

KLAIPĖDOS UNIVERSITETAS

ALGIRDAS ŠVANYS

**Alelopatiškai aktyvaus makrofito *Myriophyllum spicatum*
poveikis potencialiai toksiškai *Microcystis aeruginosa*
melsvabakterei**

DAKTARO DISERTACIJOS SANTRAUKA

Biomedicinos mokslai, ekologija ir aplinkotyra (03B)

Klaipėda, 2015

Disertacija rengta 2010–2015 metais Klaipėdos universitete.

Vadovas – dr. Ričardas Paškauskas (Klaipėdos universitetas, biomedicinos mokslai, ekologija ir aplinkotyra – 03B).

Konsultantė – doc. dr. Sabine Hilt (Leibnico gėlųjų vandenų ekologijos ir vidaus vandenų žuvininkystės institutas, biomedicinos mokslai, ekologija ir aplinkotyra – 03B).

Disertacija ginama Klaipėdos universiteto Ekologijos ir aplinkotyros mokslo krypties taryboje:

Pirmininkas – prof. habil. dr. Sergej Olenin (Klaipėdos universitetas, biomedicinos mokslai, ekologija ir aplinkotyra – 03B).

Nariai:

dr. Martynas Bučas (Klaipėdos universitetas, biomedicinos mokslai, ekologija ir aplinkotyra – 03B);

prof. dr. Darius Daunys (Klaipėdos universitetas, biomedicinos mokslai, ekologija ir aplinkotyra – 03B);

dr. Ali Ertürk (Stambulo technologijos universitetas, biomedicinos mokslai, ekologija ir aplinkotyra – 03B);

dr. Kristina Ložienė (Gamtos tyrimų centras, biomedicinos mokslai, ekologija ir aplinkotyra – 03B).

Disertacija bus ginama viešame Ekologijos ir aplinkotyros mokslo krypties tarybos posėdyje 2015 m. lapkričio mėn. 27 d. 11 val. Klaipėdos universiteto Aula Magna konferencijų salėje.

Adresas: Herkaus Manto g. 84, LT-92294 Klaipėda, Lietuva.

Disertacijos santrauka išsiųsta 2015 m. spalio 27 d.

Disertaciją galima peržiūrėti Klaipėdos universiteto bibliotekoje.

KLAIPĒDA UNIVERSITY

ALGIRDAS ŠVANYS

**Effects of the allelopathically active macrophyte
Myriophyllum spicatum on the potentially toxic
cyanobacterium *Microcystis aeruginosa***

SUMMARY OF DOCTORAL DISSERTATION

Biomedical Sciences, Ecology and Environmental Sciences
(03B)

Klaipėda, 2015

The work was carried out at Klaipėda University in 2010-2015.
Supervisor – Dr. Ričardas Paškauskas (Klaipėda University, Biomedical Sciences, Ecology and Environmental Sciences – 03B)

Academic advisor – PD Dr. Sabine Hilt (Leibniz Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries, Biomedical Sciences, Ecology and Environmental Sciences – 03B)

The dissertation will be defended at the Research Board for Ecology and Environmental Sciences:

Chairman – Prof. Habil. Dr. Sergej Olenin (Klaipėda University, Biomedical Sciences, Ecology and Environmental Sciences – 03B).

Members:

Dr. Martynas Bučas (Klaipėda University, Biomedical Sciences, Ecology and Environmental Sciences – 03B)

Prof. Dr. Darius Daunys (Klaipėda University, Biomedical Sciences, Ecology and Environmental Sciences – 03B)

Dr. Ali Ertürk (Istanbul Technical University, Biomedical Sciences, Ecology and Environmental Sciences – 03B)

Dr. Kristina Ložienė (Nature Research Center, Biomedical Sciences, Ecology and Environmental Sciences – 03B)

The defence of the dissertation will take place on 27th November 2015, at 11:00, at the Aula Magna conference room of Klaipėda University.

Address: Herkaus Manto 84, LT-92294, Klaipėda, Lithuania.

The summary of doctoral dissertation was sent on 27th October, 2013.

The dissertation is available at the Library of Klaipėda University.

Įvadas

Temos aktualumas. Melsvabakterės yra svarbus vandens ekosistemų komponentas, vis dėlto masinis melsvabakterių biomasės augimas, sukeliantis vadinamąjį žydėjimą, gali turėti kenksmingą poveikį visuomenės sveikatai ir aplinkai. Viena iš labiausiai paplitusių žalingą melsvabakterių žydėjimą sukelianti rūšis *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Lemmerman (eilė *Chroococcales*) vis dažniau aptinkama vandens ekosistemoje visame pasaulyje. *M. aeruginosa* žydėjimą labiausiai kelia antropogeninė eutrofikacija ir toliau skatina didėjanti vandens temperatūra, vandens telkinių stratifikacijos stabilumas ir atmosferos CO₂ koncentracija. Dėl gebėjimo gaminti hepatotoksinus mikrocistinus *M. aeruginosa* gali užteršti geriamajam vandeniui ir rekreacijai naudojamus vandens telkinius, sukelti įvairias žmonių ir naminių gyvulių ūmias ar lėtines ligas ir apskritai kelti pavojų daugybės vandens telkinių ekologiniam integralumui visame pasaulyje. Viena iš priemonių, kuri galėtų padėti kontroliuoti melsvabakterių žydėjimą, yra alelopatiškai aktyvių makrofitų¹ panaudojimas. Vienas iš stipriausiai alelopatiškai² veikiančių makrofitų yra varpotoji plunksnalapė *Myriophyllum spicatum* L., kadangi ji geba sintetinti polifenolinius alelochemikalus. *In situ* sąlygomis makrofitų ir jų alelochemikalų poveikis *M. aeruginosa* melsvabakterėms turėtų būti pirmiausia pastebimas „lūžio“ (*angl.* „crashing“) stadijos vandens telkiniuose, kuriuose melsvabakterės žydi vasarą, nepaisant makrofitų suvešėjimo pavasarį. Dėl makrofitų atsistatymo reoligotrofikuojamuose vandens telkiniuose Europoje ir Šiaurės Amerikoje makrofitų, jų išskiriamų alelochemikalų poveikio svarba vandens ekosis-

¹vandens augalų

²alelopatija (*gr.* *allelon* – abipusė, *pathos* – žala) – bet koks procesas, susijęs su augalų, dumblių, bakterijų ir grybų antriniais metabolitais, kurie daro įtaką žemės ūkio ir biologinių sistemų augimui ir vystymuisi.

temoje ateityje turėtų didėti, vis dėlto, kokia yra makrofitų alelopatinio poveikio svarba *in situ*, yra menkai suprantama. Nors *M. aeruginosa* melsvabakterių žydėjimo toksiškumą reikšmingai sąlygoja mikrocistinus produkuojančių ir mikrocistinų neprodukuojančių *M. aeruginosa* genotipų procentas, kokią šiam genotipų procentui įtaką daro makrofitai ir jų išskiriami alelochemikalai, nėra žinoma. Makrofitų ir jų išskiriamų alelochemikalų poveikio potencialiai toksiskai *M. aeruginosa* melsvabakterei gilesnis ištyrimas galėtų padėti suvokti procesus, kurie turi įtaką toksinių melsvabakterių žydėjimo atsiradimui ir jų žalingumui.

Darbo tikslas ir uždaviniai. Šio darbo tikslas buvo įvertinti alelopatiška aktyvaus makrofito *M. spicatum* poveikį *M. aeruginosa* melsvabakterėms ir jų toksiskumui.

