

Ichtiotoksyczne zakwity złotej algi - *Prymnesium parvum*

dr hab. inż. Agnieszka Napiórkowska-Krzebietke, Prof. IRS-PIB

Instytut Rybactwa Śródlądowego im. S. Sakowicza

- Państwowy Instytut Badawczy

- e-mail: a.napiorkowska-krzebietke@infish.com.pl



Wstępny Raport Zespołu ds. sytuacji w rzece Odrze [Kolada A. red., IOŚ-PIB Warszawa 2022]

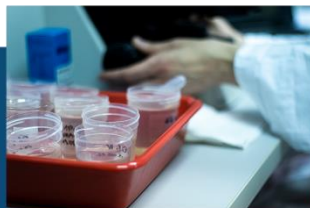
Rozdziały:

Napiórkowska-Krzebietke A., Kalinowska K., VI. IDENTYFIKACJA OBECNOŚCI I ZAKWITU PRYMNESIUM PARVUM ss. 187-204

Mazur-Marzec H., Konkel R., Varga E., Napiórkowska-Krzebietke A., IX. OZNACZANIE PRYMNEZYN (PRM) PRODUKOWNYCH PRZEZ PRYMNESIUM PARVUM ss. 217-231

Węgrzyn G., Gaffke L., Pierzynowska K., Cyske Z., Grabowski Ł., Grabski M., VIII. ANALIZY GENETYCZNE, ss. 205-216.

Siwicki A.K., Kazuń B., Kazuń K., Duk K. V. BADANIA RYB - WYNIKI BADAŃ INSTYTUTU RYBACTWA ŚRÓDLĄDOWEGO ss. 154-163



dr inż. Grzegorz Dietrich – Dyrektor IRS-PIB

Zakład Ichtiologii, Hydrobiologii i Ekologii Wód

dr hab. inż. Agnieszka Napiórkowska-Krzebietke, prof. IRS-PIB
dr inż. Andrzej Kapusta
dr inż. Konrad Stawecki
dr inż. Sylwia Jarmołowicz
dr Maja Prusińska
dr inż. Tomasz Czarkowski
mgr inż. Jakub Pyka
mgr inż. Bartosz Czarnecki
mgr inż. Joanna Hutorowicz
mgr inż. Arkadiusz Duda
mgr inż. Grzegorz Wiszniewski

Zakład Rybactwa Rzecznego

dr hab. inż. Piotr Parasiewicz, prof. IRS-PIB
dr inż. Paweł Buras
dr inż. Katarzyna Suska
mgr inż. Janusz Ligieza
mgr inż. Jacek Szlakowski
mgr inż. Joanna O'Keeffe
mgr Ranmuni Roshan De Zoysa
Shubham Avinash Wagh
mgr Iryna Kurdej
inż. Wojciech Prekurat
Marcin Chojnacki

Zakład Ichtiopatologii i Ochrony Zdrowia Ryb

prof. zw. dr hab. med. wet. Andrzej K. Siwicki
dr wet. Barbara Kazuń
dr inż. Krzysztof Kazuń
dr wet. Karolina Duk

Zakład Rybactwa Jeziorowego

dr inż. Dariusz Ulikowski
dr Krystyna Kalinowska
dr inż. Elżbieta Bogacka-Kapusta
dr inż. Katarzyna Kropielnicka-Kruk
mgr inż. Agnieszka Wasilewska
mgr inż. Piotr Traczuk
mgr Sylwia Wiszowaty

Zakład Ryb Wędrownych

dr hab. inż. Rafał Bernaś
dr inż. Grzegorz Radtke
inż. Waldemar Święcki

Zakład Bioekonomiki Rybactwa

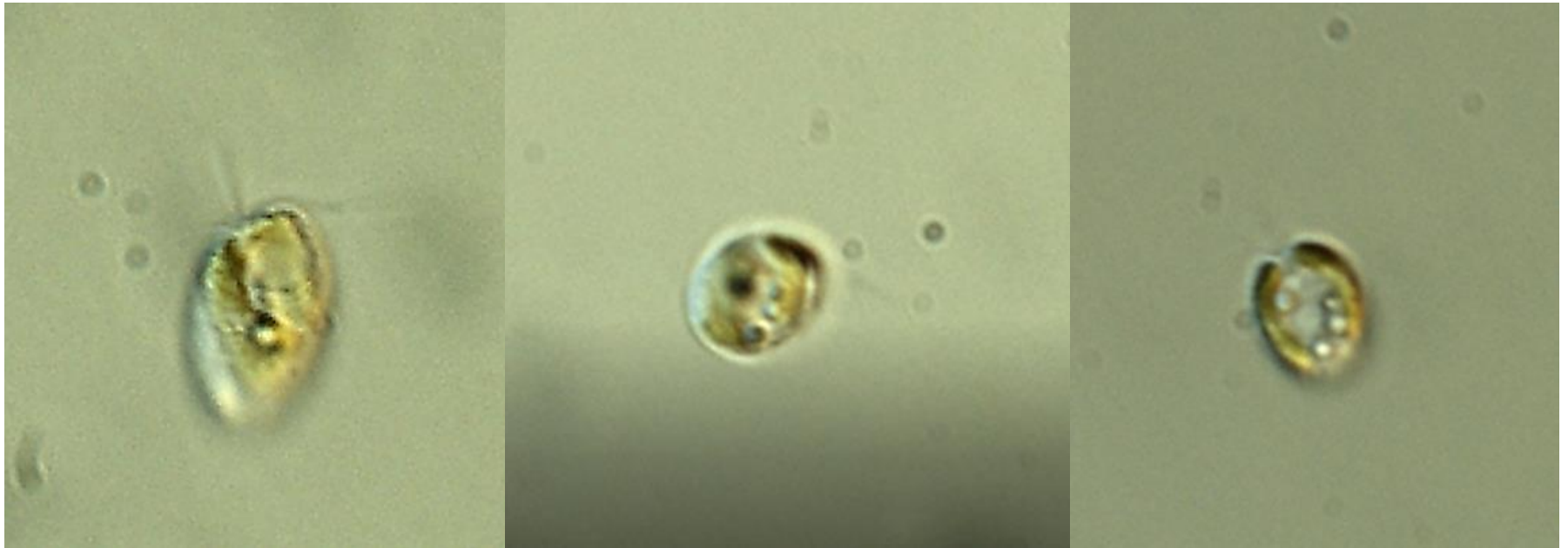
dr inż. Hanna Draszkiewicz-Mioduszevska

Pracownia Hydroakustyki

dr Jacek Tunowski



***Prymnesium parvum* N.Carter 1937**



Literatura:

Carter, N. (1937). New or interesting algae from brackish water. Archiv für Protistenkunde 90: 1-68.

