

1. Imię i nazwisko

Iwona Dorota Jasser

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

1991 – uzyskanie stopnia magistra biologii, Zakład Hydrobiologii, Instytut Zoologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski. Tytuł pracy magisterskiej: „Zależności pomiędzy fitoplanktonem a makrofitami”, promotor: prof. dr hab. Ewa Pieczyńska, opiekun: dr Andrzej Kowalczewski

1999 – uzyskanie stopnia doktora nauk biologicznych: Instytut Ekologii PAN. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Zmiany struktury i funkcji pikoplanktonu w jeziorach różnej trofii”, promotor: prof. dr hab. Anna Hillbricht-Ilkowska.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych.

1991–2000 – asystent, starszy asystent, Zakład Hydrobiologii, Instytut Ekologii, PAN

1998–2000 – visiting researcher, Uniwersytet Helsiński, Stacja Biologiczna Lammi

2000–2002 – adiunkt, Zakład Hydrobiologii, Instytut Ekologii, PAN

2003–2004 – adiunkt, Centrum Badań Ekologicznych, PAN.

2004 – do chwili obecnej – adiunkt, Zakład Ekologii Mikroorganizmów, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

4. Wskazanie osiągnięcia naukowego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

Cykl pięciu publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego pod tytułem „**Ekofizjologiczna i genetyczna różnorodność pikocyjanobakterii w wodach słodkich**”. Badania zawarte w pierwszej z publikacji były finansowane z grantu CIMO (w Finlandii), którego byłam kierownikiem. Badania zawarte w trzech kolejnych publikacjach były wykonywane w ramach projektu badawczego finansowanego przez MNiSW, którego byłam kierownikiem. Piąta publikacja jest wynikiem badań finansowanych przez grant MNiSW, którego byłam kierownikiem i grant N304 102240, którego kierownikiem był prof. dr hab. Ryszard Chróst.

1. **Jasser I. & Arvola L.** 2003. Potential effects of abiotic factors on the abundance of autotrophic picoplankton in four boreal lakes. *Journal of Plankton Research* 25: 873–883 (IF₂₀₀₃ = 1,56; MNiSW₂₀₁₃ = 30)

Jestem autorką koncepcji pracy, zaplanowałam metodykę badawczą, wykonałam analizy mikroskopowe autotroficznego pikoplanktonu i fitoplanktonu, opracowałam

wyniki i wykonałam część rysunków. Byłam osobą piszącą pracę i przygotowującą ją do druku oraz autorem korespondencyjnym. Mój udział szacuję na 80%.

2. **Jasser I.**, Karnkowska-Ishikawa A., Kozłowska E., Królicka A. & Łukomska-Kowalczyk M. 2010. Composition of picocyanobacteria community in The Great Mazurian Lakes: isolation of phycoerythrin-rich and phycocyanin-rich ecotypes from the system – comparison of two methods. *Polish Journal of Microbiology* 59: 21–31 (IF₂₀₁₀= 0,66; MNiSW₂₀₁₃ = 15)

Jestem autorką koncepcji pracy, zaplanowałam metodykę badawczą w tym modyfikację metody cytometrycznej, brałam udział w izolacji pikocyjanobakterii i w analizach mikroskopowych (M. Łukomska-Kowalczyk wykonywała pracę magisterską pod moim kierunkiem), brałam udział w przygotowaniu wyników do publikacji, byłam autorką rysunków (poza drzewami filogenetycznymi) oraz osobą piszącą pracę, a także autorem korespondencyjnym. Mój udział szacuję na 55%.

3. **Jasser I.**, Królicka A., & Karnkowska-Ishikawa A. 2011. A novel phylogenetic clade of picocyanobacteria from the Mazurian lakes (Poland) reflects the early ontogeny of glacial lakes. *FEMS Microbiology and Ecology* 75: 89–98 (IF₂₀₁₁= 3,46; MNiSW₂₀₁₃ = 35)

Jestem autorką koncepcji pracy i sformułowałam hipotezy badawcze. Wybrałam i zaplanowałam metodykę badawczą, dostarczyłam do analiz filogenetycznych szczepy pikocyjanobakterii wyizolowane w ramach projektu badawczego, którego byłam kierownikiem. Brałam udział w opracowaniu wyników. Byłam główną osobą piszącą pracę i przygotowującą ją do druku oraz autorem korespondencyjnym. Mój udział w tej publikacji szacuję na 60%.

4. **Jasser I.**, Karnkowska-Ishikawa A. & Chróst R.J. 2013. Do acid-tolerant picocyanobacteria exist? Isolation of picocyanobacteria from low-pH humic lakes. *Hydrobiologia* 707: 209–218 (IF₂₀₁₂= 1,985; MNiSW₂₀₁₃ = 30)

Jestem autorką koncepcji pracy, dostarczyłam do analiz szczepy wyizolowane pod moim kierunkiem. Byłam wraz z Anną Karnkowską-Ishikawą autorką planowania i wykonania eksperymentów. Przeprowadziłam analizy mikroskopowe pikocyjanobakterii i opracowałam wyniki, przeprowadziłam część analiz statystycznych. Byłam autorką rysunków (poza drzewami filogenetycznymi), główną osobą piszącą pracę i autorem korespondencyjnym. Mój udział w tej pracy szacuję na 65%.

5. **Jasser I.**, Królicka A., Jakubiec K. & Chróst R.J. 2013. Seasonal and spatial diversity of picocyanobacteria community in the Great Mazurian Lake system derived from DGGE analyses of 16S rDNA and *cpcBA*-IGS markers. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 23: 739–749 (IF₂₀₁₃= 1,381; MNiSW₂₀₁₃ = 20)

Praca była finansowana w ramach mojego projektu badawczego i częściowo w ramach projektu: N304 102240 (kierownik Ryszard Chróst). Jestem autorką koncepcji pracy oraz planowania i wyboru metodyki badawczej, sformułowałam hipotezy

badawcze. Brałam udział w analizach mikroskopowych pikocyjanobakterii, przeprowadziłam analizę densytometryczną profili żelowych po DGGE i analizy statystyczne oraz jestem autorką części rysunków (poza drzewami podobieństwa). Byłam główną osobą piszącą pracę i autorem korespondencyjnym. Mój udział w tej pracy szacuję na 65%.

Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wytłuszczonym drukiem zaznaczyłam osiągnięcia zawarte w cyklu publikacji

Wstęp

Koncepcja różnorodności biologicznej odgrywa istotną rolę w ekologii. Można ją rozpatrywać jako sumę różnorodnych form życia na wszystkich poziomach biologicznych układów od molekuł, organizmów, populacji, gatunków, zespołów do ekosystemów (Wilcox 1984). Termin ten zastąpiony został wkrótce przez 'bioróżnorodność' i wprowadzony do powszechnego użycia przez Wilsona (1988). Według niektórych autorów właśnie z bioróżnorodnością (Naeem i in. 1995, Tilman i in. 1996) wiążą się takie parametry charakteryzujące ekosystem jak stabilność, odporność (elastyczność), przewidywalność i produktywność, choć inni autorzy łączą te cechy ekosystemów raczej z funkcjonalną różnorodnością organizmów w nich występujących (Hooper & Vitousek 1997, Wardle i in. 1997). Jednak ostatnie wyniki badań roślinności prowadzonych na terenach stepowych potwierdzają pierwszy pogląd wykazując, że stabilność ekosystemu i odporność na zmiany jest zawiązana z liczbą gatunków w nich występujących (Maestre i in. 2012).

