

GRAŻYNA KOWALEWSKA

TOKSYCZNE DZIAŁANIE MIEDZI NA FITOPLANKTON
W ŚRODOWISKU MORSKIM

TOXIC INFLUENCE OF COPPER ON PHYTOPLANKTON IN THE MARINE ENVIRONMENT

Metale mogą kontrolować wzrost glonów, działając jako toksykanty albo mikroelementy. Miedź pełni obie te role w stosunku do fitoplanktonu, gdyż z jednej strony jest pierwiastkiem niezbędnym do jego życia i prawidłowego funkcjonowania, podobnie jak i innych żywych organizmów, jednak już przy stężeniach rzędu $1 \mu\text{g dm}^{-3}$ bywa toksyczna [41].

W morzu pierwiastek ten występuje w ilościach dostatecznych do wzrostu glonów, jako że jest to jeden z najbardziej rozpowszechnionych pierwiastków śladowych w tym środowisku. Przeciętne stężenie miedzi w wodzie morskiej wynosi 10^{-8} — $10^{-7} \mu\text{g dm}^{-3}$ lecz w strefach przybrzeżnych, które otrzymują duże zrzuty ścieków komunalnych lub przemysłowych oraz u ujścia rzek, może być ono wyższe 2—100 razy [34]. W środowisku morskim miedź występuje przeważnie na stopniu utlenienia +2, jedynie w obszarach beztlenowych spotyka się formy miedzi (I), najczęściej związanej w postaci kompleksów siarczkowych. Na całkowite stężenie miedzi w wodzie morskiej składa się suma stężeń wszystkich form, które występują w tym środowisku, tj. formy jonowej (Cu^{2+}), kompleksów nieorganicznych i organicznych oraz form koloidalnych.

Skład fitoplanktonu występującego w środowisku morskim jest zróżnicowany w zależności od akwenu, sezonu i głębokości. Główną biomasę w wodach oceanicznych stanowią okrzemki i bruzdnice. W wodach przybrzeżnych i słonawych natomiast mogą występować także gatunki pochodzące z wód lądowych [35].

Dokładne poznanie problemu oddziaływania miedzi na fitoplankton jest istotne dla zrozumienia funkcjonowania ekosystemów morskich. Szczególnie intryguje badaczy zagadnienie zakwitów glonów, które to zjawisko łączone jest z geochemią miedzi.

Efekty fizjologiczne

Obserwowane efekty fizjologiczne w glonach jednokomórkowych, wywołane podwyższonym stężeniem miedzi w środowisku, zależą od wrażliwości danego gatunku, ale także od indywidualnej odporności komórek. Efekty te są w niektórych przypadkach natychmiastowe, często odwracalne. Zwracano również uwagę na fakt, że szkodliwy wpływ miedzi występuje tylko na świetle [14, 41], co dowodzi oddziaływania na proces fotosyntezy.

Większość badań na temat toksycznego działania miedzi na glony jednokomórkowe dotyczyła wzrostu w funkcji aktywności metalu. Wpływ ten jest różny, stąd nie można wyciągnąć ogólnych wniosków. Według Morel i Morel [30] występują tutaj trzy typy oddziaływań:

- a) wydłużenie fazy spoczynkowej (lag), po czym często hodowla rośnie z taką szybkością jak kontrola
- b) zmniejszenie szybkości wzrostu
- c) zmniejszenie ilości komórek w 1 cm^3 hodowli w wyniku zmniejszenia szybkości podziału, przy znacznym wzroście wielkości komórek

Drugim po wzroście, najczęściej obserwowanym parametrem jest różnie mierzona szybkość fotosyntezy, np. Steeman-Nielsen i Wiium-Anderson [42] stwierdzili u okrzemki *Nitzschia palea* i zielenicy *Chlorella pyrenoidosa* zmniejszenie ilości wiązanego ^{14}C . W przypadku okrzemki *Asterionella japonica* wykryto zwiększenie, pod wpływem miedzi, ilości chlorofilu w przeliczeniu na jedną komórkę [14]. Stwierdzono również działanie obniżające szybkość oddychania [33].

Niezmiernie ciekawą reakcję zaobserwowano u *Gonyaulax tamarensis* [2]. Odpowiedzią tej bruzdnicy na podwyższone stężenie miedzi jest gwałtowna utrata ruchliwości. Komórki takie nie dzielą się ani nie rosną, jednak mogą odżywać po ustąpieniu stresu.