Ogólne cechy

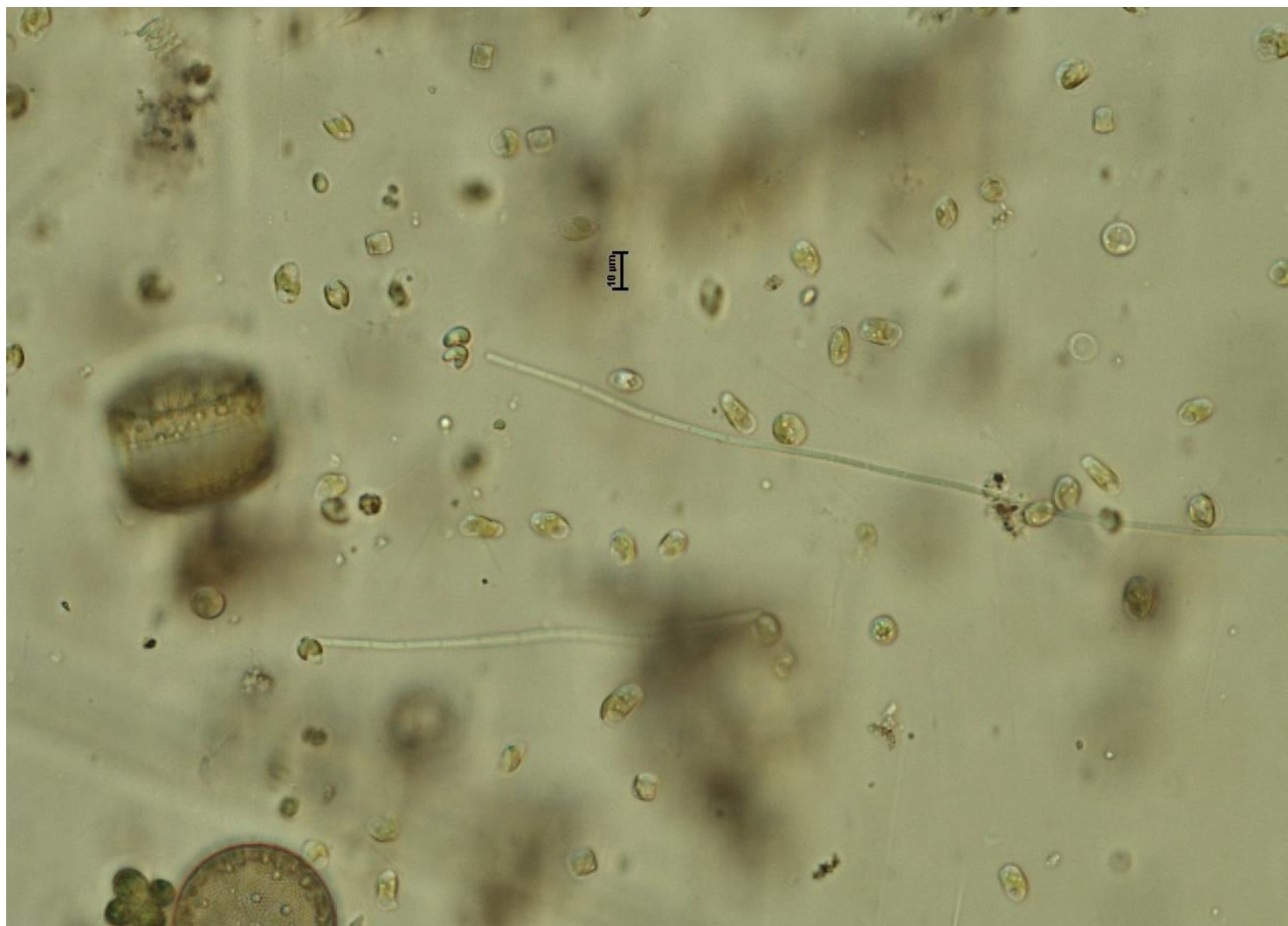
haptonema wić



1. **Jednokomórkowy organizm wiciowy**, posiadający dwie równej wielkości wici (zazwyczaj dłuższe niż długość komórki), usytuowane na szczycie komórki i służące do poruszania się oraz sztywną haptonemę, usytuowaną pomiędzy tymi nićmi o długości około 1/3 komórki, służącą głównie do przyczepiania się do podłoża i pobierania po-karmu;
2. **Kształt komórki wydłużony lub obły**, na szczycie ścięty;
3. **Długość komórek** o najczęściej notowanych rozmiarach: 10,6-14,4 (max. 15,0) μm ; **szerokość komórek** o najczęściej notowanych rozmiarach: 6,9-8,9 (max. 10,0) μm oraz **grubość komórek** o najczęściej notowanych rozmiarach: 4,5-5,5 (max. 6,0) μm ;
4. Komórki posiadające dwa chloroplasty w kolorze złotobrązowym;
5. Płytki celulozowe, okrywające komórkę.

Prymnesium parvum
zakwit

Towarzyszące gatunki
należały do
okrzemek, zielenic i
sinic z rodzajów:
Cyclotella,
Tetradesmus,
Desmodesmus
Pseudanabaena,
Planktothrix,
Limnothrix



Fizykochemiczne parametry podczas zakwitów *Prymnesium parvum*
 w Chinach (He, 1989)

Parametr	Ranges of values
Temperatura wody, °C	2-30
Widzialność (Secchi disk), cm	20-70
pH	7.2-9.3
Zasolenie, ‰	2.2-20
Zasadowość, meq L ⁻¹	5-17.22
Cl ⁻ , mg L ⁻¹	339-10800
SO ₄ ⁻ , mg L ⁻¹	375-7590
HCO ₃ ⁻ , mg L ⁻¹	0-68.5
Ca ⁺⁺ , mg L ⁻¹	45.9-547.6
Mg ⁺⁺ , mg L ⁻¹	187.5-905.9
Na ⁺ i K ⁺ , mg L ⁻¹	75.8-3054.9
ChZT – Chemiczne Zapotrzebowanie Tlenu, mg L ⁻¹	23.4 -42.2

Literatura: He Z. 1989. A review on the studies of *Prymnesium parvum* Carter in China.
 J. Dalian fish. Coll. 4: 13–20.

Fizykochemiczne parametry podczas zakwitów *Prymnesium parvum* w rzece Odrze

Parametr	Maksymalne wartości
Temperatura wody, °C	30
Przewodność elektrolityczna, $\mu\text{S cm}^{-1}$	7000
pH	9.4
DO, %	300
TP, mg L^{-1}	1.5
Cl^{-} , mg L^{-1}	2000
TN, mg L^{-1}	4.0 (14.0)
Na^{+} i K^{+} , mg L^{-1}	1600
Chlorofil a, $\mu\text{g L}^{-1}$	400
TN/TP	3-10

Łączna ilość pobranych próbek wody i wykonanych oznaczeń parametrów:

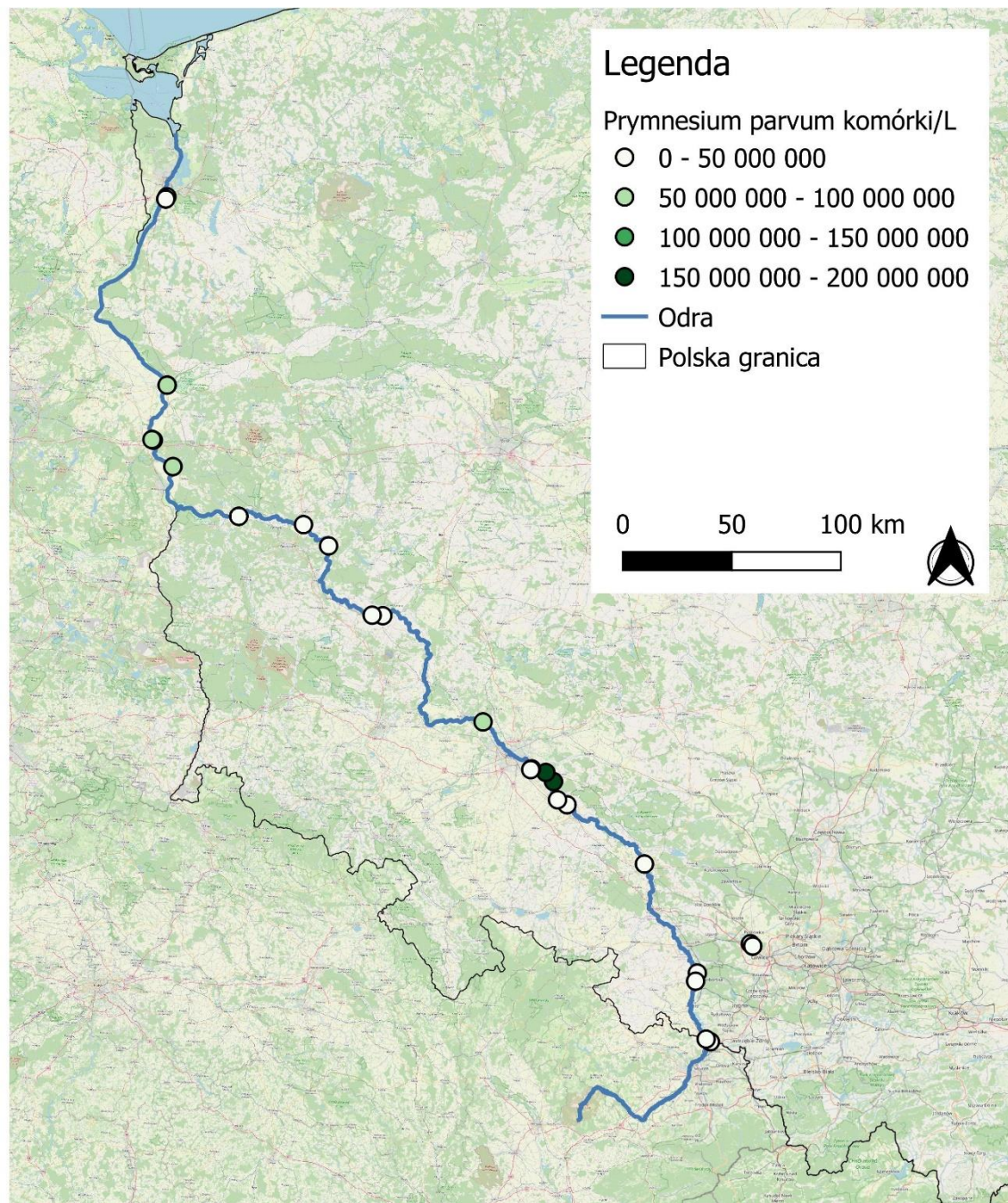
1. fizykochemicznych wyniosła odpowiednio 322 (próbek) i 7350 (oznaczeń),
2. fitoplanktonu pod kątem *Prymnesium parvum* 420 (próbek).