Darbo tikslui pasiekti buvo iškelti šie uždaviniai:

1. Įvertinti, ar makrofito *M. spicatum* buvimas mažina melsvabakterių biomasę, turi įtaką fitoplanktono bendrijos kompozicijai ir zooplanktono gausumui *in situ* panašiomis sąlygomis, ir įvertinti *M. spicatum* alelochemikalų poveikį.
2. Įvertinti polifenolinių alelochemikalų poveikį mikrocistinus produkuojančioms ir mikrocistinų neprodukuojančioms *M. aeruginosa* kultūroms.
3. Įvertinti mikrocistinų apsauginę funkciją *M. aeruginosa* melsvabakterėse prieš polifenolinius alelochemikalus.
4. Įvertinti, ar mikrocistinus produkuojančių ir mikrocistinų neprodukuojančių *M. aeruginosa* kultūrų sąveika daro įtaką *M. spicatum* alelochemikalų poveikiui *M. aeruginosa* kultūroms.

Darbo naujumas. Disertacijoje įvertinta, kaip alelopatiškai aktyvus makrofitas *M. spicatum* veikia mikrocistinus produkuojančių ir mikrocistinų neprodukuojančių *M. aeruginosa* genotipus. Šiame darbe įvertintas makrofito *M. spicatum* alelopatinio poveikio reikšmingumas *in situ* panašiomis sąlygomis. Darbe pateikti įrodymai, kad mikrocistinus produkuojančių ir mikrocistinų neprodukuojančių *M. aeruginosa* kultūrų sąveika turi įtaką *M. spicatum* alelochemikalų poveikiui *M. aeruginosa* kultūroms. Taip pat darbe įvertintas apsauginis mikrocistinų vaidmuo *M. aeruginosa* prieš makrofitų alelochemikalus bei iškelta prielaida, kad biocheminė fitoplanktono organizmų savybė produkuoti tam tikrus metabolitus gali būti viena iš skirtingo fitoplanktono organizmų jautrumo makrofitų alelochemikalams priežasčių.

Mokslinė ir praktinė darbo reikšmė. Ši disertacija praplečia supratimą procesų, kaip makrofitai ir jų alelochemikalai gali veikti toksinių melsvabakterių žydėjimo atsiradimą ir žalingumą. Disertacijoje rekomenduojama atlikti daugiau eksperimentų mezokosmuose su kompleksiška natūralia fitoplanktono bendrija, kad būtų įvertinta makrofitų alelopatinio efekto ekologinė reikšmė. Taip pat siūloma atsižvelgti į *M. aeruginosa* genotipų sąveiką, vertinant makrofitų alelochemikalų potencialą mažinti *M. aeruginosa* žydėjimą. Šio darbo rezultatai išskėlė abejonių dėl alelochemikalų panaudojimo tinkamumo *M. aeruginosa* žydėjimo kontrolei dėl galimo *M. aeruginosa* žydėjimo toksiškumo padidėjimo po alelochemikalų dirbtinio panaudojimo. Šis darbas padeda suprasti, kad makrofitų išskiriami alelochemikalai yra vienas iš biotinių faktorių, reikšmingai veikiančių mikrocistinus produkuojančių *M. aeruginosa* genotipų procentą, ir yra verti tolimesnio dėmesio.

Ginamieji teiginiai

1. Makrofito *M. spicatum* buvimas mažina melsvabakterių biomasę, turi įtaką fitoplanktono bendrijos kompozicijai ir tam tikrų zooplanktono taksonų gausumui *in situ* panašiomis sąlygomis.
2. Polifenoliniai alelochemikalai inhibuoja mikrocistinus produkuojančias *M. aeruginosa* kultūras mažiau negu mikrocistinų neprodukuojančias *M. aeruginosa* kultūras.
3. Mažesnė mikrocistinus produkuojančių *M. aeruginosa* kultūrų negu mikrocistinų neprodukuojančių *M. aeruginosa* kultūrų inhibicija polifenoliniais alelochemikalais nėra priklausoma nuo mikrocistinų produkcijos *per se*.
4. Mikrocistinus produkuojančių ir mikrocistinų neprodukuojančių *M. aeruginosa* kultūrų koegzistencija daro įtaką *M. spicatum* alelochemikalų poveikiui *M. aeruginosa*.

Darbo rezultatų aprobacija ir publikacijos. Šio darbo rezultatai buvo pristatyti 13-oje tarptautinių konferencijų ir seminarų: vieša paskaita Klaipėdos universitete, Klaipėda, Lietuva, 2011 m. gegužės mėn.; SUBMARINER partnerių susitikimas, Trelleborg, Švedija, 2011 m. gegužės mėn.; SUBMARINER bendradarbiavimo konferencija „Present and Potential Uses of Algae“, Trelleborg, Švedija, 2011 m. rugsėjo mėn.; viešas susirinkimas „Maudyklų vandens kokybės ir kitos aplinkos sveikatinimo bei neinfekcinių ligų profilaktikos aktualijos“, Trakai, Lietuva, 2011 m. spalio mėn.; tarptautinis kongresas „The 6th World Congress on Allelopathy“, Guangzhou, Kinija, 2011 m. gruodžio mėn.; tarptautinė konferencija „International Symposium on Aquatic Plants“, Poznanė, Lenkija, 2012 m. rugpjūčio mėn.; tarptautinė konferencija „Estuarine Coastal and Shelf Science 51st symposium“,

Klaipėda, Lietuva, 2012 m. rugsėjo mėn.; tarptautinė konferencija: „28th annual meeting of International Society of Chemical Ecology“, Vilnius, Lietuva, 2012 m. liepos mėn.; nacionalinė konferencija „Jūros ir krantų tyrimai“, Klaipėda, Lietuva, 2013 m. balandžio mėn.; tarptautinė konferencija „International Conference on Biodiversity and the UN Millennium Development Goals“, Berlynas, Vokietija, 2013 m. balandžio mėn.; nacionalinė konferencija „Doktorantų stažuotės užsienio mokslo centruose 2012–2013 m.“ Vilnius, Lietuva, 2013 m. spalio mėn.; nacionalinė konferencija „Jūros Mokslo ir Technologijos“, Klaipėda, Lietuva, 2014 m. balandžio mėn.; tarptautinis kongresas „The 7th World Congress on Allelopathy“, Vigo, Ispanija, 2014 m. liepos mėn.

Šios disertacijos rezultatai paskelbti dviejose mokslinėse publikacijose, vienas rankraštis pateiktas spaudai ir du rankraščiai ruošiami.

Disertacijos struktūra. Disertaciją sudaro šie skyriai: Įvadas, Literatūros apžvalga, Medžiaga ir metodai, Rezultatai, Rezultatų aptarimas, Išvados ir Literatūros sąrašas. Disertacijos medžiaga apima 140 puslapį, 23 paveikslus ir 5 lenteles. Disertacijoje cituotas 201 literatūros šaltinis. Disertacija parašyta anglų kalba, santrauka – lietuvių ir anglų kalbomis.

Padėka. Ypač dėkoju šio darbo vadovui Ričardui Paškauskui už nuoširdų palaikymą ir rūpinimąsi, vertingus ir neįkainojamus patarimus. Taip pat nuoširdžiai dėkoju konsultantei Sabinei Hilt už galimybę dirbti Leibnico gėlųjų vandenių ekologijos ir vidaus vandenių žuvininkystės institute (IGB) Berlyne ir jos neįkainojamas konsultacijas, paskatinimą ir objektyvią kritiką. Aš dėkingas Hansui Piteriui Grosartui už galimybę atlikti tyrimus IGB Noiglobsau (Neuglobsow) ir vertingą mokslinę pagalbą. Taip pat dėkoju Žanui Fransua Um-

bertui už galimybę dalyvauti tyrimuose Viltrès (Villerest) tvenkinyje. Dėkoju Olgai Anne už jos vertingą paramą ir palaikymą.