W sytuacji więc, gdy różnorodność gatunkowa i genetyczna w skali lokalnej jak i skali globalnej stale maleje, a jej związek z produktywnością, stabilnością i innymi parametrami ekosystemów jest nierozstrzygnięty (Grime 1997), badania różnych aspektów różnorodności są od lat w centrum zainteresowania ekologów. Są one bardzo ważne zarówno z punktu widzenia wiedzy podstawowej, umożliwiając zrozumienie procesów zachodzących w danym środowisku i leżących u podstaw funkcjonowania ekosystemów oraz w kontekście biologii konserwatorskiej (conservation biology) dając naukowe podstawy do działań w zakresie szeroko pojętej ochrony ekosystemów (Garcia-Pichel i in. 2000). Niestety badania różnorodności mikroorganizmów: m.in. bakterii i pikocyjanobakterii, w związku z trudnościami

zarówno w ich identyfikacji jak i ilościowej analizie, długo pozostawały w tyle za badaniami innych, większych organizmów. Dopiero rozwój mikroskopii fluorescencyjnej i cytometrii przepływowej oraz metod molekularnych i ich aplikacja w badaniach środowiskowych umożliwiły poszerzenie badań nad różnorodnością także o te obiekty badawcze.

Poniższy zbiór prac, będących podstawą mojego postępowania habilitacyjnego, obejmuje zagadnienia związane z różnorodnością pikocyjanobakterii, najmniejszych organizmów przeprowadzających tlenową fotosyntezę w środowisku wodnym. Celem badań jest przedstawienie różnorodności ekofizjologicznej, czyli przejawiającej się w fizjologii tych mikroorganizmów na tle warunków środowiskowych w jakich żyją i różnorodności genetycznej opartej na analizie wybranych genów markerowych.

Pikocyjanobakterie jako składnik planktonu

Organizmy planktonowe można podzielić ze względu na: i) ich przynależność taksonomiczną, ii) fizjologię i funkcję jaką pełnią w sieci troficznej lub iii) ze względu na wielkość. Podział wielkościowy opiera się na schemacie zgodnym ze skalą logarytmiczną, w którym pikoplankton (0,2 a 2,0 μm) stanowi najmniejszą frakcję komórkową i zawiera komponent heterotroficzny (bakterie i wiciowce) oraz autotroficzny. Do tego ostatniego należą zarówno organizmy prokariotyczne – cyjanobakterie (których wielkość jest w granicach 1 μm) jak i eukariotyczne, należące do różnych grup taksonomicznych i o wielkości blisko górnej granicy określonej dla pikoplanktonu. Przedstawiciele autotroficznego pikoplanktonu występują zarówno w morzach i oceanach, jak i w wodach słodkich. W większości środowisk wodnych liczebnie dominują wśród nich nietworzące zakwitów pikocyjanobakterie (Callieri 2007), będące obiektem badań prezentowanych jako osiągnięcie naukowe w ramach tego postępowania habilitacyjnego.

Choć informacje wskazujące na obecność w planktonie wód tych najmniejszych fotoautotrofów pojawiały się w literaturze od lat 50-tych (Rodhe 1955) dopiero wyizolowanie i scharakteryzowanie u schyłku lat 70-tych cyjanobakterii z rodzaju *Synechococcus* przez dwa niezależne zespoły badawcze (Johnson & Sieburth 1979, Waterbury i in. 1979), zapoczątkowało właściwy okres badań

pikocyjanobakterii. Badania rozwijały się gwałtownie dzięki upowszechnieniu mikroskopu epifluorescencyjnego, cytometrii przepływowej, zastosowaniu mikroskopu elektronowego, immunofluorescencji i chromatograficznej analizy barwników fotosyntetycznych (Callieri & Stockner 2002). Autotroficzny pikoplankton wraz z dominującymi zwykle liczebnie pikocyjanobakteriami uznany został za bardzo ważny element dla funkcjonowania ekosystemów wodnych, szczególnie w wodach o niskim statusie troficznym (Agawin i in. 2000, Bell & Kalff 2001).

Małe rozmiary komórek mają wpływ na korzystania z zasobów środowiskowych przez pikoplankton. Konsekwencją małych rozmiarów komórek jest m.in. korzystny stosunek powierzchni do objętości. Umożliwia on pobieranie związków biogenych występujących w środowisku nawet w bardzo małych stężeniach i wydajne wykorzystanie ich do wzrostu, wpływa na wydajność absorpcji i transformacji fotonów, poprzez mniejsze koszty pozyskania zasobów (energii, C, N, Fe, Mn, Cu) i umożliwia osiągnięcie maksimum fotosyntetycznego przy niższej intensywności światła niż ma to miejsce w przypadku większych komórek fitoplanktonowych, nie ma bowiem efektu 'upakowania' – samozacieniania w komórkach. Podsumowując, małe rozmiary powodują, że zasoby są pobierane i wykorzystywane do wzrostu znacznie wydajniej niż u większych komórek (Raven 1998). Daje to pikocyjanobakteriom przewagę konkurencyjną nad większym fitoplanktonem szczególnie w środowiskach mało żyznych. Małe rozmiary oraz niskie koszty metaboliczne utrzymania komórek prokariotycznych tłumaczą również ich dominację w wodach oligotroficznym (Callieri & Stockner 2000).

Jednak także w wodach o wysokim statusie troficznym pikocyjanobakterie mogą okazjonalnie osiągać dużą biomasę i mieć duży udział w łącznej biomacie fitoplanktonu (Carrick & Schelske 1997). Pikocyjanobakterie stanowią pokarm głównie dla nanowiciowców i orzęsków, czyli konsumentów w obrębie pętli mikrobiologicznej, a tylko w niewielkim stopniu są zjadane przez większy zooplankton. Jednak szczególnie w okresach, gdy fitoplankton jest zdominowany przez niejadalne formy np. nitkowate i/lub toksyczne taksony, poprzez zależności w obrębie mikrobiologicznych sieci troficznych, lub bezpośrednio poprzez wyjadanie przez Cladocera, pikocyjanobakterie mogą stanowić główne źródło węgla organicznego dla wyższych poziomów troficznych (Callieri & Stockner 2002).

Również badania prowadzone przeze mnie wykazały, że pikocyjanobakterie mogą okresowo odgrywać dużą rolę także w zeutrofizowanych środowiskach. I tak udział autotroficznego pikoplanktonu, zdominowanego przez pikocyjanobakterie, w ogólnej biomasy fitoplanktonu nawet w eutroficznym Jeziorze Mikołajskim dochodził w czasie fazy czystej wody, tzn. w czasie gdy biomasa fitoplanktonu jest silnie ograniczona z powodu presji konsumentów, do kilkunastu procent objętości fitoplanktonu i do ponad 60% stężenia chlorofilu *a* (Jasser 2002). W kolejnych badaniach wykazałam natomiast, że w słonawych wodach Morza Bałtyckiego pikocyjanobakterie okazały się być bardzo istotnym składnikiem zespołu fitoplanktonu współwystępując z toksycznym gatunkiem cyjanobakterii nitkowatej, *Nodularia spumigena* i stanowiąc w czasie zakwitnięcia tej ostatniej, nawet do 50% biomasy sinic wyliczonej na podstawie analiz mikroskopowych (Mazur-Marzec i in. 2013).