Parametr	minimum	maksimum	średnia	SD	CV%
Temperatura, °C	18,40	27,00	24,22	1,20	5
Tlen, mg L ⁻¹	0	11,90	3,04	2,81	92
Nasycenie tlenem, %	0	137,10	35,71	33,11	93
pH	6,29	9,04	8,07	0,57	7
Przewodnictwo, µS cm ⁻¹	229	5260	2312	1235	53
Twardość ogólna	2,20	36,58	11,74	6,34	54
PO ₄ -P, mg L ⁻¹	0,04	0,26	0,14	0,07	46
NO ₃ -N, mg L ⁻¹	0	1,82	0,55	0,39	72
Tot-N, mg L ⁻¹	0,38	7,40	1,83	0,82	45
Tot-P, mg L ⁻¹	0,03	1,42	0,22	0,14	64
N/P	2	86	10	10	95
TOC, mg L ⁻¹	4,10	33,80	6,39	2,6	40
Ca ²⁺ , mg L ⁻¹	34,10	376,68	132,55	59,3	45
Mg ²⁺ , mg L ⁻¹	6,10	216,21	62,26	42,5	68
Na ⁺ , mg L ⁻¹	10,40	3346,44	942,05	691,5	73
K ⁺ , mg L ⁻¹	4,20	89,22	29,81	17,8	60
SiO ₂ , mg L ⁻¹	2,34	15,80	6,28	3,86	62
Cl ⁻ , mg L ⁻¹	25,97	3345,93	1250,24	821,18	66
SO ₄ ²⁻ , mg L ⁻¹	28,21	964,41	335,06	241,49	72
CO ₃ ²⁻ , mg L ⁻¹ ,	0,00	39,30	9,07	10,51	116
HCO ₃ ⁻ , mg L ⁻¹	64,23	562,42	193,87	80,61	42
Fe og., mg L ⁻¹	0	1,95	0,22	0,23	105
Feofityny, µg L ⁻¹	3,88	943,60	89,93	144,82	161
Chlorofil α, µg L ⁻¹	1,97	388,12	78,65	64,68	82
Chlorofil całkowity, µg L ⁻¹	7,36	982,94	168,59	154,54	92

Sierpień 12-31, 2022

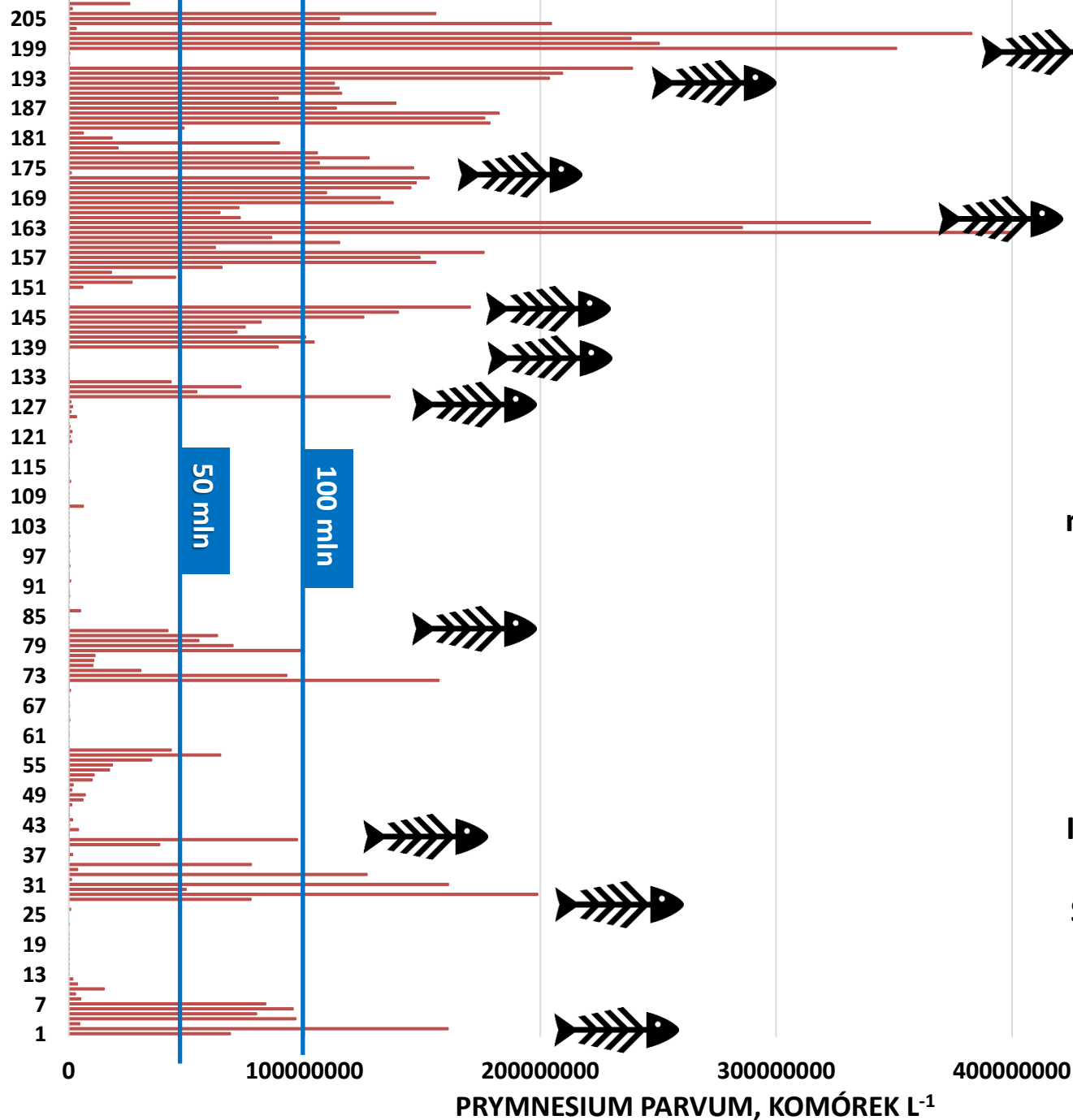
Największe zagęszczenia *P. parvum*

1. Zbiornik Czernica
2. Zbiornik Bajkał
3. Zbiornik Łacha Jelcz
4. Zbiornik Prężyce
5. Kanał Gliwicki Channel – śluza Łabędy
6. Gliwicki Channel – śluza Rudziniec
7. Odra – m. Klucze
8. Odra – m. Słubice
9. Odra – m. Kostrzynek Stary
10. Odra – m. Urad
11. Odra – m. Krosno
Odrzańskie/Gostchorze
12. Odra – powyżej Zb. Bajkał
13. Odra – m. Cigacice
14. Starorzecze – m. Kostrzynek Stary
15. Odra – m. Miłsko
16. Starorzecze – rz. Odra
17. Odra – m. Klucz
18. Jezioro Dąbie
19. Odra – m. Głogów
20. Starorzecze – m. Klucz
21. Rzeka Regalica



Sierpień/wrzesień 2022

PRÓBK WODY



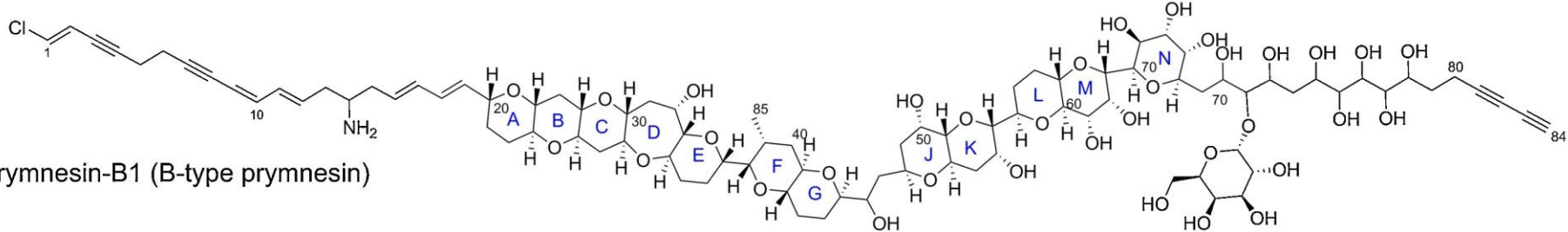
Śnięcie ryb

Liczebność *Prymnesium parvum* 0-414 000 000 cells/L

Obecność w 165 z 210 ogólnej liczby próbek - ok. 79%

Zagęszczenie >50-100 millionów komórek w 1 litrze – 35% próbek wody .