Niewiele wiadomo na temat inhibitowania przez miedź procesu pobierania biogenów. Stosunkowo najlepiej zbadany jest wpływ na pobieranie krzemu przez okrzemki [31]. Nie stwierdzono wpływu miedzi na pobieranie azotanów i fosforanów (30), zaobserwowano natomiast wolniejsze pobieranie siarki [14]. Nie można przy tym wykluczyć, że wpływ miedzi na pobieranie biogenów jest pośredni, przez inhibicję pobierania i asymilacji innych podstawowych pierwiastków śladowych. Na podstawie badań okrzemki *Asterionella japonica* [14] autorzy wyjaśniają ten efekt tym, że miedź wiąże się z grupami siarkowodorowymi na błonie komórkowej, zmieniając normalną funkcję błony i obniżając tym samym pobieranie kwasu krzemowego oraz syntezę aminokwasów, co w dalszej kolejności obniża szybkość podziału komórek.

Wpływ miedzi na produkcję pierwotną (określaną metodą ^{14}C) i ładunek energii (EC_A) badano w planktonie pobranym z otwartego morza, hodowanym następnie w zbiornikach o stężeniu miedzi do 5 g dm^{-3} [25]. Wartość EC_A może się zmieniać od 0.0 (gdy w komórce występuje tylko AMP) do 1.0 (tylko ATP). Wartości powyżej 0.7 reprezentują stosunkowo zdrową populację, wartości niższe — wskazują na stres. W przeprowadzonych doświadczeniach, pomimo nawet znacznego spadku

w pobieraniu ^{14}C , przy stężeniu miedzi $1 \mu\text{g dm}^{-3}$, wartość EC_A nie wykazała zmian, co świadczyło o tym, że co najmniej przez czas trwania eksperymentu (6 godzin) populacja dawała sobie radę w tych warunkach.

Wpływ na populacje

Gächter i in. [18] przedstawili następujące wyjaśnienie obserwowanego wydłużenia fazy spoczynkowej (lag) we wzroście glonów jednokomórkowych, pod wpływem miedzi. Przy dostatecznie niskich stężeniach wrażliwość w populacji jest zróżnicowana, więc giną lub są inhibitowane tylko osobniki wrażliwe. Te komórki, które przetrwają będą wykazywały normalny wzrost i gdy namnożą się do ilości równej wstępnemu inoculum, dalej wzrost całej hodowli wygląda na normalny. Wniosek taki sugeruje możliwość adaptacji gatunku do środowiska o podwyższonym stężeniu miedzi.

Problem tej adaptacji nie został dotychczas dostatecznie wyjaśniony, chociaż w warunkach laboratoryjnych wyhodowano w obrębie gatunku szczepy bardziej lub mniej odporne na działanie miedzi [6]. Morel i Morel [30] uważają, że adaptacja następuje, jeżeli jakiś gatunek jest hodowany w środowisku o powoli rosnącym stężeniu metalu. Inni autorzy, prowadząc badania środowiskowe, nie zauważyli jednak takiego przystosowania, np. Fisher i Froot [13] postawili sobie za cel badań sprawdzenie czy szczepy okrzemek, izolowane z oligotroficznych wód morskich, są bardziej odporne na wpływ metali niż izolowane z wód eutroficznych, zanieczyszczonych metalami. Autorzy ci nie stwierdzili żadnego specyficznego mechanizmu adaptacji, charakterystycznego dla któregoś środowiska, na przykładzie gatunków *Skeletonema costatum*, *Nitzschia closterium* i *Chaetoceros compressum*.

O ile zagadnienie adaptacji w obrębie tego samego gatunku nie zostało w pełni wyjaśnione, to z całą pewnością poszczególne gatunki różnią się znacznie odpornością na toksyczne działanie miedzi. Na ogół najbardziej odporne są zieleńce, które nawet przy niskich stężeniach tego pierwiastka są stymulowane we wzroście, a hamowane dopiero przy wysokich stężeniach [43]. Z kolei najbardziej wrażliwe są sinice, których zakwity w jeziorach były tłumione przy pomocy CuSO_4 , już na początku tego stulecia [29]. Sposób ten próbowano zastosować w celu zapobieżenia zakwitom bruzdnic morskich, znanym pod nazwą „red tides”, ale z małym powodzeniem [38]. Natomiast bruzdnica *Gonyaulax tamarensis* jest szczególnie wrażliwa na działanie miedzi [14], podobnie jak *Prorocentrum minimum* [20]. Również okrzemki wykazują zróżnicowaną wrażliwość. Wystarczy porównać wrażliwą — *Skeletonema costatum* [20] i gatunki z rodzaju *Amphora* i *Navicula* porastające powłoki malarskie statków, zawierające specjalne miedziane przeciwporostowe preparaty [7], lecz generalnie okrzemki są mało odporne na wpływ miedzi.

