcystin biosynthesis in Microcystis aeruginosa PCC7806: an integrated peptide-polyketide synthetase system.* Chem. Biol. 7, 753–764.
- TORUNSKA A., BOLALEK J., PLIŃSKI M., MAZUR-MARZEC H., 2008. *Biodegradation and sorption of nodularin (NOD) in fine-grained sediments.* Chemosphere 70, 2039–2046.
- Ustawa z dnia 7 czerwca 2001 roku o zbiorowym zaopatrzeniu w wodę i zbiorowym odprowadzaniu ścieków, Dz. U. 2001 Nr 72 poz. 747.
- VASCONCELOS V. M., 1999. *Cyanobacterial toxins in Portugal: effects on aquatic animals and risk for human health.* Braz. J. Med. Biol. Res. 32, 249–254.
- VEZIE C., RAPALA J., VAITOMAA J., SEITSONEN J., SIVONEN K., 2002. *Effect of nitrogen and phosphorus on growth of toxic and nontoxic Microcystins strains and on intracellular microcystin concentrations.* Microb. Ecol. 43, 443–454.
- VIA-ORDORICA L., FASTNER J., KURMAYER R., HISBERGUES M., DITTMANN E., KOMARÉK J., ERHARD M., CHORUS I., 2004. *Distribution of microcystin-producing and non-microcystin producing Microcystis sp. in European freshwater bodies: detection of microcystins and microcystin genes in individual colonies.* Syst. Appl. Microbiol. 27, 592–602.
- WACKLIN P., HOFFMANN L., KOMARÉK J., 2009. *Nomenclatural validation of the genetically revised cyanobacterial genus Dolichospermum (Ralfs ex Bornet et Flahaut) comb. nova.* Fottea 9, 59–64.
- WALSBY A. E., HAYES P. K., BOJE R., STAL L. J., 1997. *The selective advantage of buoyancy provided by gas vesicles for planktonic cyanobacteria in the Baltic Sea.* New Phytologist 136, 407–417.
- WALSBY A. E., 2005. *Stratification by cyanobacteria in lakes: a dynamic buoyancy model indicates size limitations met by Planktothrix rubescens filaments.* New Phytologist 168, 365–376.
- WASMUND N., 1997. *Occurrence of cyanobacterial blooms in the Baltic Sea in relation to environmental conditions.* Int. Revue ges. Hydrobiol. 82, 169–184.
- WATANABE M., 1996. *Isolation, cultivation and classification of bloom-forming Microcystis in Japan* [W:] Toxic Microcystis. WATANABE M. F., HARADA K.-I., CARMICHAEL W. W., FUJIKI H. (red.). Boca Raton, FL, 13–34.

- WATANABE M. F., PARK H. D., KONDO F., HARADA K., HAYASHI H., OKINO T., 1997. *Identification and estimation of microcystins in freshwater muscels*. *Nat. Toxins*, 5, 31-35.
- WELKER M., VON DÖHREN H., TAUSCHER H., STEINBERG C. E. W., ERHARD M., 2003. *Toxic Microcystis in shallow lake Müggelsee (Germany): dynamics, distribution, diversity*. *Arch. Hydrobiol.* 157, 227-248.
- WHO, 1998. *Guidelines for Drinking-water Quality. Second edition, Addendum to Volume 2, Health criteria and other supporting information*. Geneva
- WHO, 2003. *Guidelines for safe recreational water environments – Volume 1: Coastal and fresh water*. Geneva.
- WHO, 2008. *Guidelines for Drinking-water Quality, Third Edition, Incorporating the first and second addenda, Volume 1, Recommendations*. Geneva.
- WIEDNER C., CHORUS I., FASTNER J., 2001. *The waterbodies surveyed for cyanotoxins in Germany [W:] The Cyanotoxins*. CHORUS I. (red.). Springer, 6-21.
- WILLAME R., JURCZAK T., IFFLY J. F., KULL T., MERILUOTO J., HOFFMANN L., 2005. *Distribution of hepatotoxic cyanobacterial blooms in Belgium and Luxembourg*. *Hydrobiologia* 551, 99-117.
- WILLÉN T., MATTSSON R. 1997. *Water-blooming and toxin-producing cyanobacteria in Swedish fresh and brackish waters, 1981-1995*. *Hydrobiologia* 353, 181-192.
- YOKOYAMA A., PARK H. D., 2003. *Depuration kinetics and persistence of the cyanobacterial toxin microcystin-LR in the freshwater bivalve *Unio douglasiae**. *Environ. Toxicol.* 18, 61-67.
- YOSHIDA T., TAKASHIMA Y., TOMARU Y., SHIRAI Y., TAKAO Y., HIROISHI S., NAGASAKI K., 2006. *Isolation and characterisation of a cyanophage infecting the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa**. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 1239-1247.
- YOSHIDA M., YOSHIDA T., TAKASHIMA Y., HOSODA N., HIROISHI S., 2007. *Dynamics of microcystin-producing and non-microcystin-producing *Microcystis* population is correlated with nitrate concentration in Japanese lake*. *FEMS Microbiol. Lett.* 266, 49-53.
- YOSHIDA M., YOSHIDA T., KASHIMA A., TAKASHIMA Y., HOSODA N., NAGASAKI K., HIROISHI S., 2008. *Ecological dynamics of the toxic bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* and its cyanophage in freshwater*. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 3269-3273.
- ZAGAJEWSKI P., GOŁDYN R., FABIŚ M., 2007. *Water blooms and their toxicity in public swimming areas of lakes in the Poznań district*. *Ocean. Hydrobiol. Stud.* 36 (Suppl. 1), 181-187.
- ZHANG H.-J., ZHANG J.-Y., HONG Y., CHEN Y.-X., 2007. *Evaluation of organ distribution of microcystins in the freshwater phytoplanktivorous fish *Hypophthalmichthys molitrix**. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 8, 116-120.
- ZHANG D., XIE P., LIU Y., QIU T., 2009. *Transfer, distribution and bioaccumulation of microcystins in the aquatic food web in Lake Taihu, China, with potential risks to human health*. *Sci. Environ.* 407, 2191-2199.
- ZIEBEK E., 1998. *Water temperature of the littoral zone during the domination of the blue-green algae *Planktothrix agardhii* and *Limnothrix redeckei* in the composition of phytoplankton in the polytrophic Lake Jeziorak Mały*. *Oceanol. Stud.* 1, 53-59.
- ZNACHOR P., JURCZAK T., KOMÁRKOWA J., JEZBEROVÁ J., MANKIEWICZ J., KAŠTOVSKÁ K., ZAPOMĚLOVÁ E., 2006. *Summer changes in cyanobacterial bloom composition and microcystin concentration in eutrophic Czech reservoirs*. *Environ. Toxicol.* 21, 236-243.