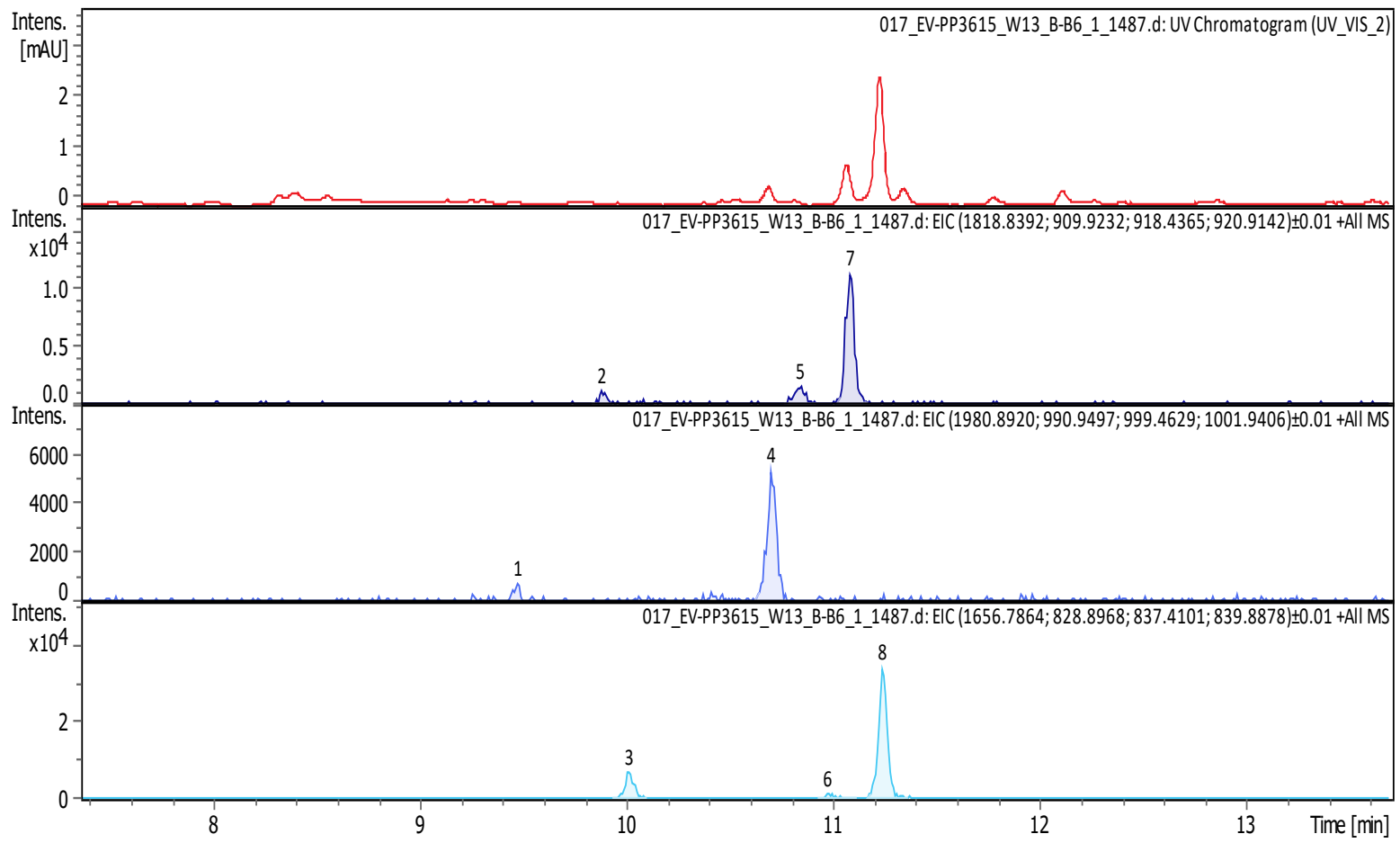
Z danych literaturowych - wartość >50-100 millionów komórek w 1 litrze związana ze śnięciem ryb (Aquatic Invasive Species Control Plan Division of Environmental Services, Golden Alga 2021).



B primnesin-B1 (B-type primnesin)

Badania prymnezyn w komórkach glonu.

(Dr. Elisabeth Varga, Zakład Chemii Żywności i Toksykologii, Uniwersytet Wiedeński)



UV 280nm

**Prymnezyna B
z 1 jednostką Cl i
1 jednostką
heksozy**

**Prymnezyna B
z 1 jednostką Cl i
2 jednostki
heksozy**

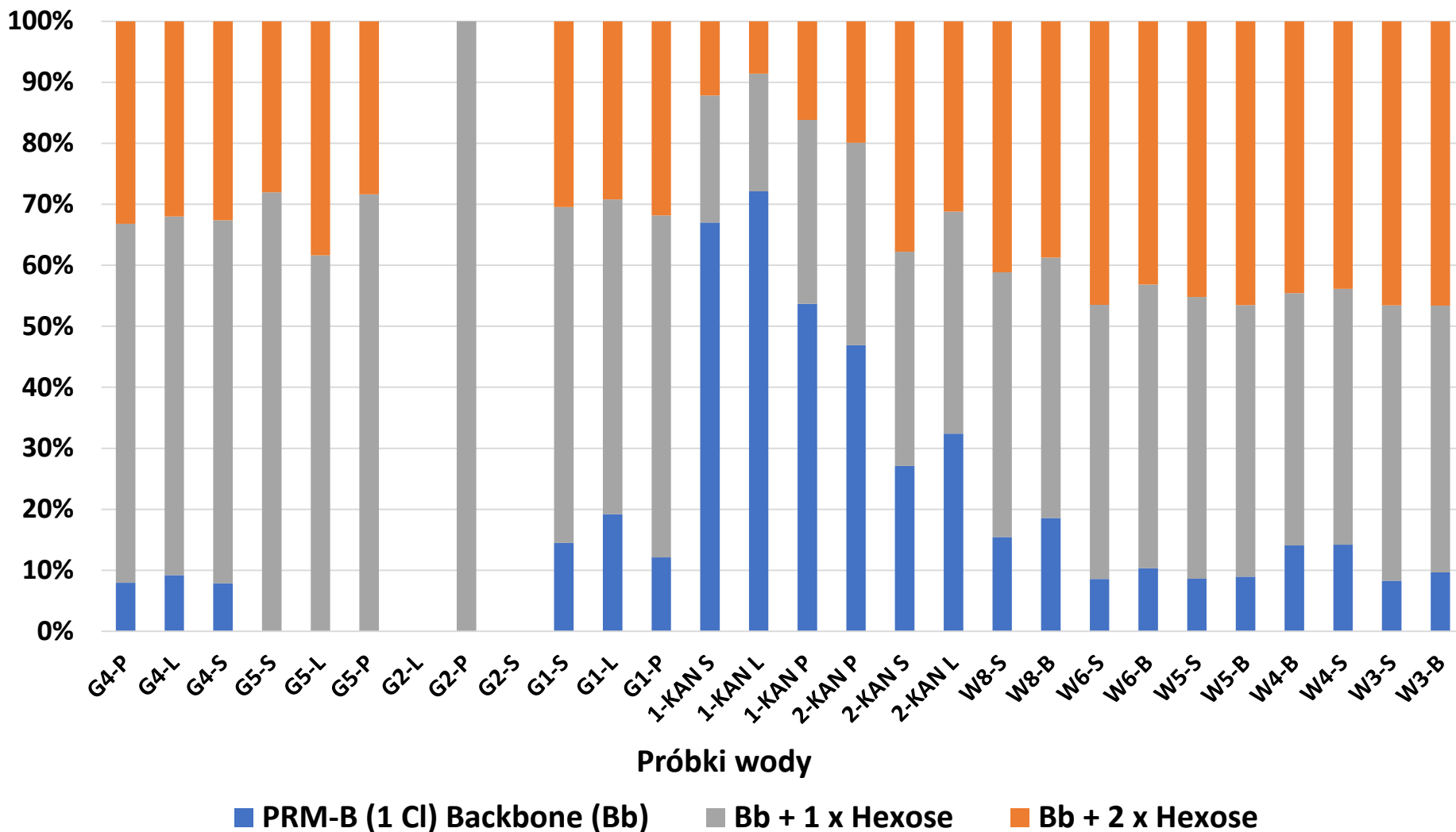
**Prymnezyna B z 1
jednostką Cl**

Prymnezyny z grupy B (dane według Mazur-Marzec i in. 2022)