Czynniki środowiskowe wpływające na występowanie pikocyjanobakterii

Ponieważ pikocyjanobakterie są organizmami fotoautotroficznymi, podstawowymi czynnikami środowiskowymi wpływającymi na ich wzrost i podziały komórkowe są światło, temperatura i stężenie związków mineralnych. Dlatego też dostępność, intensywność i jakość światła, tj. spektrum fal w wodach, a także stężenie związków biogenych, są zwykle analizowane jako podstawowe czynniki środowiskowe. Wyniki badań wskazują, że szczególnie w głębokich jeziorach oraz w jeziorach o słabej penetracji światła, np. jeziorach humusowych, maksymalne liczebności pikocyjanobakterii były notowane w czasie stratyfikacji termicznej, kiedy pikocyjanobakterie nie były narażone na przebywanie w głębokich, słabo naświetlonych warstwach wody (Kukkonen i in. 1997). **Moje badania prowadzone w jeziorach borealnych, w Finlandii wykazały, że dostępność światła jako względna miara, na którą składają się długość dnia, głębokość mieszania oraz głębokość strefy eufotycznej, a nie np. stężenie związków biogenych występujące w tym czasie, ma kluczowe znaczenie dla tempa wzrostu pikocyjanobakterii wiosną w głębokich jeziorach (Jasser & Arvola 2003). Badania te pozwoliły powiązać zmiany notowane w występowaniu i liczebności pikocyjanobakterii z czynnikami środowiskowymi zgodnie z zależnościami proponowanymi w ramach modelu PEG, opracowanego dla sezonowych zmian**

planktonu w jeziorach eutroficznych klimatu umiarkowanego (Sommer i in. 1986). Model ten nie obejmował jednak organizmów pikoplanktonowych. Analogie do modelu PEG w sezonowym występowaniu pikocyjanobakterii zauważone przeze mnie były jednym z pierwszych, jeśli nie pierwszym krokiem, aby włączyć te autotroficzne mikroorganizmy pikoplanktonowe do powszechnie przyjętych teorii ekologicznych. Później powróciłam do tego modelu na etapie badania różnorodności genetycznej pikocyjanobakterii, co jest omówionej niżej. Także badania prowadzone później przez różnych badaczy wykazały, że podstawowymi czynnikami wpływającymi na występowanie, liczebność i dynamikę pikocyjanobakterii są światło i temperatura (Moser i in. 2009), natomiast stężenie związków biogenych było mniej istotne.

Z kolei analiza występowania pikocyjanobakterii w wodach o różnym statusie troficznym i przezroczystości wskazały na pewne reguły dotyczące proporcji pomiędzy fenotypami zawierającymi fikoerytrynę (PE) albo fikocyanię (PC) jako dominujące barwniki akcesoryczne. W środowiskach zeutrofizowanych i o większej mętności wody miały dominować fenotypy zawierające głównie PC, natomiast w mniej żyznych o przezroczystych wodach – fenotypy bogate w PE (Vörös i in. 1998, Stomp i in. 2007). Jak wykazali Vörös i in. (1998) udział pikocyjanobakterii bogatych w PC wzrastał wraz ze statusem troficznym jezior i przy stężeniu chlorofilu *a* ok 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ zespół pikocyjanobakterii zdominowany był głównie przez ten ostatni fenotyp. Z kolei Stomp i in. (2007) stwierdzili, że zmiany w spektrum światła pod powierzchnią wody zależą w dużym stopniu od tzw. mętności tła ‘background turbidity’. Zgodnie z zaproponowanym modelem przewidzieli, że fenotyp PE powinien dominować w przejrzystych wodach o niskiej produktywności, a PC w wodach eutroficznych o dużej mętności, natomiast w warunkach pośrednich należy się spodziewać współwystępowania obydwu fenotypów korzystających z różnych nisz ekologicznych. **Jednak wyniki moich badań pikocyjanobakterii z jezior mazurskich nie do końca potwierdzały założenia przedstawionego modelu (Jasser i in. 2010). Stężenie chlorofilu *a* i średni indeks statusu troficznego Carlsona (TSI) wykazały, że status troficzny jezior mazurskich wahał się od mezotrofii do zaawansowanej eutrofii, jednak udział pikocyjanobakterii bogatych w fikoerytrynę był znacznie wyższy niż oczekiwany zgodnie z modelem i wynosił średnio około 80%, wahając się od 70 do 90% (Jasser i in. 2010). Był on**

więc bardziej charakterystyczny dla środowisk mniej żyznych i o większej przezroczystości wody niż notowane są w jeziorach mazurskich. Rozbieżności te tłumaczyłam faktem bardzo niskiej mętności tła ‘background turbidity’ wody w jeziorach mazurskich, która pomimo stosunkowo wysokiej produktywności tych jezior, była bliżej wartości notowanych w jeziorach podalpejskich niż w eutroficznych jeziorach nizinnych (Jasser i in. 2011).

Identyfikacja pikocyjanobakterii i jej znaczenie dla badania różnorodności

Trudności w identyfikacji pikocyjanobakterii wynikają z ich bardzo małych rozmiarów oraz z małej liczby cech diagnostycznych jakimi w ogóle charakteryzują się prokariota, a w szczególności jednokomórkowe sinice. Z tego powodu w badaniach ekologicznych dotyczących autotroficznego pikoplanktonu, szczególnie pikocyjanobakterii, zespół tych mikroorganizmów, podobnie jak bakterie, był traktowany zwykle jako swoista ‘czarna skrzynka’. Pozostaje to w kontraście w stosunku do większych cyjanobakterii, które pomimo tego, że również są organizmami prokariotycznymi, posiadają cechy diagnostyczne związane z organizacją komórek w niciach czy koloniach oraz obecnością wyspecjalizowanych komórek; heterocytów i akinet. Dzięki temu zajmowały one od lat poczesne miejsce w badaniach różnorodności fitoplanktonu. Natomiast cechy diagnostyczne stosowane do charakterystyki taksonomicznej pikocyjanobakterii to zaledwie wielkość i kształt komórek, sposób podziału, obecność podziałów asymetrycznych czy występowanie w hodowli w warunkach sub-optimalnych komórek o wydłużonym, nieregularnym kształcie (Komárek i in. 1999). Innymi analizowanymi własnościami proponowanymi przez tych autorów zgodnie z tzw. podejściem wieloaspektowym ‘polyphasic approach’ jest ułożenie tylakoidów, udział zasad G+C w DNA, czy oporność na określone cyjanofagi. Analiza ta, wykazując dużą zgodność pomiędzy cytomorfologicznymi i molekularnymi cechami, umożliwia identyfikację pikocyjanobakterii słodkowodnych do takich rodzajów jak *Cyanobium*, *Synechococcus* i *Cyanothece diana/cedrorum*. Jednak jest czasochłonna, angażująca wiele technik badawczych i wymagająca hodowli czystych kultur.