Taip pat dėkoju Falkui Aigemanui už jo humorą, entuziastingą mokymą ir nuoširdų rūpestį eksperimentų metu IGB Berlyne. Dėkoju Aureli Vileneuv už jos priežiūrą Pastero institute ir Nacionaliniame agronomijos tyrimų institute (INRA). Dėkoju Martynui Bučui, Kęstučiui Dučinskui, Bertui Hidingui ir Kristenai Polman už patarimus dėl duomenų statistinės analizės. Dėkoju Maiklui Monaganui ir Tomui Šetvelui, išmokiusiems mane dirbti su statistiniu paketu R! Dėkoju Mariai Alp, Artūrai Razinkovui-Baziukui, Pauliui Bukavecui, Dorotėjai Fidler, Anai Kristinai Onen, Janui Kioleriui, Jūratei Lesutienei, Frančescai Leunert, Aleksui Narščiui, Nerijui Nikai, Rasai Morkūnei, Tomui Ruginiui, Ivetei Salka, Sigitui Šulčiui, Dianai Vaičiutei ir Erikui Visakavičiui už jų mokslinę, techninę ir asmeninę paramą bei konsultacijas kai jos buvo reikalingos.

Šis darbas nebūtų baigtas be techninės ir asmeninės paramos. Barbara Maink, Tomas Rosolis ir Elkė Cvirman puikiai vadovavo IGB Berlyne. Solviga Pinau suteikė man puikią pagalbą IGB Noiglobsau. Paskalis Pernėjus padėjo visų mėginių ėmimo metu Viltrès tvenkinyje. Stasė Mažeikaitė atliko kiekybinį zooplanktono rūšių identifikavimą, Jūratė Karosienė identifikavo fitoplanktono rūšis, Henrikė Lorenc, Berta Ortiz Krespo ir Aurelija Ivanauskaitė padėjo atlikti laboratorinius eksperimentus IGB Berlyne, Modesta Riaukaitė padėjo atlikti mezokosmų eksperimentą. Ačiū Simonai Mačiukaitei, Aušrai Tamutei, Editai Teš ir Katrinai Lėman už jų neįkainojamą administracinę pagalbą. Dėkoju Soreni Bradzerui ir Violetai Ptašekienei už rankraščių anglų kalbos tobulinimą. Dėkoju Marijai Kataržytei ir Čian Huangai už disertacijos juodraš-

čio peržiūrėjimą ir pastabas. Dėkoju Aurelijai Samuiliovienei, Martynui Bučui ir Jūratei Karosienei už disertacijos recenzijas. Dėkoju visiems kolegoms, sudariusiems palankias darbo sąlygas. Yra dar daugybė nepaminėtų žmonių, kurie prisidėjo prie šio darbo. Nuoširdžiai dėkoju Jiems visiems!

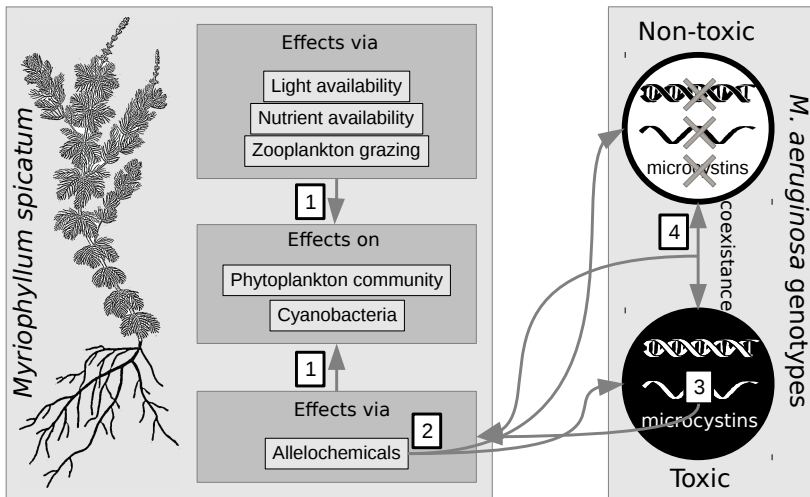
Galiausiai norėčiau padėkoti savo šeimai ir draugams už jų asmeninę pagalbą, be kurios nebūčiau atlikęs šio darbo.

Šis darbas buvo iš dalies finansuojamas Europos socialinių fondų agentūros (Projekto nr. VP1-3.1-ŠMM-08-K-01-019) ir FP7 programos (GENESIS; Nr. 223996). „Deutsche Bundesstiftung Umwelt“ (Nr. 86011/009) ir Lietuvos mokslo taryba (Projekto nr. VP1-3.1-ŠMM-01-V-02-003) finansiškai rėmė mano stažuotes Vokietijoje. Leibnico asociacija suteikė finansinę paramą, kad galėčiau dalį šio darbo rezultatų pristatyti tarptautinėje konferencijoje „International Conference on Biodiversity and the UN Millennium Development Goals“. Lietuvos mokslo taryba suteikė finansinę paramą pristatyti dalį šio darbo 6-tame ir 7-tame Pasaulio aleopatijos kongresuose (Nr. VIZIT-2-KON-078 ir DOC-51/2014) ir skyrė stipendiją 2011, 2012 ir 2014 metais (Nr. DOK-12105 ir DOK-14511). Doktorantūros studijos Klaipėdos universitete buvo finansuojamos ES struktūrinių fondų (BIOMEDOKT; Nr. VP1-3.1-ŠMM-01-V-03-002).

Medžiaga ir metodai

Siekiant patikrinti aleopatiškai aktyvaus makrofito *M. spicatum* poveikį *M. aeruginosa* melsvabakterėms ir jų toksiškumui ir įvykdyti iškeltus darbo uždavinius (1 pav.), buvo atlikti *in situ* sąlygų, mezokosmų ir laboratoriniai tyrimai.

Pirma, eutrofikuo tame Villerest tvenkinyje Prancūzijoje (2 pav.) vasaros metu buvo atliktas tyrimas siekiant identifikuoti aplinkos veiksnius, kurie daro įtaką mikrocistinus produkuojančių *M. aeruginosa* genotipų procentui. Antra, siekiant



1 PAVEIKSLAS. Šio darbo uždavinių grafinė išklotinė. Tirti faktoriai pažymėti skaičiais, o sąveika tarp faktorių yra parodyta rodyklėmis. Atviras ir pilnaviduris skrituliai simbolizuoja mikrocinus produkujančias ir mikrocinų neprodukuojančias *Microcystis aeruginosa* melsvabakteres. Dvigubos DNR grandinės, viengubos RNR grandinės ir mikrocinų buvimas ir jų išbraukimas kryželiu srituliuose atitinkamai rodo *mcyB* genų, ribosominės RNR ir mikrocinų buvimą ir nebuvimą *M. aeruginosa* melsvabakterėse. *Myriophyllum spicatum* piešinys paveikslo kairėje yra iš knygų Thomé 1903 „Flora von Deutschland“ ir Kops ir kt. 1830 „Flora batava“ ir yra naudotas GNU Laisvosios dokumentacijos licencijos sąlygomis.