Data file name	Sample Name	Peak area ¹⁾				Estimation SUM of prymnesins ²⁾			Percentage			Ratio	
		PRM-B (1 Cl) Backbone (Bb)	Bb + 1 x Hexose	Bb + 2 x Hexose					PRM-B (1 Cl) Backbone (Bb)	Bb + 1 x Hexose	Bb + 2 x Hexose	Bb/Hex	2Hex/Hex
		EIC (1656.7864; 828.8968; 837.4101; 839.8878)±0.0 1 +All MS	EIC (1818.8392; 909.9232; 918.4365; 920.9142)±0.0 1 +All MS	EIC (1980.8920; 990.9497; 999.4629; 1001.9406)±0. 01 +All MS	SUM	nmol in the dried down sample	Objętość próbki ³⁾	Stężenie w środoiwisku [nmol/L] ³⁾	EIC (1656.7864; 828.8968; 837.4101; 839.8878)±0.0 1 +All MS	EIC (1818.8392; 909.9232; 918.4365; 920.9142)±0 .01 +All MS	EIC (1980.8920; 990.9497; 999.4629; 1001.9406)±0 .01 +All MS		
005_EV-PP3603_W01	G4-P	2825	20946	11816	35587	1,2	0,3	4,0	8	59	33	0,13	0,56
006_EV-PP3604_W02	G4-L	2325	14894	8093	25311	0,8	0,3	2,6	9	59	32	0,16	0,54
007_EV-PP3605_W03	G4-S	2844	21569	11817	36230	0,8	0,3	2,6	8	60	33	0,13	0,55
008_EV-PP3606_W04	G5-S	0	4362	1699	6062	n.m.	0,3	n.m.	0	72	28	0,00	0,39
009_EV-PP3607_W05	G5-L	0	5965	3715	9679	n.m.	0,3	n.m.	0	62	38	0,00	0,62
010_EV-PP3608_W06	G5-P	0	5390	2134	7524	n.m.	0,3	n.m.	0	72	28	0,00	0,40
011_EV-PP3609_W07	G2-L	0	0	0	0	n.m.	0,3	n.m.	0	0	0	0,00	0,00
012_EV-PP3610_W08	G2-P	0	2486	0	2486	n.m.	0,3	n.m.	0	100	0	0,00	0,00
013_EV-PP3611_W09	G2-S	0	0	0	0	n.m.	0,3	n.m.	0	0	0	0,00	0,00
014_EV-PP3612_W10	G1-S	11433	43436	24016	78884	1,4	0,4	3,5	14	55	30	0,26	0,55
015_EV-PP3613_W11	G1-L	8577	23094	13063	44735	0,7	0,3	2,3	19	52	29	0,37	0,57
016_EV-PP3614_W12	G1-P	8161	37839	21459	67458	1,0	0,3	3,3	12	56	32	0,22	0,57
017_EV-PP3615_W13	1-KAN S	130790	40642	23783	195215	1,3	0,3	4,3	67	21	12	3,22	0,59
018_EV-PP3616_W14	1-KAN L	247895	66310	29425	343630	2,8	0,4	7,0	72	19	9	3,74	0,44
022_EV-PP3617_W15	1-KAN P	98241	55211	29562	183014	2,0	0,3	6,6	54	30	16	1,78	0,54
023_EV-PP3618_W16	2-KAN P	12955	9172	5503	27631	0,4	0,3	1,3	47	33	20	1,41	0,60
024_EV-PP3619_W17	2-KAN S	4967	6430	6916	18313	0,2	0,3	0,6	27	35	38	0,77	1,08
025_EV-PP3620_W18	2-KAN L	14199	15955	13668	43822	1,1	0,4	2,8	32	36	31	0,89	0,86
026_EV-PP3621_W19	W8-S	64805	182219	172801	419825	4,2	0,4	10,5	15	43	41	0,36	0,95
027_EV-PP3622_W20	W8-B	50083	114994	104454	269531	2,8	0,6	4,6	19	43	39	0,44	0,91
028_EV-PP3623_W21	W6-S	38040	199426	206104	443570	4,0	0,5	8,0	9	45	46	0,19	1,03
029_EV-PP3624_W22	W6-B	48966	221091	204843	474901	5,2	0,5	10,4	10	47	43	0,22	0,93
030_EV-PP3625_W23	W5-S	52847	283477	277151	613475	6,5	0,5	13,0	9	46	45	0,19	0,98
031_EV-PP3626_W24	W5-B	60734	302348	316125	679207	6,3	0,5	12,6	9	45	47	0,20	1,05
032_EV-PP3627_W25	W4-B	163663	481662	518632	1163957	12,9	0,4	32,3	14	41	45	0,34	1,08
033_EV-PP3628_W26	W4-S	182549	539768	564665	1286982	13,4	0,4	33,5	14	42	44	0,34	1,05
034_EV-PP3629_W27	W3-S	48530	265233	273357	587121	5,7	0,4	14,3	8	45	47	0,18	1,03
035_EV-PP3630_W28	W3-B	54546	247411	263763	565720	6,0	0,4	15,0	10	44	47	0,22	1,07

1) Oparte na pomiarach LC-HRMS, 2) oparte na pomiarach LC-FLD wg. Svenssen et al. 2019,