W badaniach środowiskowych natomiast jedną z cech, obok wielkości i kształtu, która była długo używana do identyfikacji, a także wstępnej charakterystyki zespołu pikocyjanobakterii była obecność w komórkach pikocyjanobakterii

fikobilisomów zawierających w różnych proporcjach wspomniane wyżej dodatkowe barwniki fotosyntetyczne charakterystyczne dla cyjanobakterii – fikocyjaninę (PC) i fikocyjaninę (PE). Barwniki te mają różne maksima absorpcji światła i powodują, iż pikocyjanobakterie zawierające jako dominujący barwnik dodatkowy PE lub PC fluorescują w odmienny sposób po pobudzeniu falami o określonej długości. Do ich identyfikacji stosuje się zwykle niebieskie (Filtr B-2A: EX450–490, DM510, BA520) lub zielone (Filtr G-2A: EX510–KP560, DM580, BA590) światło wzbudzające. Ponieważ jednak komórki zawierające PC są często słabo widoczne w niebieskim świetle, a zawierające PE są trudno odróżnialne od PC w zielonym, wymaga to stosowania dwóch filtrów. **Natomiast, zaproponowane przeze mnie, zastosowanie filtra CY3 (HYQ) nie wykorzystywanego do tej pory w badaniach pikocyjanobakterii, o wąskim pasie ekscytacji i emisji (EX530–560, DM570, BA573–648), umożliwiło przy użyciu tylko jednego filtra stosunkowo łatwe rozróżnienie obu fenotypów pikocyjanobakterii w próbach środowiskowych (Jasser i in. 2010).**

Dopiero jednak zdobycze biologii molekularnej i zastosowanie metod molekularnych w ekologii dało badaczom narzędzia umożliwiające pełniejsze zajrzenie do ‘czarnej skrzynki’ zespołów tych mikroorganizmów w środowisku i zapoczątkowało badania dotyczące różnorodności pikocyjanobakterii. W konsekwencji pozwoliło to spojrzeć na te mikroorganizmy przez pryzmat znanych hipotez i przyjętych teorii ekologicznych.

Początkowo badania różnorodności z użyciem analiz molekularnych wiązały się z izolacją pikocyjanobakterii ze środowiska i ich hodowlą (Ernst i in. 1995, Becker i in. 2002, Crosbie i in. 2003b), a następnie przeprowadzeniem wybranych analiz molekularnych takich jak analiza polimorfizmu fragmentów restrykcyjnych RFLP, sekwencjonowanie określonych fragmentów lub całego rDNA bądź innych genów markerowych. Badania te umożliwiły scharakteryzowanie wyizolowanych szczepów pod względem wybranych fragmentów ich genotypu a także porównanie szczepów pochodzących z różnych hodowli czy ze środowiska. I tak, Ernst wraz ze współpracownikami (1995), przy pomocy analizy RFLP odcinka genu z rodziny *psbA* rozdzielili hodowane szczepy i odnaleźli odzwierciedlenie różnic w strukturze błony komórkowej w genotypach tych szczepów (Ernst i in. 1996). Analizy silnie konserwowanego genu, 16S rDNA, tj. mało zmiennego fragmentu rDNA

stosowanego w badaniach filogenetycznych, zapoczątkowały także tworzenie podstaw do badania różnorodności pikocyjanobakterii poprzez konstrukcję drzew filogenetycznych i zaowocowały podziałem pikocyjanobakterii na kilka morskich i słodkowodnych klastrow (Herdman i in. 2001). Kolejne badania pozwoliły wyróżnić powszechnie występujące i unikatowe klastry i sekwencje wśród słodkowodnych i morskich pikocyjanobakterii (Crosbie i in. 2003a, Haverkamp i in. 2008, Sánchez-Baracaldo i in. 2008). **Także ja podjęłam próbę izolacji pikocyjanobakterii w celu zbadania ich różnorodności. Do izolacji szczepów z Wielkich Jezior Mazurskich zastosowałam dwie metody: ‘klasyczną’ izolację stosowaną w mikrobiologii tzn. izolację szalkową na pożywce z agarem oraz metodę izolacji przy pomocy cytometru przepływowego. Ta druga metoda była inspirowana publikacją Crosbie i in. (2003b). Metoda ta została jednak zmodyfikowana przeze mnie i dostosowana do wykorzystania prostego cytometru przepływowego typu FaxCalibur, co uczyniło ją potencjalnie dostępną dla większej liczby badaczy i laboratoriów środowiskowych (Jasser i in. 2010). Porównanie tych dwóch metod wykazało, że stosując metodę cytometryczną łatwiej jest wyizolować pikocyjanobakterie bogate w PE, które są bardzo trudne do hodowli na agarze i w rezultacie są niezwykle rzadkie w kolekcjach kultur. W wyniku izolacji udało nam się pozyskać ponad 50 monoklonalnych izolatów pikocyjanobakterii, wśród których było aż kilkanaście bogatych w fikoerytrynę. Scharakteryzowane szczepy bogate w fikoerytrynę w liczbie 12 są obecnie hodowane w naszej kolekcji kultur. Badanie te wykazały także, że pożywka WC, która jest znacznie uboższa w związki biogenne niż pożywki zwykle używane w hodowli cyjanobakterii (takie jak BG11 czy Z8) i o stosunku N/P bliskim współczynnika Redfielda, jest najbardziej wybiórczą pożywką przydatną do izolacji pikocyjanobakterii (Jasser i in. 2010).**

Przeprowadzona w ramach moich badań analiza 16S rDNA izolatów pozwoliła przypisać część z nich do wcześniej opisanych, kosmopolitycznych kładów (A, B, D i E). Kilka szczepów wyizolowanych z jezior mazurskich zgrupowało się z izolatami pochodzącymi z eutroficznych zbiorników zaporowych z Czech – i te zostały prowizorycznie nazwane Grupą Cz. Okazało się także, że kilkanaście izolatów uformowało nowy, silnie podparty kład nazwany przez nas dla zaznaczenia ich pochodzenia – Grupą M (Jasser i in.

2011). Grupę tę, wyznaczoną na podstawie analizy odcinka 16S rDNA o długości 1400 pz (prawie cała sekwencja 16S rDNA pikocyjanobakterii), utworzyły tylko izolaty pochodzące z jezior mazurskich i żadne inne sekwencje podobnej długości dostępne w bazach danych nie wykazały podobieństwa umożliwiające włączenie ich do niej, ani na etapie tych badań ani później (Jasser i in. 2013a). Do ‘rybogrupy’ M (tzn. grupy filogenetycznej wyróżnionej na podstawie analizy 16S rDNA) należały pikocyjanobakterie zarówno bogate w fikoerytrynę jak i bogate w fikocyjaninę. Biorąc pod uwagę historię powstania jezior mazurskich, tzn. ich polodowcowy charakter oraz czasową izolację sugeruje to endemiczność tej grupy i w konsekwencji występowanie barier geograficznych dla pikocyjanobakterii. Podobne wyniki wskazujące na endemiczność pikocyjanobakterii w pewnych środowiskach wodnych wykazywali inni badacze; Ivanikova i in. (2007) w przypadku jeziora Superior w Ameryce Północnej oraz Choi i Noh (2009) w przypadku Morza Wschodnio Chińskiego. Co więcej ci ostatni autorzy postulowali istnienie niewidzialnych barier geograficznych umożliwiające niezależną ewolucję występującego tam *Synechococcus* nawet w tak pozornie homogenym środowisku jak środowisko morskie.