Interesującej obserwacji dokonali Sanders i in. [39] w regularnie badanej przez nich Vineyard Sound, gdzie przypadkowe dodanie miedzi w ilościach $25\text{—}40 \mu\text{m dm}^{-3}$ spowodowało zakwit okrzemki *Amphora paludosa*, kosztem zwykle

dominujących w tym obszarze, innych gatunków glonów. Morel i Morel [30] prowadzili doświadczenia nad wpływem miedzi na skład fitoplanktonu, w plastikowych zbiornikach wypełnionych wodą morską. Doświadczenia te wykazały, że główną odpowiedzią naturalnej populacji na dodatek miedzi była zmiana dominujących gatunków, zachodząca już w ciągu paru dni. Do podobnego wniosku, że jednym z ważnych czynników odpowiedzialnych za zmiany w składzie gatunkowym planktonu w danym akwenie jest stężenie miedzi, doszli także autorzy pracy omawiającej wyniki badań fitoplanktonu z wód słonawych cieśniny Kattegat, łączącej Bałtyk z Morzem Północnym [20].

Współczesne prace zatem potwierdzają spostrzeżenie Steeman-Nielsen i Wium-Anderson [42], którzy jako pierwsi zauważyli, że występujące w przyrodzie zmiany sezonowe w stężeniu miedzi mogą mieć wpływ na obserwowaną sukcesję fitoplanktonu.

Zależność toksyczności od formy metalu

Steeman-Nielsen i Wium-Anderson [41] jako jedni z pierwszych stwierdzili, że miedź w formie jonowej jest bardzo toksyczna dla fotosyntezy i wzrostu glonów jednokomórkowych, już w naturalnych stężeniach spotykanych w wodach jezior. Późniejsze prace [8,22] dowodzą, że toksyczność miedzi w stosunku do glonów jest determinowana przez stężenie wolnego jonu, a zależność między szybkością wzrostu (podwojenie d^{-1}), a ujemnym logarytmem z liczonego stężenia wolnego jonu (Cu^{2+}) jest liniowa. Barber [3] i Huntsman [22] hodowali okrzemkę *Chaetoceros socialis* w wodzie oceanicznej, pobieranej z głębokości 800—1000 m i stwierdzili wyraźną korelację między szybkością wzrostu i liczonymi stężeniami Cu^{2+} . Stężenie wolnych jonów w tych warunkach może być bowiem jedynie obliczone przy znanym składzie roztworu. Pomiar aktywności jest niemożliwy w tym przypadku, ponieważ elektrody jonoselektywne nie działają w środowisku o tak wysokiej sile jonowej jaka odpowiada wodzie morskiej.

Wprawdzie również i w pracach z ostatnich lat możemy znaleźć potwierdzenie tego wniosku, że toksyczne efekty wywierane przez miedź są liniową funkcją jej aktywności w formie jonowej [22, 44], równocześnie jednak pojawiają się prace wskazujące na złożoność tego problemu. Wniosek, że tylko jonowa miedź (Cu^{2+}) jest toksyczna dla glonów, jest zbyt dużym uproszczeniem. Można przyjąć, że wolny jon Cu^{2+} i jego labilne kompleksy są bardziej toksyczne niż silne organiczne kompleksy, ale należy też pamiętać o tym, że od tej reguły są wyjątki.

W warunkach laboratoryjnych już od dawna stosowano dodatek do pożywki takich związków chelatujących jak kwas cytrynowy [41], EDTA, czy NTA [10, 11], znoszących toksyczne działanie miedzi. Poza tym stosuje się związki żelaza, które w roztworze alkalicznym tworzą ujemnie naładowane koloidy, zdolne do adsorbowania kationów lub dodatnio naładowanych kompleksów.

W środowisku naturalnym silnie kompleksujące miedź ligandy organiczne odgrywają równie ważną rolę jak w warunkach laboratoryjnych. Dowodów na to do-

starczył szereg prac [4, 9, 13, 27, 38, 39, 41]. Johnston [23, 24] wykazał, że woda morska, która nie wspomagała wzrostu fitoplanktonu, traciła te inhibujące właściwości po dodaniu do niej śladowych ilości związków chelatujących. Autor tych prac stwierdził, że dostarczanie związków chelatujących często było najważniejszym aspektem odżywiania fitoplanktonu w wodzie morskiej. Davey i in. [8] badali toksyczność miedzi względem okrzemki *Thalassiosira pseudonana*, hodowanej w sztucznej wodzie morskiej. W zależności od zastosowanego związku chelatującego, te same ilości miedzi wywoływały różny efekt. Na tej podstawie wyciągnięto wniosek, że użyte związki chelatujące (EDTA, histydyna) regulują wzrost glonów. Z badań bruzdnicy *Gonyaulax tamarensis* [2] wynikało, że jest ona szczególnie wrażliwa na toksyczny wpływ miedzi, tak że nie mogłaby egzystować w wodach naturalnych, gdyby całkowita ilość miedzi tam występująca istniała w postaci nieorganicznych kompleksów, podobnie jak w warunkach laboratoryjnych. Jednak gatunek ten może z powodzeniem współzawodniczyć z innymi glonami w wodach przybrzeżnych, gdzie nieraz obserwuje się jego zakwity, spowodowane zapewne zrzutami związków organicznych przez rzeki lub dostawaniem się ich z osadów dennych w drodze upwellingu.