3) Konwersja do estymowanej zawartości w 1 litrze wody

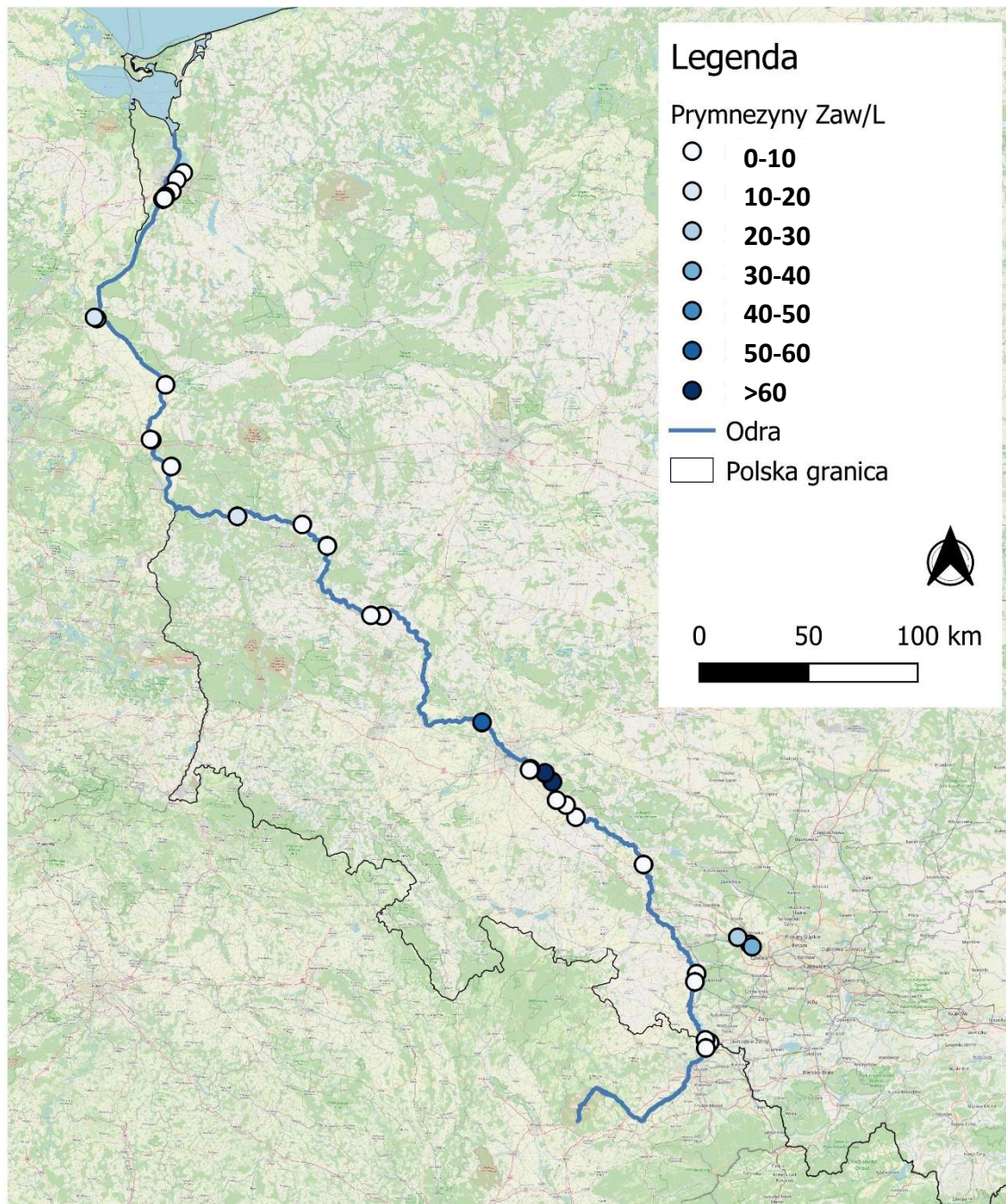


Sierpień 12-31, 2022

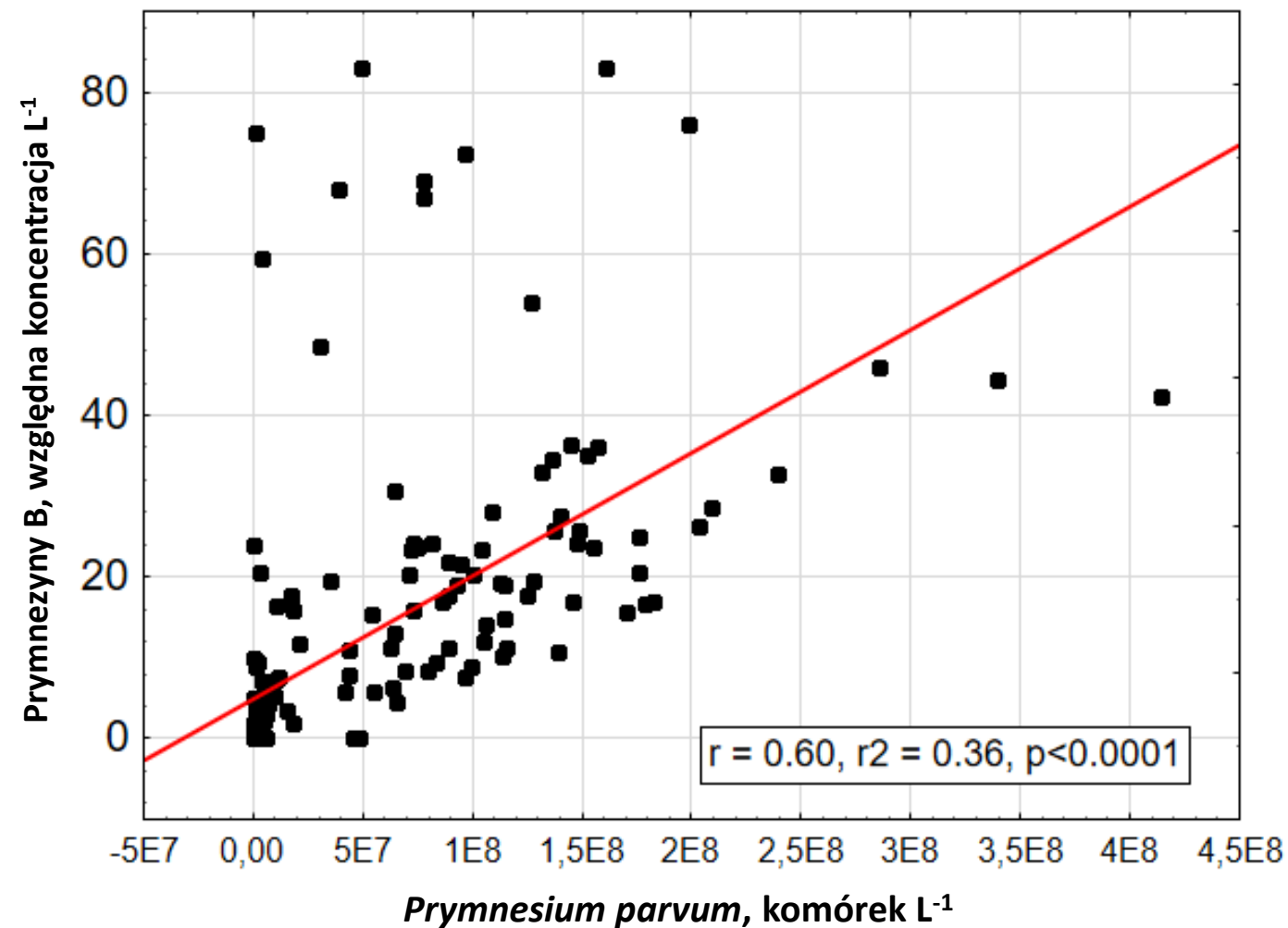
Prymnezyny:
Relatywna koncentracja
0-83 koncentracja/L⁻¹

Największa zawartość:

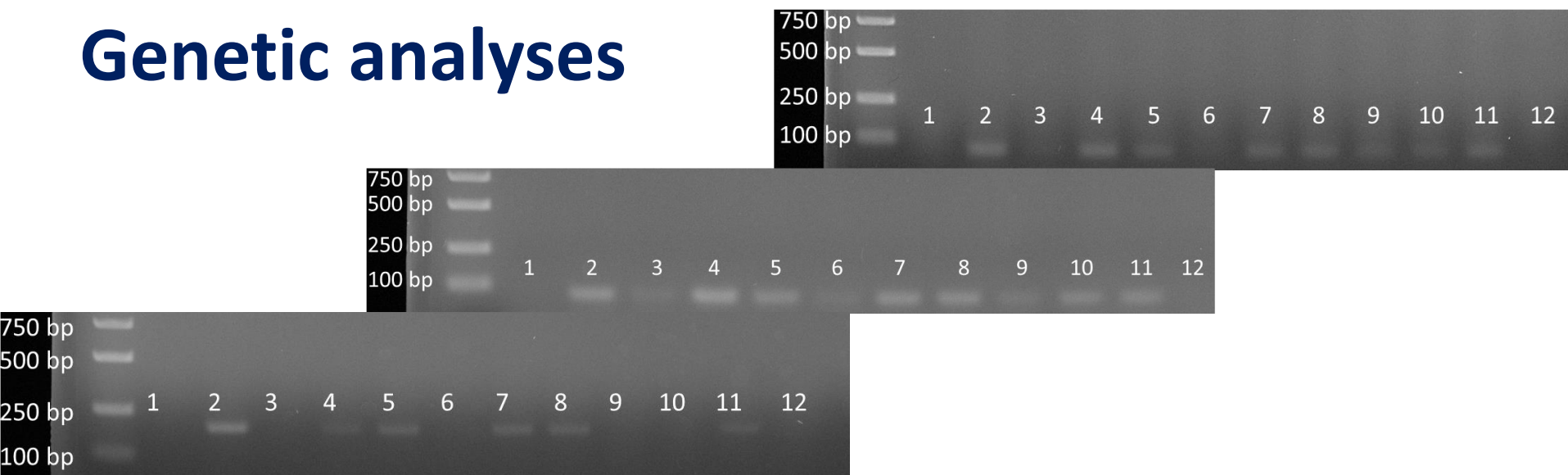
1. Zbiornik Czernica
2. Zbiornik Bajkał
3. Zbiornik Łacha Jelcz
4. Zalew Prężyce
5. Kanał Gliwicki – śluza Łabędy
6. Kanał Gliwicki – śluza Rudziniec
7. Odra – m. Słubice
8. Odra – m. Kostrzynek Stary
9. Odra – m. Klucze
10. Odra – m. Urad
11. Odra – m. Krosno
Odrzańskie/Gostchorze
12. Starorzecze – m. Kostrzynek Stary
13. Odra – m. Miłsko
14. Starorzecze – Odra
15. Odra – m. Klucz
16. Odra – m. Głogów