Analiza odcinka operonu fikocyjaniny *cpcBA*-IGS przeprowadzona w ramach moich badań wykazała natomiast, że do Grupy M wydzielonej właśnie na podstawie analizy tego operonu należały tylko szczepy zielone, czyli bogate w fikocyjaninę. Długość odcinka IGS, która jest charakterystyczna dla każdej grupy wynosiła dla tych szczepów 97 pz. Natomiast szczepy czerwone, bogate w fikoerytrynę przypisane do ‘rybogrupy’ M na podstawie operonu fikocyjaniny należały do kosmopolitycznych Grup B lub E i charakteryzowały się IGS o długości odpowiednio 42 i 38 pz (Jasser i in. 2011). Na podstawie tych analiz wysnułam hipotezę, że szczepy należące do ‘rybogrupy’ M były oryginalnie zielone, zawierając jako barwnik dodatkowy tylko fikocyjaninę. Jednak w trakcie ewolucji od innych szczepów obecnych w środowisku uzyskały, np. na drodze horyzontalnego transferu genów, geny kodujące fikoerytrynę. Taki scenariusz ewolucyjny, tzn. możliwość horyzontalnego transferu genów kodujących pałeczki fikobilisomów (zawierające fikoerytrynę lub fikocyjaninę) był proponowany przez Six i in. (2007) dla morskich pikocyjanobakterii. Miał on umożliwić im szybką adaptację do zmian w środowisku. Fikocyjanina umożliwia

cyjanobakteriom korzystanie z dłuższych fal światła (światło pomarańczowo-czerwone) a więc charakterystycznych dla środowiska żyznego i/lub mętnego, natomiast fikoerytryna pozwala na efektywne wykorzystanie światła o krótszej długości fal (zielono-żółtego) przeważającego w jeziorach o mniejszej mętności i niższej produktywności (Vörös i in. 1998). Choć jeziora a polodowcowe w swojej ontogenezie przechodzą fazy typowe dla scenariusza Lindemana (1942) zmieniając się od oligotrofii do eutrofii, jednak na początku swojej ewolucji przechodzą często pomijany okres dużej zawartości związków organicznych, wysokiej produktywności i związanej z tym dużej mętności wód (Whiteside 1983). Biorąc więc pod uwagę początkową żyzność i mętność jezior polodowcowych wydaje się więc, że endemiczne szczepy pikocyjanobakterii w jeziorach mazurskich mogły być zielone. Natomiast w trakcie oligotrofizacji środowiska i związanej z tym poprawy warunków świetlnych w wodach, korzystne dla szczepów pikocyjanobakterii było posiadanie fikoerytryny. Zdolność do jej produkcji mogła być pozyskana na drodze horyzontalnego transferu genów zgodnie ze scenariuszem proponowanym przez Six i in. (2007) w rezultacie skutkując szczepami PC i PE w ‘rybogrupie’ M.

W ten sposób wyniki moich badań sugerują, że filogeneza oraz genetyczna i fenotypowa różnorodność pikocyjanobakterii z Grupy M odzwierciedla ontogenezę jezior polodowcowych i adaptację *Synechococcus* do zmiennego środowiska, które były związane z etapami rozwoju jezior polodowcowych (Jasser i in. 2011).

Kolejnym krokiem w badaniach różnorodności pikocyjanobakterii było wprowadzenie badań niezależnych od izolacji i hodowli mikroorganizmów i polegało ono na izolacji DNA z próbek środowiskowych i/albo klonowaniu wybranych fragmentów DNA lub stosowaniu metod odcisku palca (fingerprinting), takich jak elektroforeza w gradiencie denaturującym (DGGE) lub elektroforeza w gradiencie termicznym (TGGE), T-RFLP czy ARISA (automatyczna analiza niekodującego odcinka międzygenowego-ITS), (Rocap i in. 2002, Becker i in. 2002, Callieri i in. 2012, Caravati i in. 2010).

Oprócz uniezależnienia się od izolacji i hodowli mikroorganizmów w laboratorium, co jest istotne, gdyż tylko niewielki procent mikroorganizmów daje się hodować, metody te zakładają, że analizie poddawane są bardziej zmienne fragmenty

DNA niż 16S rDNA. Te ostatnie, jako silnie konserwowane, wykazują bardzo wysoki stopień podobieństwa u pikocyjanobakterii i nie odzwierciedlają rzeczywistej różnorodności genetycznej tych mikroorganizmów. Metoda DGGE/TGGE umożliwia rozdzielanie w żelu poliakrylamidowym odcinków DNA o takiej samej długości, lecz różniących się sekwencją nukleotydów i jest często stosowana w badaniach zmian w genetycznej różnorodności mikroorganizmów w środowisku (Muyzer 1999). Becker i in. (2002) stosując m.in. tę metodę dla fragmentu rDNA-ITS, wykazali po raz pierwszy zmienność populacji i subpopulacji pikocyjanobakterii w głębokim jeziorze podalpejskim, Jeziorze Bodeńskim. W późniejszych badaniach przeprowadzonych w tym samym jeziorze przy użyciu DGGE, obok innych metod, Becker i in. (2012) porównali zmienność pikocyjanobakterii, należących do blisko spokrewnionych kladów, w różnych niszach ekologicznych pelagialu i litoralu. Z kolei Caravati i in. (2010) wykorzystując analizę ARISA, opierającą się na rozróżnieniu odcinków rDNA-ITS o różnej długości, wykazali w kompleksie andyjskich jezior glacialnych różnice w różnorodności zespołów pikocyjanobakterii w różnych siedliskach.

Także moje badania przyczyniły się do rozpoznania różnorodności genetycznej pikocyjanobakterii w środowisku, niezależnie od hodowli (Jasser i in. 2013b). W badaniach pikocyjanobakterii z jezior mazurskich na podstawie analizy DGGE niekodującego fragmentu operonu rybosomalnego (rDNA-ITS) oraz fragmentu operonu fikocyjaniny *cpcBA*-IGS, wykazałam różnice w występowaniu unikatowych, częstych i powszechnych sekwencji. Pikocyjanobakterie charakteryzowały się większą różnorodnością w czasie i przestrzeni pod względem operonu rybosomalnego, w ramach którego stwierdzono więcej unikatowych sekwencji niż w przypadku operonu fikocyjaniny, w którym zanotowano większy udział sekwencji częstych i powszechnych. Wydaje się więc to być w zgodzie z wynikami poprzednich badań (Jasser i in. 2011) i wskazuje na zdolność pikocyjanobakterii do adaptacji do warunków środowiskowych. W badaniach tych stwierdziłam również, że różnice w różnorodności zespołu pikocyjanobakterii związane z sezonem/czasem były większe niż różnice związane ze statusem troficznym jezior. Wydaje się więc, że czynniki środowiskowe związane z klimatem i fizycznymi cechami środowiska mają większe znaczenie dla kształtowania różnorodności i struktury zespołu pikocyjanobakterii niż czynniki związane z produktywnością jezior. Ponadto

zwróciłam uwagę, że zarówno zmiany sezonowe oraz różnorodności pikocyjanobakterii i struktury tego zespołu można tłumaczyć przez powszechnie znane hipotezy ekologiczne, które w chwili powstania nie uwzględniały pikoplanktonu. Należą do nich: model Plankton Ecology Group (PEG) opisujący stadia sukcesji sezonowej planktonu w eutroficznych jeziorach klimatu umiarkowanego oraz hipoteza pośrednich zakłóceń (Intermediate Disturbance Hypothesis – IDH) tłumacząca lokalne zmiany w różnorodności biologicznej intensywnością i ilością zakłóceń warunków środowiskowych (Reynolds i in. 1993).