Florence i in. [15] podjęli badania zależności między labilną miedzią, oznaczaną różnymi fizyko-chemicznymi metodami, a toksyczną frakcją miedzi, której udział określono pośrednio, przez wpływ wywierany na glony. Przebadano szereg czynników kompleksujących miedź w celu zidentyfikowania tych, które zmniejszają lub zwiększają toksyczność. Prawie wszystkie z przebadanych ligandów, które zostały tak dobrane, aby uwzględnić rodzaje ligandów występujące w środowisku naturalnym, zmniejszały toksyczność miedzi i obniżały pobieranie tego pierwiastka przez glony. Wyjątkiem były tylko dwa kwasy: linolowy i alginowy. Kwas linolowy, nienasycony kwas tłuszczowy, jest typowym kwasem występującym w lipidach glonów. Kwas alginowy jest produktem wytwarzanym przez makroglony, czynnikiem kompleksującym metale ciężkie w wodzie morskiej. Kompleksy miedzi z tymi kwasami wywierały silniejszy efekt toksyczny niż sama miedź, już przy stężeniach tak niskich, że autorzy tłumaczą to katalizą pewnych szkodliwych, wewnątrzkomórkowych reakcji, jak np. tworzenie rodników hydroksylowych (OH^\cdot). Jest to tak zwana reakcja Fentona, zwykle katalizowana przez żelazo, ale i związki miedzi mogą być jej aktywnymi katalizatorami.

Uważa się, że poważna część miedzi w wodach naturalnych związana jest w formie kompleksów z organicznymi ligandami, którymi mogą być np. związki humusowe [28]. Poza tym w warunkach eutroficznych, miedź może się strącać z roztworu w formie koloidu, również nie oddziałującej na glony [28]. Działanie detoksyfikujące tych czynników jest zależne od stałej trwałości tworzonego kompleksu, jak i biologicznej roli czynnika kompleksującego.

W podsumowaniu można stwierdzić, że toksyczność miedzi w stosunku do danego organizmu zależy od całkowitego stężenia miedzi, od rozmieszczenia innych metali oraz wywieranych przez nie efektów biologicznych, a także od stężenia i natury ligandów obecnych w roztworze. Zrozumiałe jest zatem, że niemożliwe jest odniesienie np. inhibicji fotosyntezy do absolutnego stężenia jonowej miedzi. Stąd,

między innymi, wynikają różnice w określeniu granicy toksyczności tego metalu w stosunku do glonów. Manahan i Smith [26] badali zapotrzebowanie na miedź *Chlorelli* i *Oocystis*, i stwierdzili, że wzrost tych glonów jest optymalny przy stężeniach $1-2 \cdot 10^{-16}$ M jonowej miedzi (II) ($64-128 \cdot 10^{-10}$ $\mu\text{g dm}^{-3}$). Na tej podstawie wnioskowano, że miedź staje się toksyczna dla fitoplanktonu przy stężeniach od 10^{-15} M do 10^{-10} M ($64 \cdot 10^{-9}$ $\mu\text{g dm}^{-3}$ do $64 \cdot 10^{-4}$ $\mu\text{g dm}^{-3}$) (18). Natomiast Sunda i Guillard [44] oraz Anderson i Morel [2] uważają, że stężenia od 10^{-11} do $10^{-8.5}$ M ($64 \cdot 10^{-5}$ do $64 \cdot 10^{-2.5}$ $\mu\text{g dm}^{-3}$) są toksyczne tylko dla bardziej wrażliwych gatunków.

Czynniki kompleksujące wydzielane przez glony

Mechanizmy tolerancji miedzi przez fitoplankton można zaliczyć do dwu kategorii [21]:

1 — Niedopuszczania miedzi do wnętrza komórki

- a) wydzielanie substancji wiążących miedź w roztworze
- b) wydzielanie substancji wiążących miedź przez organizm żyjący w symbiozie z danym organizmem
- c) izolowanie miedzi w ścianie komórkowej
- d) zmiana przepuszczalności błony komórkowej