Relacje *Prymnesium* - prymnezyny

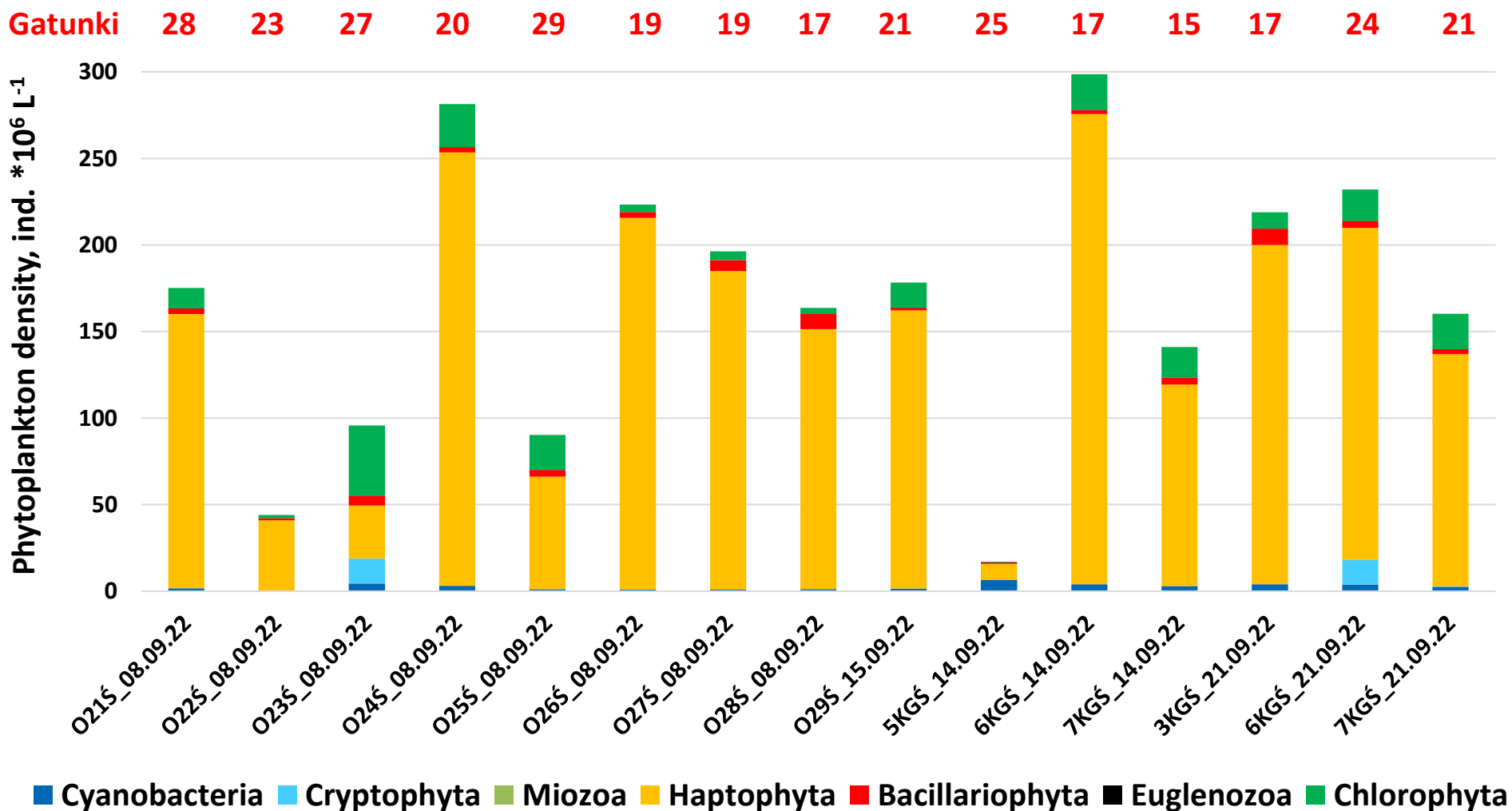


Genetic analyses

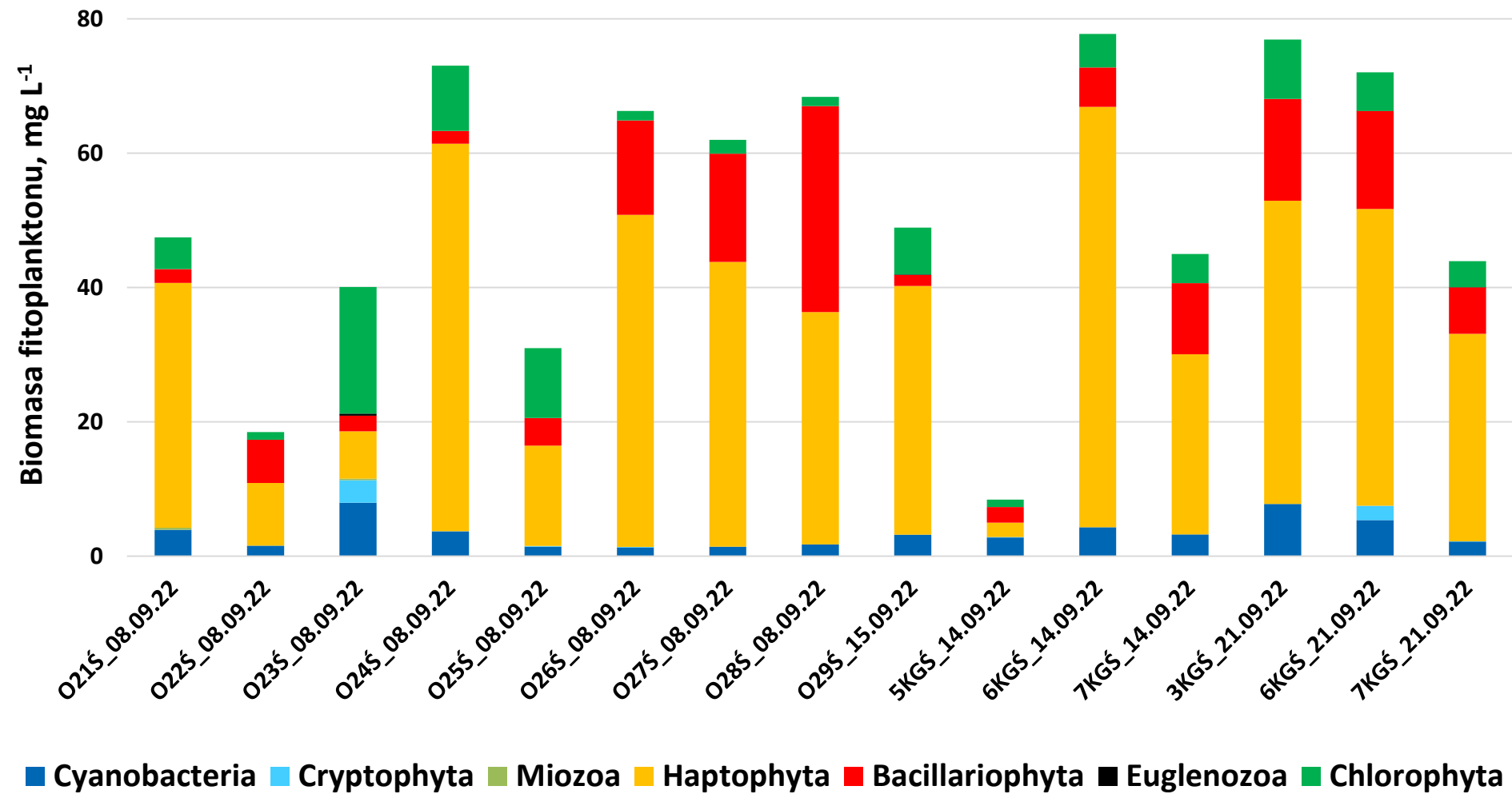


1. Wyniki wskazują, że złota alga może zawierać geny kodujące enzymy, które katalizują produkcję prymnezyn.
2. RT-qPCR analizy pokazały możliwą ekspresję genów kodujące enzymy zaangażowane w produkcję prymnezyn.
3. The obtained results indicated the presence of genes encoding enzymes / modules involved in the synthesis of primnesines in the studied material.

Zagęszczenie fitoplanktonu w kanale Kędzierzyńskim i Gliwickim



Zagęszczenie fitoplanktonu w kanale Kędzierzyńskim i Gliwickim



Relacje *Prymnesium* – parametry chemiczne

Silne dodatnie korelacje liczebności *Prymnesium parvum* z parametrami:

- a) fosfor całkowity,
- b) chlorki i siarczany,
- c) azot azotanowy,
- d) sól i magnez,
- e) przewodnictwo elektrolityczne,
- f) twardość ogólna i wapń.

Silne ujemne korelacje liczebności *Prymnesium parvum* z parametrami:

- a) żelazo ogólne,
- b) stosunek TN/TP .





INSTYTUT RYBACTWA
ŚRÓDLĄDOWEGO
IM. STANISŁAWA SAKOWICZA
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY

NATIONAL INLAND
FISHERIES
RESEARCH INSTITUTE



(fot. J. Szlakowski)

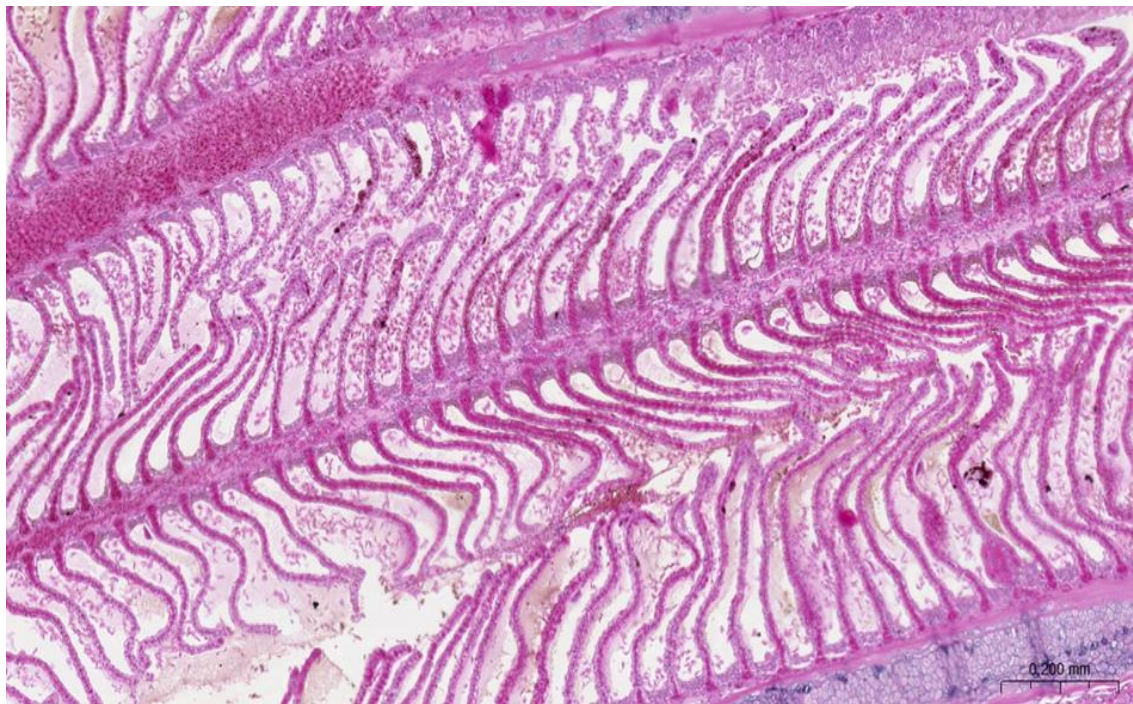


10-719 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 10
tel.: +48 89 524 01 71
e-mail: irs@infish.com.pl
www.infish.com.pl