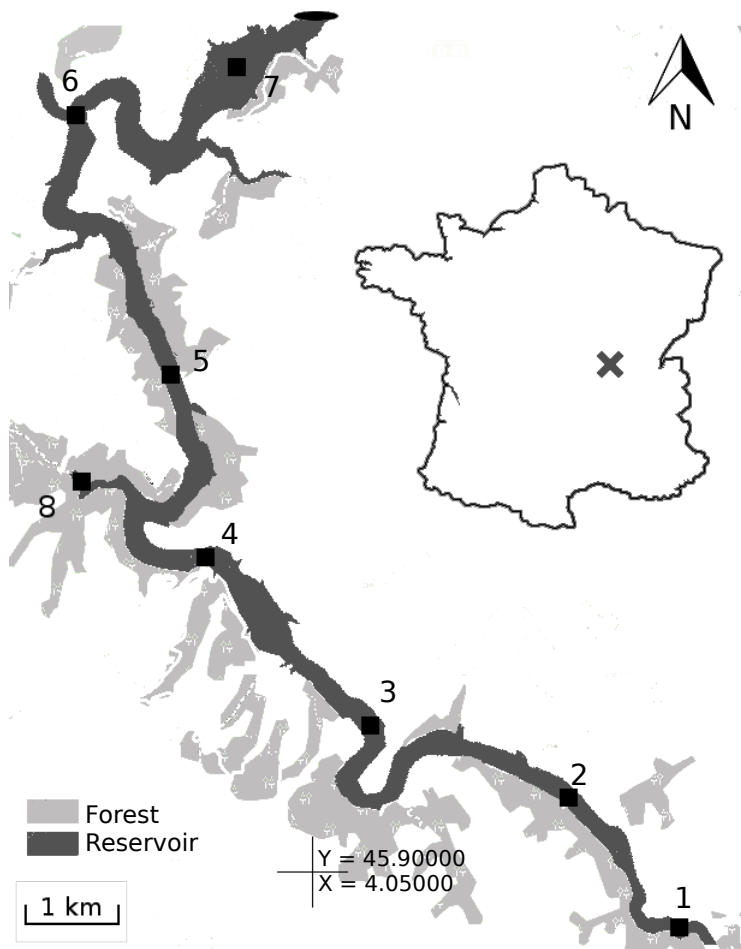
FIGURE 1. Mind map of the objectives investigated in this study. Factors investigated are marked with numerals and interactions between factors are indicated with arrows. Open and filled circles symbolize microcystin-producing and non-microcystin-producing *Microcystis aeruginosa* cyanobacteria. Present and crossed out double stranded DNA, single stranded RNA and microcystins represent presence and absence of *mcyB* genes, ribosomal RNA and microcystins in *M. aeruginosa* cyanobacteria, respectively. The drawing of *Myriophyllum spicatum* is a derivative of the drawings from Thomé 1903 "Flora von Deutschland" and Kops et al. 1830 "Flora batava" and is used under GNU Free Documentation License.

įvertinti *M. spicatum* poveikį melsvabakterėms ir fitoplanktono bendrijoms buvo atliktas tyrimas aštuoniuose mezokosmuose (4 kontroliniai ir 4 su *M. spicatum*), pripildytuose Kuršių marių vandeniui, kuriame dominavo melsvabakterės, tarp kurių taip pat buvo ir *M. aeruginosa*. Trečia, alelochemikalo tanio rūgšties biotestai ir laboratoriniai eksperimentai su pavienėmis mikrocistinus produkuojančiomis ir mikrocistinių neprodukuojančiomis *M. aeruginosa* kultūromis ir jų mišiniais, paveiktais alelochemikalu tanio rūgštimi arba patalpintais dializės maišeliuose tarp *M. spicatum* makrofitų, buvo atlikti siekiant įvertinti alelochemikalų poveikį mikrocistinus produkuojančioms ir mikrocistinių neprodukuojančioms *M. aeruginosa* kultūroms.

Statistinėje duomenų analizėje klasterinė analizė atlikta naudojant Ward mažiausios dispersijos grupavimą pagal Bray-Curtis indeksą. Sąryšiai tarp parametrų rasti atliekant Pearson koreliacinę analizę ir daugialypę tiesinę regresinę analizę. Skirtumai tarp faktorių rasti naudojant LM (General Linear), GLS (Generalised Least Squares) ir LME (Linear Mixed Effect) modelius, Kruskal-Wallis, Nemenyi post-hoc, Mann-Whitney U ir Student t testus. Skirstinių normališkumas ir homogeniškumas atitinkamai tikrintas su Shapiro-Wilk and Brown-Forsythe testais. Duomenų tyrinėjimas ir statistinė analizė atlikti *base*, *ggplot2*, *lattice*, *MASS*, *nlme*, *relaimpo* ir *vegan* paketais R statistinės programinės įrangos aplinkoje.

Rezultatai

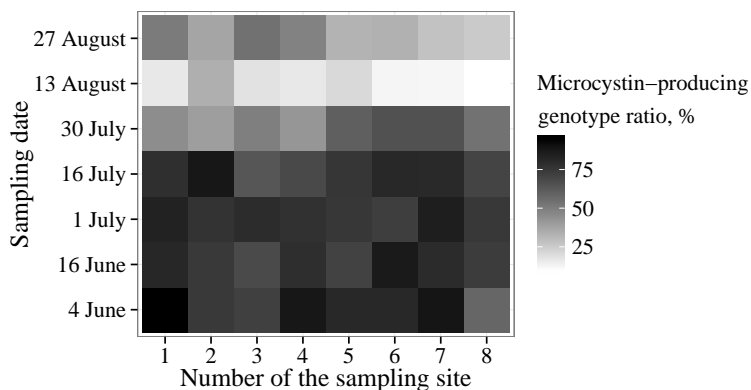
Tyrimo metu Villerest tvenkinyje užfiksuoti žymūs, bet nereguliarūs fitoplanktono biomasės padidėjimai. Mikrocistinus produkuojančių *M. aeruginosa* genotipų procentas buvo aukštas iki liepos pabaigos ir sumažėjo rugpjūčio viduryje. Mėginių ėmimo vietoje su augalija (nr. 8) imtame vandenyje užfiksuotas vidutiniškai mažiausias mikrocistinus produkuo-



2 PAVEIKSLAS. Villerest tvenkinio Prancūzijoje (pažymėta kryželiu) ir mėginių ėmimo taškų Villerest tvenkinyje (numeriai 1–8) geografinės padėties. Žemėlapio atvirai licencijuoti duomenys panaudoti iš ©OpenStreetMap.

FIGURE 2. Geographic locations of the Villerest reservoir in France (marked with cross) and the sampling sites in the Villerest reservoir (no. 1–8). The map data available under the Open Database Licence is sourced from ©OpenStreetMap contributors.

jančių *M. aeruginosa* genotipų procentas (3 pav.), tačiau vidutiniškai didžiausia melsvabakterių, titnagdumblių ir bendro fitoplanktono biomasė, palyginus su vidutinėmis atitinkamų parametrų vertėmis imtame vandenyje kitose mėginių ėmimo vietose (nr. 1–7). Mikrocistinus produkuojančių *M. aeruginosa* genotipų procentas reikšmingai teigiamai koreliavo su saulės spinduliuotės vidutiniu intensyvumu ir melsvabakterių biomasė ir neigiamai koreliavo su vandens temperatūra.



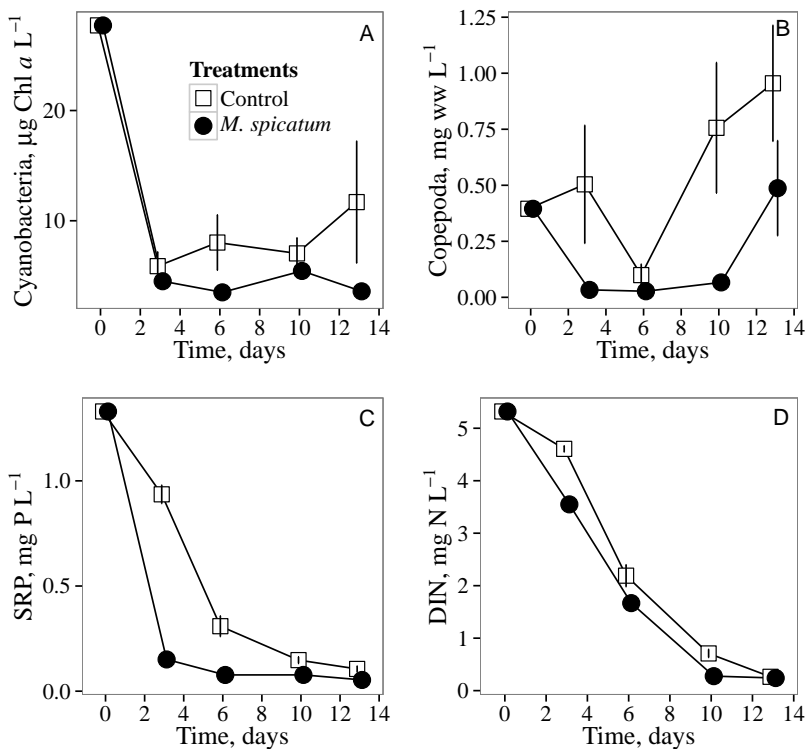
3 PAVEIKSLAS. Mikrocistinus produkuojančių *Microcystis aeruginosa* genotipų procento kitimas mėginių ėmimo vietose Villerest tvenkinyje
 FIGURE 3. Spatiotemporal variation of the percentage of MC-producing *Microcystis aeruginosa* genotypes in the Villerest reservoir