Pikocyjanobakterie w nietypowych środowiskach i pikocyjanobakterie potencjalnie toksyczne

Ciekawym aspektem ekofizjologicznej i genetycznej różnorodności pikocyjanobakterii jest ich występowanie w różnych środowiskach. Pikocyjanobakterie występują powszechnie w różnych typach wód: od mórz, oceanów i głębokich oligotroficznych jezior, przez silnie zeutrofizowane i płytkie jeziora, wody płynące, starorzecza po zbiorniki zaporowe czy jeziora arktyczne (Callieri i Stockner 2002, Szelaż-Wasielewska 2008, Vincent 2000). Jednak autorzy byli zgodni, że wody o niskim pH są środowiskiem, w którym pikocyjanobakterie nie występują (Callieri i Stockner 2002), a pH 6 jest granicznym stężeniem jonów wodorowych, poniżej którego pikocyjanobakterie nie występują (Søndergaard 1991). **Istniały wprawdzie w literaturze doniesienia, że pikocyjanobakterie notowano w wodach kwaśnych, okazjonalnie nawet w stosunkowo dużych liczebnościach. Wykazali to Steinberg i in. (1998) w Niemczech w jeziorach o pH 5,0 – 4,5. Także w moich badaniach prowadzonych w Finlandii (Jasser & Arvola 2003) w jeziorze Valkea Kotinen (pH 5) zaobserwowałam okresowo bardzo liczne występowanie pikocyjanobakterii. Wyniki te były jednak przyjmowane przez innych badaczy z rezerwą. Ponieważ jednak pikocyjanobakterie były notowane przeze mnie okazjonalnie w kwaśnych wodach także w Polsce, podjęłam próbę ich izolacji. I tak z dwóch jezior o pH ok. 5 wyizolowałam dwa szczepy pikocyjanobakterii – bogaty w fikocyjaninę (PC) – SM0708 z polihumusowego jeziora Smolak Duży oraz bogaty w fikoerytrynę (PE) – KS0708 z oligohumusowego jeziora Kruczy**

Staw. Potwierdziło to występowanie najmniejszych przedstawicieli cyjanobakterii w wodach o pH poniżej 6. Z kolei eksperymenty laboratoryjne z wyizolowanymi szczepami wykazały, że nie tylko niektóre pikocyjanobakterie mogą okazjonalnie występować w środowisku kwaśnym, ale również, że szczepy te mają wyższą tolerancję na niskie pH niż szczepy ze środowisk o odczynie neutralnym lub lekko zasadowych (Jasser i in. 2013a). Na podstawie eksperymentów i analiz filogenetycznych wyizolowanych szczepów wydaje się, że adaptacja do niskiego pH może być utrwalona genetycznie, chociaż nie jest widoczna na podstawie podobieństwa filogenetycznego. Badania sugerują więc potencjał w zespołach pikocyjanobakterii do reagowania na zmiany środowiskowe, takie jak np. zmiany pH w morzach i oceanach. Potencjał ten wydaje się by szczególnie istotny w kontekście obserwowanych zmian klimatu.

Pikocyjanobakterie, inaczej niż większe cyjanobakterie, przez długi czas były traktowane jako organizmy planktonowe nietworzące zakwitów i nie stwarzające zagrożeń dla funkcjonowania ekosystemów oraz dla zdrowia człowieka. Były one, podobnie jak inne drobne, jednokomórkowe cyjanobakterie, traktowane jako obiekt eksperymentalny do badania odpowiedzi mikroorganizmów na różnego typu stres środowiskowy jak np. obecność metali ciężkich czy niskie pH (Pawlik-Skowrońska i in. 1997, Huang i in. 2002). Jednak pod koniec lat 90-tych ubiegłego wieku i w pierwszych latach XXI wieku pojawiły się doniesienia, że pikocyjanobakterie notowano w wodach, w których stwierdzono duże stężenia mikrocystyn, a także że w warunkach laboratoryjnych u niektórych szczepów potwierdzono zdolność do produkcji hepatotoksyn z grupy mikrocystyn (Domingos i in. 1999, Oudra i in. 2002, Carmichael & Li 2006). Pojawi się tym samym zupełnie nowy aspekt różnorodności pikocyjanobakterii. Za szczególnie istotny uznano fakt, że szczep *Synechococcus* wyizolowany ze słonego jeziora Salton Sea, który produkował mikrocystyny w warunkach laboratoryjnych, był blisko spokrewniony z morskim *Synechococcus*. Wskazało to wg autorów (Carmichael & Li 2006) na niebezpieczeństwo, że pikocyjanobakterie mogą być potencjalnym źródłem zagrożenia mikrocystynami w środowisku morskim. Dotychczas uważano, że poza środowiskami słonawymi w których występują zakwity *Nodularia spumigena* i *Microcystis*, cyjanobakterii zdolnych do produkcji mikrocystyn, źródłem mikrocystyn w wodach morskich może być tylko dopływ wód słodkich zawierających je (Carmichael & Li 2006). Nie były

jednak znane, charakterystyczne dla pikocyjanobakterii, sekwencje genów z klastra *mcy* – kodującego szlaki metaboliczne związane z syntezą mikrocytyn. Pierwsze takie sekwencje, genów *mcyA*, *mcyD* i *mcyE* zostały uzyskane ze szczepu wyizolowanego z jeziora Beldany (Bukowska i in. w druku). Jednak dalsze badania na tym polu dotyczące genetycznych podstaw toksyczności pikocyjanobakterii i występowania potencjalnie toksycznych szczepów są konieczne, aby stwierdzić na ile pikocyjanobakterie mogą być źródłem toksyn w środowisku słodko i słonowodnym.

Podsumowanie wyników badań wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Podsumowując moje badania dotyczące różnorodności pikocyjanobakterii stanowiące osiągnięcie naukowe można stwierdzić, że pikocyjanobakterie przejawiają większą różnorodność ekofizjologiczną niż wcześniej przypuszczano. Różnorodność ta realizuje się w zmienności sezonowej i przestrzennej pikocyjanobakterii w środowisku (Jasser & Arvola 2003, Jasser i in. 2010, 2013b) i w występowaniu dobrze wyodrębnionych oraz prawdopodobnie unikatowych grup filogenetycznych odzwierciedlających ontogenezę środowisk wodnych (Jasser i in. 2011). Różnorodność ta przejawia się również w adaptacjach, które umożliwiają występowanie pikocyjanobakterii w różnych, nawet niesprzyjających warunkach środowiskowych takich jak np. niskie pH (Jasser i in. 2013a). Jednocześnie zmienność w występowaniu i różnorodności pikocyjanobakterii wydaje się dobrze wpisywać w ogólnie przyjęte teorie i hipotezy ekologiczne jak model zmienności sezonowej planktonu (PEG) oraz hipoteza pośrednich zakłóceń (IDH) (Jasser & Arvola 2003, Jasser i in. 2013b). Badania wykazały również, że szczególne cechy obserwowane u pikocyjanobakterii takie jak adaptacja do niskiego pH, nie są związane z pozycją filogenetyczną poszczególnych szczepów. Adaptacje te występują u szczepów należących do różnych grup filogenetycznych, choć nie są odnajdowane wśród szczepów blisko spokrewnionych. Pomimo jednak, że różnorodność ta nie znajduje odzwierciedlenia w filogenezie wydaje się być utrwalona genetycznie, o czym świadczyły eksperymenty laboratoryjne (Jasser i in. 2013a).