Węgorz, skrzela - przekrwienie blaszek skrzelowych, silny wysięk zapalny z pojedynczymi melanomakrofagami - obraz histopatologiczny

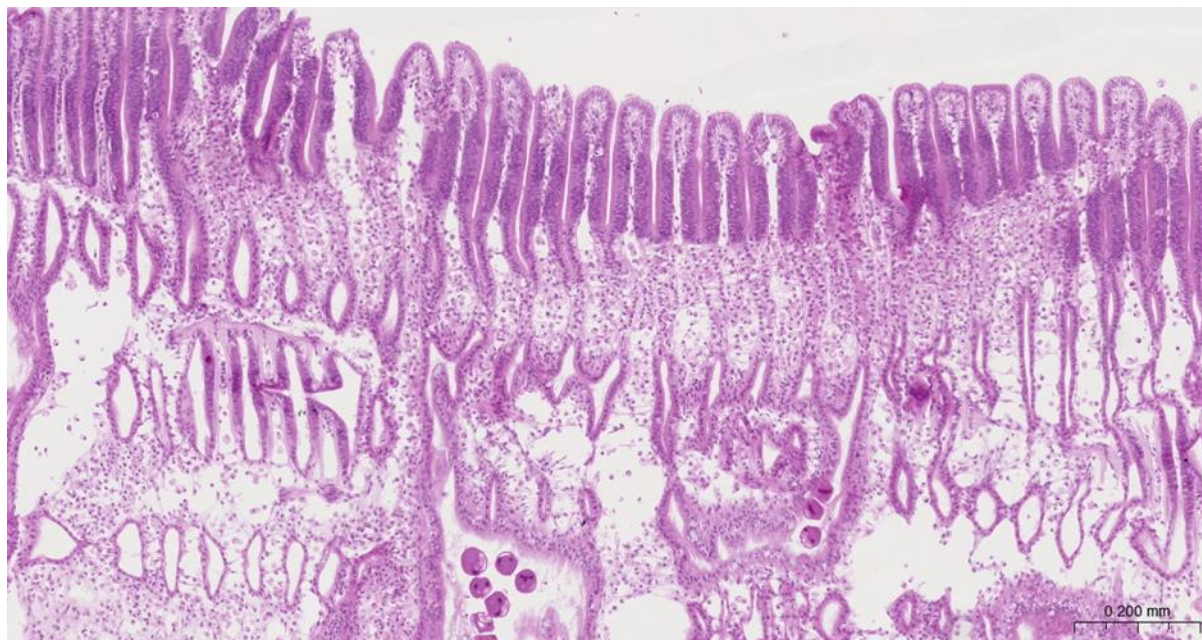
Obraz histopatologiczny wszystkich zbadanych ryb i małży wskazywał na ostre uszkodzenia narządów najsilniej ukrwionych, tj. skrzeli.

Zaburzenia procesów hematopoetycznych oraz uszkodzenie skrzeli są, najprawdopodobniej, związane z działaniem toksyn hemolitycznych, do których należą prymnezyny wydzielane przez *Prymnesium parvum* (Siwicki i in. 2022)



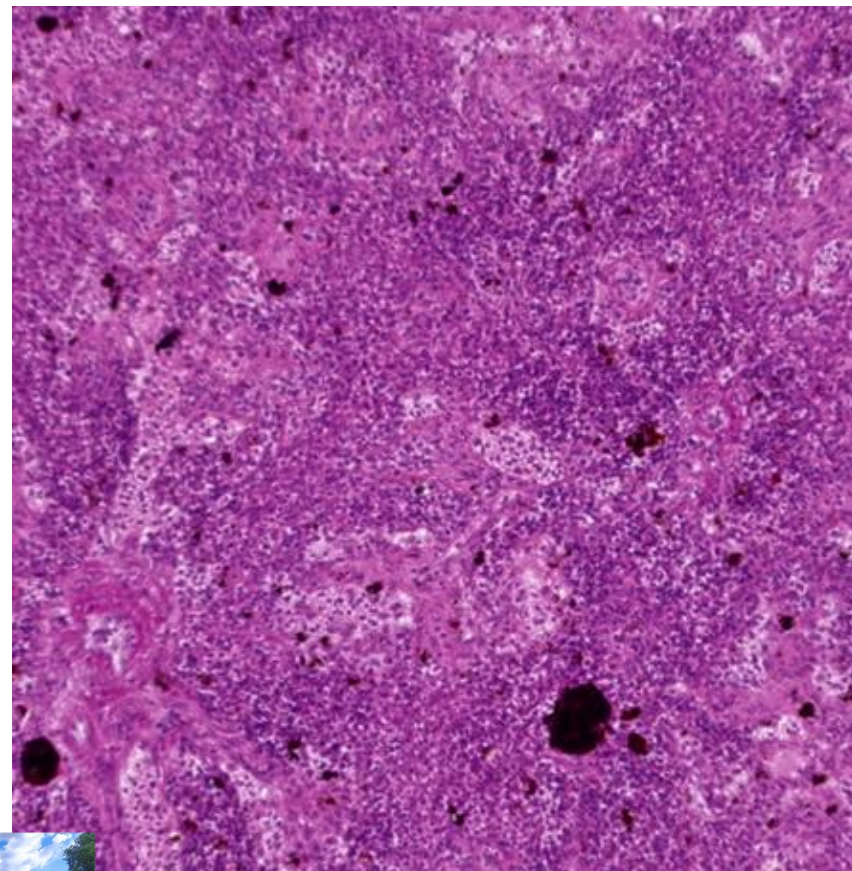
(Fot. K. Duk)

Szczeżuja pospolita (*Anodonta anatina*) - uszkodzenie skrzeli



Szczupak - rozsiana martwica śledziony (barwienie HE).

Badania histopatologiczne potwierdziły, że zmiany martwicze w śledzionie, obejmujące zarówno miazgę białą, jak i czerwoną, wskazują na hematolityczne (związane z chorobami krwi i układu krwiotwórczego) działanie toksyny (Siwicki i in. 2022).



Wnioski

1. *Prymnesium parvum* był powszechnym składnikiem w fitoplanktonu i był znaleziony w **79% wszystkich próbek**;
2. Liczebność powyżej 50-100 milion komórek/L odnotowano w **35% próbek** - te wartości były też związane z masowym śnięciem ryb w innych regionach świata.
3. Potwierdzono zależność pomiędzy liczebnością *Prymnesium parvum* a zawartością prymnezyn.
4. Potwierdzono zależność pomiędzy występowaniem prymnezyn w wodzie a śnięciem ryb, szczególnie w środowym biegu rzeki Odry.
5. Przeprowadzone analizy genetyczne wskazują, że komórki *P. parvum*, posiadają geny, których ekspresja prowadzi do produkcji enzymów wytwarzających prymnezy.
6. Podczas zakwitów *Prymnesium parvum* różnorodność było bardzo mała (15-29 gatunków), co wskazuje na silną konkurencję.
7. Z badań ichtiopatologicznych wynika, że przyczyną śnięć ryb i małży było najprawdopodobniej gwałtowne pogorszenie się warunków środowiskowych oraz działanie toksycznej algi.





INSTYTUT RYBACTWA
ŚRÓDLĄDOWEGO
IM. STANISŁAWA SAKOWICZA
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY

NATIONAL INLAND
FISHERIES
RESEARCH INSTITUTE



Unia Europejska
Europejski Fundusz
Morski i Rybacki



Dziękuję za uwagę!



10-719 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 10
tel.: +48 89 524 01 71
e-mail: irs@infish.com.pl
www.infish.com.pl