Mezokosmų eksperimente iš Kuršių marių naudotame vandenyje dominavo melsvabakterės ir žaliadumbliai. Bendro fitoplanktono, žaliadumblių ir melsvabakterių chlorofilo *a* (Chl *a*) koncentracijos pirmomis mezokosmo eksperimento dienomis sumažėjo tiek mezokosmuose su *M. spicatum*, tiek ir kontroliniuose mezokosmuose, bet vėliau vėl pradėjo didėti, tačiau skirtingai tarp skirtingų fitoplanktono grupių ir skirtingai tarp mezokosmų su *M. spicatum* ir kontrolinių mezokosmų. Mels-

vabakterių Chl *a* koncentracija buvo mažesnė mezokosmuose su makrofitais viso eksperimento metu (4A pav.). Mikrocinus produkuojančių ir mikrocinų neprodukuojančių *M. aeruginosa* genotipų procentas mezokosmuose su *M. spicatum* ir kontroliniuose mezokosmuose eksperimento pabaigoje nebuvo statistiškai skirtingas. Irklakojų vėžiagyvių biomasė buvo reikšmingai mažesnė *M. spicatum* mezokosmuose palyginus su kontroliniais mezokosmais (4B pav.). Fosfatų ir nitratų koncentracijos buvo reikšmingai mažesnės mezokosmuose su *M. spicatum* negu kontroliniuose mezokosmuose (atitinkamai 4C ir 4D paveikslai).

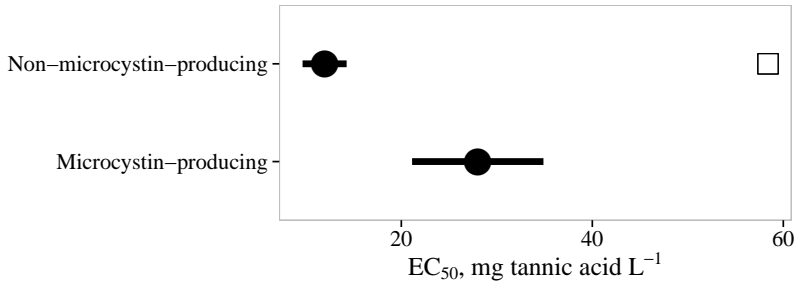
Laboratoriniuose biotestuose su pavienėmis *M. aeruginosa* kultūromis mikrocinus produkuojančių *M. aeruginosa* kultūrų Chl *a* koncentracija ir maksimali fotosistemos II kvantų išeiga buvo daugiau inhibuota alelochemikalo tanio rūgšties negu mikrocinų neprodukuojančių *M. aeruginosa* kultūrų. Vidutinė efektyvioji tanio rūgšties koncentracija pagal poveikį Chl *a* (EC₅₀) buvo reikšmingai didesnė mikrocinus produkuojančių negu mikrocinų neprodukuojančių *M. aeruginosa* kultūrų (5 pav.). *M. aeruginosa* kultūra su sutrikdyta mikrocinų produkcija (PCC 7806 $\Delta mcyB$) buvo mažiau inhibuota tanio rūgšties negu mikrocinus produkuojanti (PCC 7806) *M. aeruginosa* kultūra.

Laboratoriniuose testuose su pavienėmis ir sumaišytomis mikrocinus produkuojančiomis ir mikrocinų neprodukuojančiomis *M. aeruginosa* kultūromis tam tikruose kontroliniuose bandiniuose ir tam tikruose bandiniuose, veiktuose alelochemikalais, sumaišytų mikrocinus produkuojančių ir mikrocinų neprodukuojančių *M. aeruginosa* kultūrų Chl *a* koncentracijos ir maksimalios fotosistemos II kvantų išeigos keletoje bandinių buvo skirtingos negu iš pavienių kultūrų testų apskaičiuotos teorinės atitinkamų kultūrų mišinių Chl *a* kon-



4 PAVEIKSLAS. Melsvabakterių chlorofilo *a* koncentracijų, irklakojų vėžiagyvių biomasės (B), fostatų (C) ir nitratų (D) koncentracijų pokyčiai kontroliniuose mezokosmuose (pilnaviduriai skrituliai) ir mezokosmuose su *Myriophyllum spicatum* (atviri kvadratai). Paklaidų žymenys rodo \pm standartinius nuokrypius.

FIGURE 4. Changes in chlorophyll *a* concentrations of cyanobacteria (A), biomass of copepods (B), soluble reactive phosphorus (SRP) concentrations (C), dissolved inorganic nitrogen (DIN) concentrations (D) in control mesocosms (solid circles) and in mesocosms with *Myriophyllum spicatum* (open squares) for different days. Error bars represent \pm standard errors.



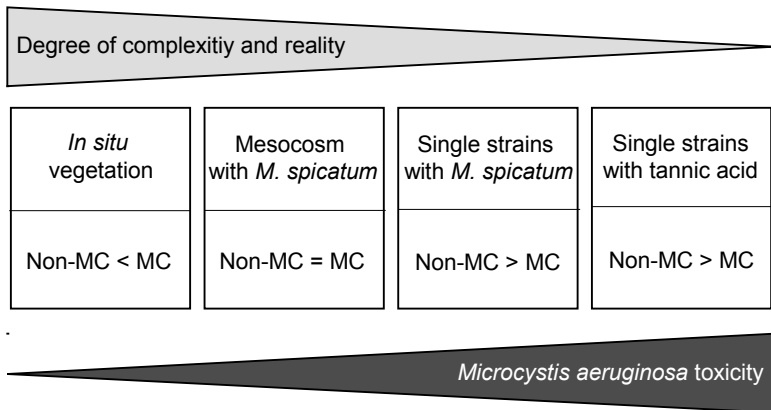
5 PAVEIKSLAS. Mikrocinus produkuojančių ir mikrocinų neprodukuojančių *Microcystis aeruginosa* kultūrų vidutinės efektyvios tanio rūgšties koncentracijos pagal poveikį chlorofilui *a* (EC_{50}) 95% pasikliautiniai intervalai. Atviras kvadratas indikuoja EC_{50} reikšmę *M. aeruginosa* PCC 7806 $\Delta mcyB$ kultūrai.

FIGURE 5. 95 % confidence intervals of half maximal effective concentration based on tannic acid effects on Chl *a* (EC_{50}) for MC- and non-MC-producing *Microcystis aeruginosa* strains. The open square indicates EC_{50} for the PCC 7806 $\Delta mcyB$ strain.

centracijos ir maksimalios fotosistemos II kvantų išėigos.

Rezultatų aptarimas

Siekiant interpretuoti, apibendrinti darbo rezultatus ir nustatyti jų teorinę reikšmę, (1) aptarti *M. aeruginosa* toksiškumui įtaką darantys veiksniai *in situ* sąlygomis, (2) įvertintas *M. spicatum* alelopatinis poveikis melsvabakterėms tarp jų ir *M. aeruginosa in situ* panašiomis sąlygomis, (3) įvertintas *M. spicatum* alelochemikalų poveikis mikrocinus produkuojančioms ir mikrocinų neprodukuojančioms *M. aeruginosa* kultūroms ir galimas apsauginis mikrocinų vaidmuo prieš inhibuojantį alelochemikalų poveikį ir (4) aptarti makrofitų ir jų alelochemikalų inhibuojančiam poveikiui įtaką darantys faktoriai (6 pav.). Taip pat identifikuotos žinių spragos ir perspektyvos ateities tyrimams.