Obserwowana różnorodność ekofizjologiczna i genetyczna może być źródłem zmian mikroewolucyjnych w zespołach pikocyjanobakterii

zachodzących w zmieniających się warunkach środowiskowych. W ten sposób może mieć wpływ na funkcjonowanie ekosystemów, w których te pikocyjanobakterie występują. Moje prace wykazały również, że wskazane są dalsze badania zarówno ekofizjologicznej różnorodności pikocyjanobakterii, jak i jej genetycznych podstaw.

Piśmiennictwo

- Agawin N.S.R., Duarte C.M. & Agust S. 2000. Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production. *Limnol Oceanogr* 45: 591–600.
- Becker S., Fahrbach M., Böger P. & Ernst A. 2002. Quantitative tracing, by *Taq* nuclease assays, of a *Synechococcus* ecotype in a highly diversified natural population. *Appl Environ Microb* 68: 4486–4494.
- Becker S., Sánchez-Baracaldo P., Singh A.K. & Hayes P.H. 2012. Spatio-temporal niche partitioning of closely related picocyanobacteria clades and phycocyanin pigment types in Lake Constance (Germany). *FEMS Microbiol Ecol* 80: 488–500.
- Bell, T. & J. Kalff, 2001. The contribution of picophytoplankton in marine and freshwater communities of different trophic status and depth. *Limnol Oceanogr* 46: 1243–1248.
- Bukowska A., Karnkowska-Ishikawa, A. & Jasser I. W druku. Microcystin-encoding gene cluster in *Synechococcus* strains isolated from Great Mazurian Lakes. *15th International Conference on Harmful Algae Proceedings*. (Dostępne online: <http://www.issha.org/Welcome-to-ISSHA/Conferences/ICHA-conference-proceedings/ICHA15-Proceedings>)
- Callieri C. 2007. Picophytoplankton in aquatic ecosystems: the importance of small-sized phototrophs. *Freshwater Reviews* 1: 1–28.
- Callieri C., Caravati E., Corno G. & Bertoni R. 2012. Picocyanobacterial community structure and space-time dynamics in the subalpine Lake Maggiore (N. Italy). *J Limnol* 71: 95–103.
- Callieri C. & Stockner J.G. 2000. Picocyanobacteria success in oligotrophic lakes: fact or fiction? *J Limnol* 59: 72–76.
- Callieri C. & Stockner J.G. 2002. Freshwater autotrophic picoplankton: a review. *J Limnol* 61: 1–14.
- Caravati E., Callieri C., Modenutti B., Corno G., Balseiro E., Bertoni R. & Michaud L. 2010. Picocyanobacterial assemblages in ultraoligotrophic Andean lakes reveal high regional microdiversity. *J Plankton Res* 32: 357–366.
- Carmichael W.W. & Li R.H. 2006. Cyanobacteria toxins in the Salton Sea. *Saline Systems* 2: 5–18.
- Carrick H.J. & Schelske C.L. 1997. Have we overlooked the importance of small phytoplankton in productive waters? *Limnol Oceanogr* 42: 1613–1621.

- Choi D.H. & Noh J.H. 2009. Phylogenetic diversity of *Synechococcus* strains isolated from the East China Sea and the East Sea. *FEMS Microbiol Ecol* 69: 439–448.
- Crosbie N.D., Pöckl M. & Weisse T. 2003a. Dispersal and phylogenetic diversity of nonmarine picocyanobacteria, inferred from 16S rRNA gene and *cpcBA* intergenic spacer sequence analyses. *Appl Environ Microb* 69: 5716–5721.
- Crosbie N.D., Pöckl M. & Weisse T. 2003b. Rapid establishment of clonal isolates of freshwater autotrophic picoplankton by single-cell and single-colony sorting. *J Microbiol Meth* 55: 361–370.
- Domingos P., Rubim T.K., Molica R.J.R., Azevedo S.M.F.O. & Carmichael W.W. 1999. First report of microcystin production a nannoplanktic cyanobacterium *Synechococcus* sp. *Environ Toxicol* 14: 31–36.
- Ernst A., Marschall P. & Postius C. 1995. Genetic diversity among *Synechococcus* spp. (cyanobacteria) isolated from the pelagial of Lake Constance. *FEMS Microbiol Ecol* 17: 197–204.
- Ernst A., Postius C. & Böger P. 1996. Glycosylated surface proteins reflect genetic diversity among *Synechococcus* spp. of Lake Constance. *Arch Hydrobiol* 48: 1–6.
- Garcia-Pichel F., Nübel U., Muyzer G. & Kühl M. 2000. On cyanobacterial community diversity: which diversity and how to quantify it. W: *Microbial Biosystems: New Frontiers. Proceedings of the 8th Int. Symposium Microb. Ecol. Bell, C.R., Brylisnky, M., and Johnson-Green, P. (eds). Halifax: Atlantic Canada Society for Microbial Ecology.*
- Grime J.P. 1997. Biodiversity and ecosystem function: The debate deepens. *Science* 277: 1260–1261.
- Haverkamp T., Acinas S.G., Doeleman M., Stomp M., Huisman J., Stal L.J. 2008. Diversity and phylogeny of Baltic Sea picocyanobacteria inferred from their ITS and phycobiliprotein operons. *Environ Microbiol* 10:174–188.
- Herdman M., Castenholz R. W., Waterbury J. B. & Rippka R. 2001. Form-genus XIII. *Synechococcus*. W: *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Boone, D. R. & R. W. Castenholz (eds) *Springer-Verlag, New York*: 508–512.
- Hooper D.U. & Vitousek P.M. 1997. The effects of plant composition on ecosystem processes. *Science* 277:1302–1305.
- Huang J.J., Kolodny N. H., Redfearn J.T. & Allen M.M. 2002. The acid stress response of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6308. *Arch Microbiol* 177: 486–493.
- Ivanikova N.V., Popels L.C., McKay R.M.L. & Bullerjahn G.S. 2007. Lake Superior supports novel clusters of cyanobacterial picoplankton. *Appl Environ Microb* 73: 4055–4065.
- Jasser I.** 2002. Autotrophic picoplankton (APP) in four lakes of different trophic status: composition, dynamics and relation to phytoplankton. *Pol J Ecol* 50: 341-355.
- Jasser I.** & Arvola L. 2003. Potential effects of abiotic factors on the abundance of autotrophic picoplankton in four boreal lakes. *J Plankton Res* 25: 873-883.