2 — Zmian wewnętrznych

a) odkładanie miedzi w komórce, np. gatunki z rodzaju *Amphora* i *Navicula* odkładają miedź wewnątrz komórki w postaci nieregularnych ziaren fosforanu miedzi [7]

b) zmiany w produktach metabolizmu

W przypadku mechanizmów pierwszej grupy komórka gatunku tolerującego zawiera mniej miedzi niż nie tolerującego, w przypadku wystąpienia mechanizmu drugiej grupy — jest odwrotnie. Najczęściej w badaniach zajmowano się mechanizmami zaliczanymi do pierwszej grupy, polegającymi na wydzielaniu przez glony związków kompleksujących miedź. Zdolności glonów do wydzielania takich związków udowodniono już dosyć dawno. Fogg i Westlake [16] wykazali, że sinica *Anabena cylindrica* wydziela związki kompleksujące miedź. Gnassia-Barelli i in. [19] stwierdzili uwalnianie organicznych związków, które mogą kompleksować miedź, przez *Crisosphaera elongate*. Również Fisher i Fabris [12] wykazali, że niektóre gatunki glonów potrafią wydzielać organiczne związki, które efektywnie kompleksują miedź w roztworze.

Jednak tylko w paru przypadkach starano się zidentyfikować wydzielane związki. Fogg i Westlake [16] stwierdzili, że sinica *Anabena cylindrica* wydziela polipeptydy. McKnight i Morel [28] uważają, że kwasy hydroksamowe mogą być jedyne przykłady silnie kompleksujących czynników, o których wiadomo, że są uwalniane przez glony (1,40), jak np. schizokinen wytwarzany przez gatunki *Anabena*. Murphy [32] wykrył tego typu związki w kulturach *Anabena flos-aquae* oraz w próbach wody morskiej, podczas zakwitów *Anabena* spp.. Sinic nie można generalizować, jeżeli chodzi o ich własności wydzielania, gdyż są one różne. Możliwe

jest, że silne czynniki kompleksujące miedź, wytwarzane przez niektóre sinice są to hydroksamowe siderofory [45]. Po żelazie właśnie miedź bowiem reaguje najsilniej z sideroforami. Stała trwałości $K_{Cu} = 10^9$ jest dostatecznie duża aby tworzyły się kompleksy, nawet w wodzie oceanicznej. Tak więc siderofory mogą odgrywać także inną rolę poza transportem żelaza, mogą wiązać inne metale, w tym głównie miedź [30].

Zdolności do wydzielania związków organicznych, mogących kompleksować miedź, mogą różnić się znacznie nie tylko między gatunkami, ale także w obrębie jednego gatunku. Jeżeli w hodowli odpowiadają na wyższe stężenie miedzi, wydzielając związki organiczne, trwa to pewien czas zanim stężenie wolnej miedzi w medium obniży się do optymalnego poziomu [28]. Florence i in. [15] stwierdzili, że *Nitzschia* wytwarza eksudat kompleksujący miedź, nie w sposób ciągły, lecz tylko w odpowiedzi na obecność jonów miedziowych. Ilość eksudatu rośnie ze stężeniem miedzi, ale nigdy nie występuje w nadmiarze. Jest to uzasadnione, gdyż wytwarzanie związku „ochronnego” bez potrzeby byłoby stratą energii. Fisher i Fabris [12] badali trzy gatunki okrzemek: *Skeletonema costatum*, *Asterionella japonica* i *Nitzschia closterium*. Stwierdzili, że eksudaty tych glonów różnią się składem dla komórek w fazie wzrostu logarytmicznego i w stacjonarnej fazie wzrostu. Miedź kompleksują tylko związki wydzielane przez komórki w fazie wzrostu logarytmicznego.

Wielu autorów uważa, że eksudaty te pełnią istotną rolę, wiążąc trwale miedź i tym samym zmniejszając ilość miedzi pobieraną przez komórki [12]. Według Sundy i Guillarda [44] oraz Anderson i Morela [2] kompleksowanie miedzi przez metabolity obniża stężenie jej do aktywności 10^{-11} — $10^{-8.5}$ M ($64 \cdot 10^{-5}$ — $64 \cdot 10^{-2.5}$ $\mu\text{g dm}^{-3}$), toksycznych tylko dla bardziej wrażliwych gatunków. W najnowszej literaturze jednak nie ma wielu potwierdzeń istotnej roli tych czynników w detoksyfikowaniu miedzi w środowisku naturalnym. Według Swallowe'a i in. [45] tylko jeden spośród 8 przebadanych przez nich gatunków glonów — zielenica *Gloeocystis gigas* — wytwarzał związki, które zmniejszały znacznie aktywność jonu miedziowego, przy stężeniu miedzi 10^{-6} M ($64 \text{ } \mu\text{g dm}^{-3}$). Rozwinięciem tej pracy były badania McKnight i Morel [28], w których sprawdzano reakcję 13 gatunków glonów eukariotycznych, w tym 7 zielenic i 3 okrzemek oraz 7 — prokariotycznych, na działanie miedzi. Z badań tych wynikało, że większość kultur glonów eukariotycznych w fazie stacjonarnej zawiera pozakomórkowe słabe kwasy organiczne, które kompleksują miedź, w stężeniach mikromolarnych. Sinice wytwarzają słabe organiczne kwasy, podobne do kwasów glonów eukariotycznych, a także czynniki silnie kompleksujące miedź ($c_K \geq 10^{7.5}$), podczas późnej fazy wzrostu kultury. Czynniki kompleksujące miedź, wytwarzane przez glony eukariotyczne oraz przez sinice, mogą dominować wśród form rozpuszczalnych miedzi, w jeziorach słodkowodnych podczas zakwitów glonów. Swallow i in. [45] spodziewają się, że eksudaty glonów morskich są podobne do eksudatów glonów słodkowodnych. Zdolność wydzielania czynników kompleksujących zależy od zawartości w środowisku materii organicznej, zdolnej do kompleksowania metali. Tak więc komórki z wód estuariowych, bogatych w materię organiczną ze zrzutu rzek, są chro-