6 PAVEIKSLAS. Mikrocistinus produkuojančių ir mikrocistinų neprodukuojančių *Microcystis aeruginosa* genotipų inhibicija sistemose su mažėjančiu kompleksišku ir tikrovišku

FIGURE 6. Inhibition of microcystin (MC)- and non-MC-producing *Microcystis aeruginosa* genotypes in systems with a decreasing degree of complexity and reality

Išvados

1. *M. spicatum* buvimas sumažino melsvabakterių biomasę, turėjo įtaką fitoplanktono bendrijos kompozicijai ir tam tikrų zooplanktono taksonų gaumui *in situ* panašiomis sąlygomis mezokosmų tyrime. Nepaisant potencialaus maistmedžiagių limitavimo buvo rasta indikacijų dėl *M. spicatum* išskiriamų alelochemikalų poveikio fitoplanktonui. Mezokosmų eksperimentai su kompleksiška natūralia fitoplanktono bendrija galėtų būti daugiau naudojami siekiant įvertinti makrofitų alelopatinio efekto ekologinę svarbą.
2. Tanio rūgšties biotestai su mikrocistinus produkuojančiomis ir mikrocistinų neprodukuojančiomis *M. aeruginosa* kultūromis parodė mažesnę mikrocistinus produ-

kuojančių negu mikrocistinų neprodukuojančių *M. aeruginosa* kultūrų inhibiciją (EC_{50} atitinkamai lygios 28 ir 12 mg tanio rūgšties L^{-1}). Tai indikuoja, kad polifenoliniai alelochemikalai mažiau inhibuoja mikrocistinus produkuojančias negu mikrocistinų neprodukuojančias *M. aeruginosa* kultūras. Šis dėsningumas indikuoja, kad alelochemikalų panaudojimas kovai su *M. aeruginosa* žydėjimu gali sukelti *M. aeruginosa* žydėjimo toksiškumo padidėjimą.

3. *M. aeruginosa* kultūros su sutrikdyta mikrocistinus produkcija (PCC 7806 $\Delta mcyB$) mažesnis jautrumas tanio rūgščiai palyginus su motininės kultūros (PCC 7806) jautrumu indikuoja, kad mažesnė mikrocistinus produkuojančių negu mikrocistinų neprodukuojančių *M. aeruginosa* kultūrų inhibicija nėra sąlygota mikrocistinų produkcijos *per se*, bet kitų mikrocistinus produkuojančių *M. aeruginosa* genotipų turimų apsauginių mechanizmų.
4. Skirtingas *M. spicatum* alelopatinis poveikis pavienėms ir sumaišytoms mikrocistinus produkuojančioms ir mikrocistinų neprodukuojančioms *M. aeruginosa* kultūroms indikuoja, kad mikrocistinus produkuojančių ir mikrocistinų neprodukuojančių *M. aeruginosa* kultūrų sąveika daro įtaką *M. spicatum* alelochemikalų poveikiui *M. aeruginosa* kultūroms. Vertinant makrofitų alelochemikalų potencialą mažinti *M. aeruginosa* žydėjimą, derėtų atsižvelgti į sąveiką tarp *M. aeruginosa* genotipų.

Introduction

Scope of the study. Cyanobacteria are an important component in aquatic ecosystems. However, the massive growth of cyanobacteria (the so-called blooms) is a public health and environmental concern. One of the most widespread harmful algae bloom forming cyanobacteria, species *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Lemmerman (order *Chroococcales*), is being increasingly reported in freshwater ecosystems around the world. *M. aeruginosa* blooms are primarily caused by anthropogenic eutrophication and are further facilitated by increasing water temperatures, stability of stratification and levels of atmospheric CO₂. Due to *M. aeruginosa* ability to produce the hepatotoxic microcystins (MCs), it may contaminate drinking and recreational waters, cause a wide range of acute or chronic illnesses to human and livestock, and, in the overall, threaten the ecological integrity of many water bodies worldwide. One of the measures assumed to potentially help control *M. aeruginosa* blooms is the use of allelopathically³ active macrophytes⁴. Eurasian watermilfoil *Myriophyllum spicatum* L. is one of the aquatic plants with the strongest allelopathic effects on phytoplankton based on its high content of polyphenolic allelochemicals. Under *in situ* conditions, effects of macrophytes and their allelochemicals should be primarily observed in shallow water bodies characterised by the so-called "crashing" phase in which cyanobacteria blooms are present in summer, despite the occurrence of macrophytes in spring. Due to the reoligotrophication of water bodies in Europe and North America and consequent reoccurrence

³Allelopathy (*gr. allelon* - mutual, *pathos* - affection, harm) - any process involving secondary metabolites produced by plants, algae, bacteria and fungi that influences the growth and development of agriculture and biological system

⁴aquatic plants

of macrophytes, relevance of the impact of macrophytes and their allelochemicals in aquatic ecosystem should increase in the future. However, the relevance of the allelopathic effect of macrophytes under *in situ* conditions is poorly understood. Although the toxicity of *M. aeruginosa* blooms is significantly determined by the ratio of MC-producing to non-MC-producing genotypes, it is not known how these genotype ratios are affected by macrophytes and their excreted allelochemicals. A deeper exploration of the effects of macrophytes and their excreted allelochemicals on potentially toxic *M. aeruginosa* cyanobacterium would increase the understanding of the processes that affect the occurrence and severity of harmful cyanobacteria blooms.

Aim and objectives of the study. The aim of the study was to evaluate the effect of the allelopathically active macrophyte *M. spicatum* on *M. aeruginosa* and its toxicity.

The objectives of the study were:

1. To evaluate if the presence of *M. spicatum* reduces the biomass of cyanobacteria, influences the phytoplankton community composition and abundances of zooplankton taxa under *in situ* like conditions, and to estimate the effect of *M. spicatum* allelochemicals.
2. To estimate the effect of polyphenolic allelochemicals on MC-producing and non-MC-producing *M. aeruginosa* strains.
3. To evaluate the role of the production of MCs in *M. aeruginosa* in its resistance against polyphenolic allelochemicals.
4. To evaluate if the coexistence of MC-producing and non-

MC-producing *M. aeruginosa* strains influence the effects of allelochemicals on *M. aeruginosa*.

Novelty of the study. This dissertation evaluates how allelopathically active macrophyte *M. spicatum* affects MC-producing and non-MC-producing *M. aeruginosa* genotypes. The study evaluates the protective role of allelopathy of *M. spicatum* under *in situ* like conditions. This study provides evidence that the coexistence of MC-producing and non-MC-producing *M. aeruginosa* strains influence the effects of allelochemicals of *M. spicatum* on *M. aeruginosa* strains. The study evaluates the role of MCs in *M. aeruginosa* against allelochemicals of *M. spicatum* and gives indications that biochemical characteristics of phytoplankton to produce certain metabolites could be one of the reasons of differential sensitivities of phytoplankton organisms to allelochemicals of macrophytes.

Scientific and practical significance of the results. This dissertation broadens the understanding of how macrophytes and their allelochemicals may affect the occurrence and severity of toxic cyanobacterial blooms. We argue that more mesocosm experiments with complex natural phytoplankton communities are needed to unravel the ecological relevance of macrophyte allelopathy. This study suggests that interactions between *M. aeruginosa* genotypes need to be taken into consideration in order to assess the potential of macrophyte allelochemicals to suppress *M. aeruginosa* blooms. The results of this study question the potential use of allelochemicals as artificial treatments to control *M. aeruginosa* blooms, as an increased toxicity of *M. aeruginosa* blooms may follow artificial treatments. This study implies that macrophyte-derived allelochemicals are one of the biotic factors that can significantly affect MC- and non-MC-producing *M. aeruginosa*.

sa genotype ratios and deserve further attention.