- Jasser I.**, Karnkowska-Ishikawa A. & Chróst R.J. 2013a. Do acid-tolerant picocyanobacteria exist? Isolation of picocyanobacteria from low-pH humic lakes. *Hydrobiologia* 707: 209-218.
- Jasser I.**, Karnkowska-Ishikawa A., Kozłowska E., Królicka A. & Łukomska-Kowalczyk M. 2010. Isolation of picocyanobacteria from Great Mazurian Lake System – comparison of two methods. *Pol J Microbiol* 59: 21-31.
- Jasser I.**, Królicka A., Jakubiec K. & Chróst R.J. 2013b. Seasonal and spatial diversity of picocyanobacteria community in the Great Mazurian Lake system derived from DGGE analyses of 16S rDNA and *cpbA*-IGS markers. *J Microbiol Biotech* 23: 739-749.
- Jasser I.**, Królicka A. & Karnkowska-Ishikawa A. 2011. A novel phylogenetic clade of picocyanobacteria from the Mazurian lakes (Poland) reflects the early ontogeny of glacial lakes. *FEMS Microbiol Ecol* 75: 89-98.
- Johnson P. W. & Sieburth J. McN. 1979. Chroococcoid cyanobacteria in the sea: a ubiquitous and phototrophic biomass. *Limnol Oceanogr* 24: 928–935.
- Komárek J., Kopecká J. & Cepák V. 1999. Generic characters of the simplest cyanoprokaryotes *Cyanobium*, *Cyanobacterium* and *Synechococcus*. *Cryptogamie Algol* 20: 209–222.
- Kukkonen S., Koponen T. & Arvola L. 1997. Abundance of phototrophic and heterotrophic picoplankton in boreal lakes of varying trophic state and humic matter content. *Verh Int Ver Limnol* 26: 502–507.
- Lindeman R.L. 1942. The trophic-dynamic aspect of ecology. *Ecology* 23: 399–418.
- Maestre F.T., Quero J.L., Gotelli N.J., Escudero A., Ochoa V., Delgado-Baquerizo M., García-Gómez M., Bowker M.A., Soliveres S., Escolar C., García-Palacios P., Berdugo M., Valencia E., Gozalo B., Gallardo A., Aguilera L., Arredondo T., Blones J., Boeken B., Bran D., Conceição A.A., Cabrera O., Chaieb M., Derak M., Eldridge D.J., Espinosa C.I., Florentino A., Gaitán J., Gatica M.G., Ghiloufi W., Gómez-González S., Gutiérrez J.R., Hernández R.M., Huang X., Huber-Sannwald E., Jankju M., Miriti M., Monerris J., Mau R.L., Morici E., Naseri K., Ospina A., Polo V., Prina A., Pucheta E., Ramírez-Collantes D.A., Romão R., Tighe M., Torres-Díaz C., Val J., Veiga J.P., Wang D. & Zaady E. 2012. Plant species richness and ecosystem multifunctionality in global drylands. *Science* 335: 214–218.
- Mazur-Marzec H., Sutryk K., Kobos J., Hebel A., Hohlfeld N., Kaczkowska M. J., Błaszczuk A., Toruńska A., Łysiak-Pastuszek E., Kraśniewski W. & **Jasser I.** 2013. Occurrence of cyanobacteria and cyanotoxin in the Southern Baltic Proper. Filamentous cyanobacteria versus single-celled picocyanobacteria. *Hydrobiologia* 701: 235–252.
- Moser M., Callieri C. & Weisse T. 2009. Photosynthetic and growth response of freshwater picocyanobacteria are strain-specific and sensitive to photoacclimation. *J. Plankton Res* 31: 349–357.
- Muyzer G. 1999. DGGE/TGGE method for identifying genes from natural ecosystems, *Curr Opin Microbiol* 2: 317–322.

- Naeem S, Thompson L.I., Lawler S.P., Lawton J.H. & Woodfin R.M. 1995. Empirical evidence that declining species diversity may alter the performance of terrestrial ecosystems. *Phil Trans R Soc Lond* 347: 249–262.
- Oudra B., Loudiki M., Vasconcelos V., Sabour B., Sbiyyaa B., Oufdou Kh. & Mezrioui N. 2002. Detection and quantification of microcystins from cyanobacteria strains isolated from reservoirs and ponds in Morocco. *Environ Toxicol* 17: 32–39.
- Pawlik-Skowrońska B., Kaczorowska R. & Skowronski T. 1997. The impact of inorganic tin on the planktonic cyanobacterium *Synechocystis aquatilis*: The effect of pH and humic acid. *Environ Pollut* 97: 65–69.
- Raven J.A. 1998. The twelfth Tansley lecture. Small is beautiful: the picophytoplankton. *Funct Ecol* 12: 503–513.
- Reynolds, C. S., J. Padisák, and U. Sommer. 1993. Intermediate disturbance in the ecology of phytoplankton and the maintenance of species diversity: A synthesis. *Hydrobiologia* 249: 183–188.
- Rocap G., Distel D.L., Waterbury J.B. & Chisholm S.W. 2002. Resolution of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* ecotypes by using 16S-23S ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Appl Environ Microbiol* 68: 1180–1191.
- Rodhe W. 1955. Productivity: can plankton production proceed during winter darkness in subarctic lakes? *Int Ver Theor Angew Limnol Verh* 12: 117–122.
- Sánchez-Baracaldo P., Handley B.A. & Hayes P.K. 2008. Picocyanobacterial community structure of freshwater lakes and the Baltic Sea revealed by phylogenetic analyses and clade-specific quantitative PCR. *Microbiology* 154: 3347–3357.
- Six C., Thomas J.C., Garczarek L., Ostrowski M., Dufresne A., Blot N., Scanlan D.J. & Partensky F. 2007. Diversity and evolution of phycobilisomes in marine *Synechococcus* spp.: a comparative genomics study. *Genome Biol* 8: R259.
- Sommer U., Gliwicz Z. M., Lampert W., & Duncan A. 1986. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in lakes. *Arch Hydrobiol* 106: 433–471.
- Søndergaard M. 1991. Phototrophic picoplankton in temperate lakes: seasonal abundance and importance along a trophic gradient. *Int Rev Hydrobiol* 76: 505–522.
- Steinberg C.E.W., Schafer H. & Beisker W. 1998. Do acid-tolerant cyanobacteria exist? *Acta Hydroch Hydrob* 26: 13–19.
- Stomp M., Huisman J., Vörös L., Pick FR., Laamanen M., Haverkamp T. & Stal L. 2007. Colourful coexistence of red and green picocyanobacteria in lakes and seas. *Ecol Lett* 10: 290–298.
- Szeląg-Wasielewska E. 2008. Autotroficzny pikoplankton w zbiornikach wodnych zachodniej Polski: występowanie, struktura i znaczenie w mikrobiologicznej sieci troficznej. *Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań*. ISBN 978-83-232184-6-3. pp. 56.
- Tilman D., Wedin D. & Knops J. 1996. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature* 379: 718-720.
- Vincent W.F. 2000. Cyanobacterial dominance in the polar regions. – W: *The Ecology of Cyanobacteria*. Whitton B. A. & Potts M. (eds.) pp. 321–340. *Kluwer Academic Publishers. The Netherlands*.

- Vörös L., Callieri C., V-Balogh K. & Bertoni. R. 1998. Freshwater picocyanobacteria along a trophic gradient and light quality. *Hydrobiologia* 369/370: 117–125.
- Wardle D.A., Zackrisson O., Hornberg G. & Gallet C. 1997. The influence of island area on ecosystem properties. *Science* 277: 1296–1299.
- Waterbury J.B., Watson S.W., Guillard R.R.L. & Brand L.E. 1979. Widespread occurrence of unicellular, marine, planktonic cyanobacterium. *Nature* 277: 293–294.
- Whiteside W.C. 1983. The mythical concept of eutrophication. *Hydrobiologia* 103: 107–111.
- Wilcox B.A. 1984. *In situ* conservation of genetic resources: determinants of minimum area requirements. W: National Parks, Conservation and Development, *Proceedings of the World Congress on National Parks*. J.A. McNeely and K.R. Miller (eds), *Smithsonian Institution Press*, pp. 18–30.
- Wilson E. O. (ed) 1988. Biodiversity. Peter, F.R. (ass. ed.). *National Academy Press*, ISBN 0-309-03783-2

Iwona Jasser