nione przed wyższymi stężeniami miedzi i nie potrzebują wydzielać kompleksujących związków [13]. Wyniki Swallowa i in. [45] sugerują, że czynniki kompleksujące w stężeniach większych niż mikromolarne, są wydzielane tylko przez niektóre glony eukariotyczne. Wydaje się, że w środowisku detoksykująca rola tych związków może być zauważona tylko wtedy, gdy związki te są wytwarzane podczas zakwitu, który pozwala z kolei, na wzrost następnych populacji [2, 44].

Pewne jest natomiast, że ważną rolę ekologiczną w środowisku morskim mogą odgrywać eksudaty makroglonów. Rola ta może być dwojaka. Mogą one zwiększać lub zmniejszać dostępność miedzi dla innych gatunków glonów, ale i wydzielana substancja może wywierać toksyczne działanie [43].

Jak wynika z niektórych badań, detoksyfikujących rola związków wydzielanych przez glony może polegać nie na niedopuszczeniu miedzi do komórki przez wiązanie jej w trwałe i nieprzyswajalny kompleks, lecz na tym, że związki te mogą usuwać nadmiar miedzi, która dostała się do komórki. Badania *Chlorella vulgaris* [17] i makroglonu *Ectocarpus siliculosus* [21] wykazały, że wydalanie miedzi przez szczepy tych gatunków tolerujące miedź jest odpowiedzialne za ich wzmożoną tolerancję. Autorzy tych prac uważają, że trwanie fazy spoczynkowej (lag) jest determinowane przez wydzielanie związków kompleksujących miedź. Po początkowym poborze miedź jest tracona przez komórkę podczas fazy wzrostu logarytmicznego. Akumulacja pozakomórkowych czynników kompleksujących w kulturach wywołuje uwalnianie się miedzi z komórki.

Na zakończenie tego przeglądu warto przytoczyć uwagę z pracy Morel i Morel [30], którzy stwierdzili, że czynniki kompleksujące nie mają szczególnego powinowactwa do miedzi, ani też nie są wydzielane w odpowiedzi na jej toksyczne działanie, jednak obecność takich czynników może mieć wpływ na chemię miedzi, a tym samym na wywierane przez nią biologiczne efekty. Stwierdzenie to jest bardzo ogólne, jednak nie można oprzeć się wrażeniu, że jedyne pewne na obecnym etapie wiedzy.

Zakończenie

Pomimo licznych prac na temat oddziaływań między miedzią a fitoplanktonem, granice stężeń, zarówno górna — toksyczności jak i dolna — stymulowania wzrostu, pozostają mgliste. Sam pomiar tak niskich stężeń metalu w roztworze jest już dostatecznie trudny, a co dopiero gdy chodzi o wyznaczenie udziału poszczególnych frakcji, związanych w różnej formie. Szczególnie dużo problemów nastęrcza środowisko wody morskiej, w którym stężenia miedzi są na ogół dużo niższe niż w wodach śródlądowych, przy wysokiej wartości siły jonowej. Jedną z głównych przyczyn trudności w tych oznaczeniach jest kontaminacja [5] zarówno metalem jak i związkami organicznymi, już na etapie poboru prób. W ciągu ostatnich lat oceanografowie chemiczni przyjęli „czyste” metody pobierania i techniki analityczne [5]. Zastosowanie nowych technik w badaniu środowiska morskiego doprowadziło do tego, że wyznaczone stężenia są od jednego do trzech rzędów wielkości niższe niż poprzednio określane poziomy (1—10 $\mu\text{g dm}^{-3}$). Trudno jest zatem porównywać wyniki

prac z ostatnich lat z pracami starszymi. Niezależnie zaś od przyjętych metod oznaczeń, obserwowane różnice wynikają ze złożoności medium środowisko morskie, ciągle jeszcze mało znanego. Poznanie takich procesów jak np. adaptacja glonów do podwyższonych stężeń miedzi jest bardzo potrzebne, lecz jak uważają niektórzy autorzy [30], aby je zrozumieć chemicy i biologzy zaczynają wszystko od początku.