Defensive statements

1. The presence of *M. spicatum* reduces biomass of cyanobacteria and influences the phytoplankton community composition and abundance of certain zooplankton taxa at under *in situ* like conditions.
2. Polyphenolic allelochemicals suppress MC-producing less than non-MC-producing strains of *M. aeruginosa*.
3. The lower suppression of MC-producing than non-MC-producing *M. aeruginosa* strains by polyphenolic allelochemicals is not related to the production of MCs *per se*.
4. The coexistence of MC-producing and non-MC-producing *M. aeruginosa* strains can influence the effects of allelochemicals of *M. spicatum* on *M. aeruginosa*.

Scientific approval. The results of this study were presented at 13 international conferences and seminars: Open lecture at Klaipėda University. Klaipėda, Lithuania, May 2011; SUBMARINER Partner Meeting, Trelleborg, Sweden, May 2011; SUBMARINER Cooperation Event "Present and Potential Uses of Algae", Trelleborg, Sweden, September 2011; Public meeting "Maudyklų vandens kokybės ir kitos aplinkos sveikatinimo bei neinfekcinių ligų profilaktikos aktualijos" Trakai, Lithuania, October 2011; International congress: The 6th World Congress on Allelopathy, Guangzhou, China, December 2011; International conference: International Symposium on Aquatic Plants, Poznan, Poland, August 2012; International conference: Estuarine Coastal and Shelf Science

51st symposium, Klaipėda, Lithuania, September 2012; International conference: 28th annual meeting of International Society of Chemical Ecology, Vilnius, Lithuania, July 2012; National conference: Marine and coastal research, Klaipėda, Lithuania, April 2013; International Conference: 2nd International Conference on Biodiversity and the UN Millennium Development Goals, Berlin, Germany, April 2013; National conference: Intern-ships of doctorate students at scientific centers abroad 2012–2013. Vilnius, Lithuania, October 2013; National conference: Marine and coastal research, Klaipėda, Lithuania, April 2014; International congress: The 7th World Congress on Allelopathy, Vigo, Spain, July 2014.

The dissertation is based on 2 publications, 1 submitted manuscript and 2 manuscripts in preparation.

Structure of the dissertation. The dissertation is presented in the following chapters: Introduction, Literature Review, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions and Bibliography. Bibliography has 201 sources. The dissertation contains 5 tables and 23 figures. The size of the dissertation is 140 pages. Dissertation is written in English with extended summary in Lithuanian and English.

Acknowledgements. I express my honest gratitude to my supervisor Ričardas Paškauskas for his honest and invaluable support. My honest gratitude also goes to Sabine Hilt for giving me an opportunity to work at Leibniz-Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries (IGB) and her invaluable supervision, scientific encouragement and fair criticism. I am thankful to Hans-Peter Grossart for enabling my visit at the IGB Neuglobsow and valuable scientific support. I would also like to thank Jean-François Humbert for the chance to take part in the field study in the Villerest reservoir. I also thank

Olga Anne for her valuable support and encouragement.

My special thanks go to Falk Eigemann for his humour, enthusiastic teaching and ongoing supervision of all my experiments at IGB. I thank Aurélie Villeneuve for her kind supervision at Institut Pasteur and National Institute of Agronomic Research (INRA). I thank Martynas Bučas, Kęstutis Dučinskas, Bert Hidding and Kirsten Pohlmann for advices on statistical analyses. I thank Michael Monaghan and Tom Shatwell for teaching me R! I thank Maria Alp, Artūras Razinkovas - Baziukas, Paul Bukaveckas, Dorothea Fiedler, Evelina Grinienė, Ann-Christin Honnen, Jūratė Lesutienė, Franziska Leunert, Jan Köhler, Aleksas Narščius, Nerijus Nika, Tomas Ruginis, Ivette Salka, Sigitas Šulčius, Diana Vaičiutė, Erikas Visakavičius, Mindaugas Žilius for their scientific, technical and personal support and advice at times they were most necessary.

This work could not have been done without much of the technical and personal support. Barbara Meinck, Thomas Rossoll and Elke Zwirnmann provided excellent guidance at IGB Berlin. Solvig Pinnow provided me excellent support at IGB Neuglobsow. Pascal Perney assisted all sampling surveys in the Villerest reservoir. Stasė Mažeikaitė performed zooplankton counting, Jūratė Karosienė performed phytoplankton identification, Henrike Lorenz, Berta Ortiz Crespo, Aurelija Ivanauskaitė assisted laboratory experiments at IGB Berlin, Modesta Riaukaitė assisted the analyses in the mesocosm study. Thanks to Simona Mačiukaitė, Aušra Tamutė, Edith Tesch and Katrin Lehmann for their priceless assistance with administrative issues. I thank Soren Brothers and Violeta Ptašekienė for linguistic improvements of my manuscripts. I thank Marija Kataržytė and Qian Huang for proof-reading the draft of my thesis. My sincere thanks also go to Aureli-

ja Samuiliovienė, Martynas Bučas and Jūratė Karosienė for reviewing my preliminary thesis. I thank all my colleagues making my workplace a pleasant environment. No doubt there are many other people not mentioned above to be acknowledged. My sincere thanks go to all of them!

Finally, I would like to thank my family and friends for their personal support without which I would not have made this work.

This work was partially supported by the European Social Fund Agency (Project VP1-3.1-ŠMM-08-K-01-019) and FP7 GENESIS grant (No. 223996). Deutsche Bundesstiftung Umwelt (No. 86011/009) and Research Council of Lithuania (Project VP1-3.1-ŠMM-01-V-02-003) financially supported my internships at IGB, Germany. Financial support was provided by Leibniz Association to present part of this work at the International Conference on Biodiversity. Research Council of Lithuania provided financial support to present part of this work at 6th and 7th World Congresses on Allelopathy (Nr. VIZIT-2-KON-078 and DOC-51/2014) and financial incentives in 2011, 2012, 2014 (Nr. DOK-12105 and DOK-14511). Doctorate studies at Klaipėda University were supported by EU Structural Funds (Project Improvement of Training Highly Qualified Specialists Meeting the Needs of State and Society in the Biomedical Field BIOMEDOKT; Nr. VP1-3.1-ŠMM-01-V-03-002).

Materials and Methods

To test the potential effects of the allelopathically active macrophyte *M. spicatum* on *M. aeruginosa* and its toxicity of and to fulfil the objectives of the study (Fig. 1), several field, mesocosm and laboratory studies were combined.

Firstly, a field study was conducted to identify environmental parameters that affect the ratio of toxic *M. aeruginosa*

genotypes in a highly eutrophic Villerest reservoir in France (Fig. 2). Secondly, a 13 days study with 8 mesocosms (4 controls and 4 treatments with *M. spicatum* sets) was performed to evaluate the impact of *M. spicatum* on natural mixed phytoplankton communities sampled from the Curonian lagoon during a cyanobacteria bloom that included different *M. aeruginosa* genotypes. Third, the effects of allelochemicals on MC- and non-MC-producing *M. aeruginosa* were studied by employing tannic acid (TA) bioassays on single *M. aeruginosa* strains and tests with single and mixed MC- and non-MC-producing *M. aeruginosa* strains either treated with allelochemical TA or placed in dialysis bags among *M. spicatum* shoots.

For statistical data analyses cluster analyses were performed using the Ward's Minimum Variance Clustering method based on dissimilarities calculated using the Bray-Curtis index. Associations between variables were sought with Pearson product-moment correlation and multiple linear regression analysis. Differences between factors were checked by employing general linear, generalised least squares and linear mixed effect models, Kruskal-Wallis, Nemenyi post-hoc, Mann-Whitney U and Student's t tests. Normality and homoscedasticity of distributions of data were checked by Shapiro-Wilk and Brown-Forsythe tests, respectively. Data exploration and statistical analyses were performed using *base*, *ggplot2*, *lattice*, *MASS*, *nlme*, *relaimpo* and *vegan* packages in the R Statistical Environment.

Results

Sporadic dense phytoplankton proliferations were observed in the Villerest reservoir. Percentage of MC-producing *M. aeruginosa* genotypes were high till the end of July and declined in the middle of August. The sampling site with vegetation

(no. 8) had on average the lowest percentage of MC-producing *M. aeruginosa* genotypes (Fig. 3), but highest concentrations of cyanobacteria, diatoms and total phytoplankton as compared to other sampling sites (no. 1-7). The proportion of MC-producing *M. aeruginosa* genotypes significantly positively correlated with the solar radiation and cyanobacteria and negatively correlated with water temperature.

Cyanobacteria and green algae initially dominated in the water taken from the Curonian Lagoon for the mesocosm study. Total phytoplankton, green algae and cyanobacteria chlorophyll *a* (Chl *a*) concentrations first declined in both *M. spicatum* and control treatments, but began to increase with rates differing between phytoplankton groups and treatments. Cyanobacteria Chl *a* concentrations were consistently lower in macrophyte treatments throughout the experiment (Fig. 4A). The percentage of MC- and non-MC-producing genotypes in macrophyte treatments with respect to control treatments at the end of the experiment was not significantly different. The biomass of copepods was significantly lower in the presence of *M. spicatum* (Fig. 4B). Both soluble reactive phosphorus and dissolved inorganic nitrogen were significantly lower in *M. spicatum* compared to control treatments throughout the experiment (Fig. 4C and D, respectively).

For the laboratory single strain bioassay tests, both Chl *a* concentrations and maximum quantum yields of the photosystem II (from now on termed photosynthetic yield) were significantly diminished in non-MC-producing relative to MC-producing strains. Half maximal effective TA concentrations based on Chl *a* (EC_{50}) were significantly higher for MC-producing than non-MC-producing strains (Fig. 5). Sensitivity of MC synthesis impaired mutant (PCC 7806 $\Delta mcyB$) to TA was lower than sensitivity of its wild type (PCC 7806) *M.*

aeruginosa strain.

For the laboratory test with single and mixed MC- and non-MC-producing *M. aeruginosa* strains, Chl *a* concentrations and photosynthetic yields in both control and allelopathic treatments were different in few cases in mixed cultures of MC- and non-MC-producing *M. aeruginosa* strains as compared to Chl *a* concentrations and photosynthetic yields calculated from the data of respective single strain cultures.

Discussion

In order to interpret and generalize the observed findings and to draw their theoretical implications, (1) potential factors influencing *M. aeruginosa* toxicity *in situ* were discussed, (2) allelopathic effects of *M. spicatum* on cyanobacteria with particular interest on *M. aeruginosa* under *in situ* like conditions were estimated, (3) the effects of allelochemicals of *M. spicatum* on *M. aeruginosa* strains and the potential role of MCs against inhibitive effects of allelochemicals of *M. spicatum* were estimated, (4) potential factors influencing inhibitory effects of macrophytes and their allelochemicals were discussed (Fig. 6). Finally, gaps of knowledge and future prospectives were identified.

Conclusions

1. The presence of *M. spicatum* reduced the biomass of cyanobacteria, influenced phytoplankton community structure and abundance of certain zooplankton taxa under *in situ* like conditions in our mesocosm study. Despite the partial interference by resource limitation there were indications for an impact of *M. spicatum* excreted allelochemicals on phytoplankton. More mesocosm experiments with complex natural phytoplankton communities are needed to unravel the ecological relevance

of macrophyte allelopathy.

2. TA bioassays on MC- and non-MC-producing *M. aeruginosa* strains showed lower inhibition of MC-producing ($EC_{50} = 28 \text{ mg TA L}^{-1}$) than non-MC-producing ($EC_{50} = 12 \text{ mg TA L}^{-1}$) *M. aeruginosa* strains. This indicates that polyphenolic allelochemicals suppress MC-producing less than non-MC-producing strains of *M. aeruginosa*. This suggests that the use of allelochemicals as artificial treatments to control *M. aeruginosa* blooms, may increase toxicity of *M. aeruginosa* blooms.
3. The lower sensitivity of MC synthesis impaired mutant (PCC 7806 $\Delta mcyB$) than its wild type *M. aeruginosa* strain (PCC 7806) to TA indicates that the lower sensitivity of MC-producing than non-MC-producing *M. aeruginosa* strains to polyphenolic allelochemicals is not related to the production of MCs *per se*, but to other protective mechanisms present in MC-producing *M. aeruginosa* genotypes.
4. The different allelopathic effects of *M. spicatum* on single and mixed MC- and non-MC-producing *M. aeruginosa* strains indicate that the coexistence of MC-producing and non-MC-producing *M. aeruginosa* strains influences effects of allelochemicals of *M. spicatum* on *M. aeruginosa* strains. This suggests that interactions between *M. aeruginosa* genotypes need to be taken into consideration when investigating potential of macrophyte allelochemicals to suppress *M. aeruginosa* blooms.

LIST OF PUBLICATIONS

The dissertation is based on 2 publications, 1 submitted manuscript and 2 manuscripts in preparation:

Tuomainen, M., Ahonen, V., Kärenlampi, S.O., Schat, H., Paasela, T., Švanys, A., Tuohimetsä, S., Peräniemi, S., Tervahauta, A., 2011. Characterization of the glyoxalase 1 gene *TcGLX1* in the metal hyperaccumulator plant *Thlaspi caerulescens*. *Planta* 233(6), 1173-1184.

Švanys, A., Paškauskas, R., Hilt, S., 2014. Effects of the allelopathically active macrophyte *Myriophyllum spicatum* on a natural phytoplankton community: a mesocosm study. *Hydrobiologia* 737(1), 57-66.

Švanys, A., Eigemann, F., Grossart, H.P. and Hilt, S. Lower sensitivities of microcystin- *versus* non-microcystin-producing *Microcystis aeruginosa* strains to allelochemicals are not primarily due to microcystins (submitted).

Švanys, A., Eigemann, F., Grossart, H.P. and Hilt, S. Effects of mixtures of microcystin- and non-microcystin-producing *Microcystis aeruginosa* strains on their allelopathic inhibition by allelochemicals (in preparation).

Švanys, A., Anne, O. et al. Effects of environmental parameters on microcystin-producing *Microcystis aeruginosa* genotypes (in preparation).

ALGIRDAS ŠVANYS: CIRRICULUM VITAE

- Date and place of birth:** 25th April 1986, Kretinga, Lithuania
- Education:** 2010–2015 PhD studies at Klaipėda University
2008–2010 Master’s Degree in Environmental Engineering at Klaipėda University, Lithuania
2004–2008 Bachelor’s Degree in Biochemistry at Vilnius University, Lithuania
- Trainings:** 02/2012–08/2013 Leibniz-Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries, Germany
05/2009–10/2009 Pasteur Institute and National Institute of Agronomic Research, France
08/2007–05/2008 University of Eastern Finland, Finland

Klaipėdos universiteto leidykla

Algirdas Švanys

EFFECTS OF THE ALLELOPATHICALLY ACTIVE MACROPHYTE
MYRIOPHYLLUM SPICATUM ON THE POTENTIALLY TOXIC
CYANOBACTERIUM *MICROCYSTIS AERUGINOSA*

Summary of doctoral dissertation

ALELOPATIŠKAI AKTYVAUS MAKROFITO *MYRIOPHYLLUM SPICATUM*
POVEIKIS POTENCIALIAI TOKSIŠKAI *MICROCYSTIS AERUGINOSA*
MELSVABAKTEREI

Daktaro disertacijos santrauka

Klaipėda, 2015

SL 1335. 2015 10 22. Apimtis 2,25 sąl. sp. l. Tiražas 70 egz.

Išleido ir spausdino Klaipėdos universiteto leidykla, Herkaus Manto g. 84, 92294 Klaipėda

Tel. (8 46) 398 891, el. paštas: leidykla@ku.lt; interneto adresas: <http://www.ku.lt/leidykla/>