LITERATURA

- [1] Anderegg V. G., Eplattenier F. L., Schwarzenbach G., 1963. Hydroxamat komplexe (III). Eisen (III) — austausch zwischen sidereaminen und komplexonen diskussion der bildungskonstanten der hydroxamatkomplexe. *Helv. Chim. Acta* **46**: 1409—1422.
- [2] Anderson D. M., Morel F. M. M., 1978. Copper sensitivity of *Gonyaulax tamarensis*. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 283—295.
- [3] Barber R. T., 1973. Organic ligands and phytoplankton growth in nutrient-rich seawater. W: Trace metals and metal-organic interactions in natural waters. P. Singer (red.). *Ann. Arbor Sci.*, 1973 str. 321—338.
- [4] Barber R. T., Ryther J. H., 1969. Organic chelators: factors affecting primary production in the Cromwell current upwelling. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **3**, 191—199.
- [5] Bruland K. W., Franks R. P., Knauer G. A., Martin J. H., 1979. Sampling and analytical methods for the determination of Cu, Cd, Zn, and Ni at the nanogram per liter level in seawater. *Anal. Chim. Acta*, **105**, 233—245.
- [6] Butler M., Haskew, A. E. J., Young M. M., 1980. Copper tolerance in the green algae, *Chlorella vulgaris*. *Plant, Cell and Environ.*, **3**, 119—126.
- [7] Daniel G. F., Chamberlain A. H. L., 1981. Copper immobilization in fouling diatoms. *Bot. Marina*, **24**, 229—243.
- [8] Davey E. W., Morgan M. J., Ericksen S. J., 1973. A biological measurement of the copper complexation capacity of seawater. *Limnol. Oceanogr.*, **18**, 893—997.
- [9] Erichhorn G. L., 1975. Organic ligands in natural systems. W: The nature of seawater. (red.) E. D. Goldberg. Dahlem Konferenzen, Berlin, str. 245—262.
- [10] Erickson S. J., Maloney T. E., Gentile H. H., 1970a. Effect of nitrioloacetic acid on the growth and metabolism of estuarine phytoplankton. *J. Water Poll. Contr. Fed.* **42**, R 229—235.
- [11] Erickson S. J., Lackie N., Maloney T. E., 1970b. A screening technique for estimating copper toxicity to estuarine phytoplankton. *J. Water Poll. Contr. Fed.* **42**, R 270—278.
- [12] Fisher N., Fabris J. G., 1982. Complexation of Cu, Zn and Cd by metabolites excreted from marine diatoms. *Mar. Chem.*, **11**, 245—255.
- [13] Fisher N. S., Froid D., 1980. Heavy metals and marine diatoms. Influence of dissolved organic compounds on toxicity and selection for metal tolerance among four species, *Mar. Biol.* **59**, 85—93.
- [14] Fisher N. S., Jones G. J., Nelson D. M., 1981. Effects of copper and zinc on growth, morphology and metabolism of *Asterionella japonica* (Cleve), *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **51**, 37—56.
- [15] Florence T. M., Lumsden B. G., Fardy J. J., 1983. Evaluation of some physico-chemical techniques for the determination of the fraction of dissolved copper toxic to the marine diatom *Nitzschia closterium*. *Anal. Chim. Acta*, **151**, 281—295.
- [16] Fogg C. E., Westlake D. E., 1955. The importance of extracellular products of algae in freshwater. *Proc. Int. Assoc. Theor. Appl. Limnol.* **12**, 219—232.
- [17] Foster P. L., 1977. Copper exclusion as a mechanism of heavy metal tolerance in a green alga. *Nature (London)*, **269**, 322—323.
- [18] Gächter R., Lum-Shue-Chan K., 1973. Complexing capacity of the nutrient medium and its relation to inhibition of algal photosynthesis by copper. *Schweiz. Z. Hydr.*, **35**, 252—261.
- [19] Gnassia-Barelli M., Romeo M., Laumond F., Pesando D., 1978. Experimental studies on the relationship between natural copper complexes and their toxicity to phytoplankton. *Mar. Biol.*, **47**, 15—19.

- [20] Granelli E., Persson H., Edler L., 1986. Connection between trace metals, chelators and red tide blooms in the Lanholm Bay-SE Kattegat. An experimental approach. *Mar. Environm. Res.*, **18**, 61—78.
- [21] Hall A., Fielding A. H., Butler M., 1979. Mechanisms of copper tolerance in the marine fouling alga — *Ectocarpus siliculosus* — evidence for an exclusion mechanism. *Mar. Biol.* **54**, 195—199.
- [22] Jackson G. A., Morgan J. J., 1978. Trace metal-chelator interactions and phytoplankton growth in seawater media: Theoretical analysis and comparison with reported observations. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 268—282.
- [23] Johanson R., 1963. Seawater, the natural medium of phytoplankton. I. General features., *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **43**, 427—456.
- [24] Johnston R., 1964. Seawater, the natural medium of phytoplankton. II. Trace metals and chelation and general discussion., *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **44**, 87—109.
- [25] Knauer G. A., Martin J. H., 1983. Trace elements and primary production: problems, effects and solutions. W: Wong C. S. (red.) Trace metals in seawater. Plenum Press, N. Y. London, 1983, str. 825—840.
- [26] Manahan S. E., Smith M. J., 1973. Copper micronutrient requirement for algae. *Environ. Sci. Technol.*, **7**, 829—833.
- [27] Mantoura R. F. C., 1981. Organo-metallic interactions in natural waters. W: E. K. Duursma and R. Dawson (red.). Marine organic chemistry. Elsevier. str. 179—223.
- [28] McKnight D. M., Morel F. M. M., 1979. Release of weak and strong copper complexing agents of algae., *Limnol. Oceanogr.*, **24**, 823—837.
- [29] Moore G. T., Kellerman K. F., 1905. Copper as an algicide and disinfectant in water supplies., U. S. Dept. Agric. Bur. Plant. Industry Bull. **76**, 5—55.
- [30] Morel F. M. M., Morel-Laurens N. M. L., 1983. Trace metals and plankton in the oceans: Facts and speculations. W: Trace metals in seawater (red.) C. S. Wong i in. Plenum Press, N. Y. London str. 841—869.
- [31] Morel N. M. L., Reuter J. G., Morel F. M. M., 1978. Copper toxicity to *Skeletonema costatum* (*Bacillariophyceae*), *J. Phycol.*, **14**, 43—48.
- [32] Murphy T. P., Lean D. I., Nalewajko C., 1976. Blue-green algae: Their excretion of iron selective chelators enables them to dominate other algae. *Science*, **192**, 900—902.
- [33] Orhon D., 1975. The lower trophic level toxicity assessment in the Golden Horn area in Istanbul. *Water Res.* **9**, 467—472.
- [34] O'Nriagu J. 1979. The global copper cycle. W: Copper in the environment. (red.) J. O'Nriagu t 1 Wiley Interscience Publication, N. Y. 1979. str. 1—149.
- [35] Podbielkowski Z., Tomaszewicz H., 1982. *Zarys hydrobotaniki*, PWN, Warszawa, 1982, str. 405—424.
- [36] Ramamorthy S., Kushner D. J., 1975. Heavy metal binding sites in river water, *Nature*, **256**, 399—401.
- [37] Reuter J. H., Perdue E. M., 1977. Importance of heavy metal-organic matter interaction in natural water. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **41**, 326—334.
- [38] Rounsfell G. A., Evans J. E., 1958. Large-scale experimental of copper sulphate as a control for the Florida red tide. W: Advances in marine biology. F. S. Russel i M. Yonge (red.), 1978, str. 381—508.
- [39] Sanders J. G., Batchelder J. H., Ryther J. H., 1981. Dominance of a stressed marine phytoplankton assemblage by a copper-tolerant pennate diatom., *Bot. Marina*, **24**, 39—41.
- [40] Simpson F. B., Neilands J. B., 1976. Siderochromes in cyanophyceae: Isolation and characterization of schizokinen from *Anabena* sp., *J. Phycol.* **12**, 44—48.
- [41] Steeman-Nielsen E., Wium-Anderson S., 1970. Copper ions as poison in the sea and freshwater., *Mar. Biol.*, **6**, 93—97.
- [42] Steeman-Nielsen E., Wium-Anderson S., 1971. The influence on photosynthesis and growth in diatoms, *Physiol. Plant.*, **24**, 480—484.
- [43] Sueur S., van den Berg C. M. G., Riley J. P., 1982. Measurements of the metal complexing ability of exudates of marine macroalgae. *Limnol. Oceanogr.*, **27**, 536—543.

- [44] Sunda W., Guillard R. L., 1976. The relationship between cupric ion activity and the toxicity of copper to phytoplankton, *J. Mar. Res.* **34**, 511—529.
- [45] Swallow K. C., Westall J. C., McKnight D. M., Morel N. M., Morel F. M., 1978. Potentiometric determination of copper complexation by phytoplankton exudates. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 538—542.

Dr Grażyna Kowalewska
Instytut Oceanologii Polskiej Akademii Nauk,
ul. Powstańców Warszawy 55, 81-967 Sopot.