

**LATVIJAS UNIVERSITĀTE  
BIOLOĢIJAS FAKULTĀTE**

**Ingrīda Purīņa**

Promocijas darbs- publikāciju kopa

**ORGANISKO UN NEORGANISKO BIOĢĒNU  
IETEKME UZ RĪGAS LĪČA  
FITOPLANKTONA STRUKTŪRU UN  
POTENCIĀLI TOKSISKO AĻĢU ATTĪSTĪBU**

Promocijas darbs izstrādāts doktora grāda iegūšanai bioloģijā,  
hidrobioloģijas apakšnozarē

**Darba zinātniskais vadītājs:  
Dr.biol. Maija Balode**

**Rīga, 2008**

## Satura rādītājs

Anotācija.....	3
Annotation .....	4
1 IEVADS.....	5
2 MATERIĀLI UN METODES .....	9
2.1 Vispārējās metodes.....	9
2.1.1 Paraugu ievākšana .....	9
2.1.2 Fitoplanktona analīzes .....	9
2.1.3 In vivo fluorescence.....	10
2.1.4 Hlorofils a .....	10
2.1.5 Biogēnu analīzes.....	10
2.1.6 Organisko vielu ekstrakcija.....	11
2.1.7 Datu statistiskā apstrāde.....	11
2.2 Eksperimentu metodika .....	11
2.2.1 Rīgas līča fitoplanktona attīstību limitējošie biogēnie elementi (I.raksts) ....	11
2.2.2 Biogēno elementu attiecību ietekme uz fitoplanktona struktūras izmaiņām (II.raksts).....	12
2.2.3 Dažādu organisko slāpekļa savienojumu ietekme uz Rīgas līča dabiskā vasaras fitoplanktona attīstību (III.raksts) .....	12
2.2.4 Slāpekli saturošu organisko savienojumu un sauszemes izcelsmes izšķīdušo organisko vielu (DOM) ietekme uz Microcystis aeruginosa attīstību (III.raksts).....	12
2.2.5 Sauszemes izcelsmes izšķīdušo organisko vielu (DOM) ietekme uz Rīgas līča vasaras fitoplanktonu (IV.raksts) .....	12
3 REZULTĀTI UN TO APSPRIEŠANA .....	14
3.1 Rīgas līča fitoplanktona attīstību limitējošie biogēnie elementi (I.raksts) ....	14
3.2 Biogēno elementu attiecību ietekme uz fitoplanktona strukturālām izmaiņām (II.raksts).....	16
3.3 Dažādu organisko slāpekļa savienojumu ietekme uz Rīgas līča dabiskā vasaras fitoplanktona attīstību (III.raksts) .....	19
3.4 Slāpekli saturošu organisko savienojumu un sauszemes izcelsmes izšķīdušo organisko vielu (DOM) ietekme uz Microcystis aeruginosa attīstību (III.raksts).....	23
3.5 Sauszemes izcelsmes izšķīdušo organisko vielu (DOM) ietekme uz Rīgas līča vasaras fitoplanktonu (IV.raksts) .....	24
4 SECINĀJUMI .....	28
5 PATEICĪBAS.....	29
6 REFERENCES.....	30

## Anotācija

### **Puriņa I. Organisko un neorganisko biogēnu ietekme uz Rīgas līča fitoplanktona struktūru un potenciāli toksisko aļģu attīstību. –Promocijas darbs, 35lpp.**

Darba mērķis bija veikt pētījumus par izšķīdušo organisko un neorganisko biogēnu ietekmi uz Rīgas līča fitoplanktona struktūras veidošanos un potenciāli toksisko aļģu attīstību. Biogēnu limitēšanas eksperimenti pierādīja, ka slāpekļis ir galvenais limitējošais elements Rīgas līcī, īpaši vasarās un ārpus upju ietekmes zonas. Fosfors pamatā limitēja fitoplanktona attīstību pavasaros un upju grīvu rajonos. Eksperimentos ar neorganiskajiem biogēniem novērota intensīva kramaļģu attīstība. Neorganisko biogēnu izsīkums izraisīja fitoplanktona sugu daudzveidības samazināšanos, miksotrofo un potenciāli toksisko aļģu biomasas pieaugumu. Eksperimenti ar organiskajām slāpekli saturošajām vielām pierādīja, ka labākais organiskā slāpekļa avots Rīgas līča vasaras fitoplanktonam ir urīnviela, bet fitoplanktona attīstību stimulē arī brīvās aminoskābes un purīni. Par būtisku biogēnu rezervi uzskatāmas arī sauszemes izcelsmes organiskās vielas. Upju ienestās lielmolekulārās izšķīdušās organiskās vielas galvenokārt veicina dinoflagellātu attīstību, bet mazmolekulārās- kriptofītaļģu, zaļaļģu un kolonijveida cianobaktēriju attīstību. Kopumā rezultāti liecina, ka sauszemes izcelsmes organiskajām vielām ir būtiska loma Rīgas līča fitoplanktona attīstībā, tās izraisa būtiskas fitocenozes taksonomiskās izmaiņas, miksotrofo un arī potenciāli toksisko (*Microcystis spp.*, *Dinophysis acuminata*) sugu īpatsvara pieaugumu, kā arī tālākas izmaiņas Rīgas līča barības ķēdēs.

## Annotation

**Purina I. Influence of organic and inorganic nutrients on the phytoplankton structure of the Gulf of Riga and development of potentially toxic algae. PhD theses, 35pp.**

The aim of the study was to detect the influence of dissolved inorganic and organic nutrients on the phytoplankton composition of the Gulf of Riga and growth of potentially toxic algae. Experiments of nutrient limitation proved that nitrogen is the main limiting nutrient in the Gulf of Riga, especially during summer period and outside of rivers influence. Phosphorus mainly was limiting the phytoplankton development in the springtime and in the river plums. Experiments with different nutrient concentrations showed that elevated inorganic nutrients concentrations causes increased development of diatoms, but depletion of nutrients induces decrease of species diversity, and growth of mixotrophic and potentially toxic organisms. An experiment with low molecular weight organic nitrogen compounds revealed that urea is the best organic source of nitrogen for summer phytoplankton. The growth of algae was stimulated also by dissolved free amino acids and purines. Dissolved organic matter from terrestrial origin should be considered as significant source of nutrients during summer time. Terrestrially derived high molecular weight organic matter favours the development of dinoflagellates, but low molecular weight organic substances stimulates the growth of cryptophytes, chlorophytes and colonial cyanobacteria. Altogether, results showed, that organic matter from terrestrial origin plays significant role in the development of phytoplankton of the Gulf of Riga, provokes changes of species diversity, causes increase of mixotrophic and potentially toxic species (e.g. *Microcystis spp.*, *Dinophysis acuminata*), as well as induces further changes in the food webs of Gulf of Riga.

## 1 IEVADS

Ūdens ietvardirektīvu ieviešana un etalonstāvokļa definēšanas nepieciešamība pievērš arvien lielāku uzmanību piekrastes ūdeņu kvalitātei. Saskaņā ar ES direktīvu 2000/60/EC līdz 2015.gadam visiem piekrastes ūdeņiem jāatbilst labam ekoloģiskajam statusam, tāpēc nepieciešams pārskatīt piekrastes ekosistēmu funkcionēšanu un izvērtēt vai iespējams atgriezties pie etalonstāvoklim atbilstoša ekoloģiskā stāvokļa.

Pēdējos gadu desmitos eitrofikācija uzskatāma par lielāko ekoloģisko un ekonomisko problēmu daudzos Eiropas piekrastes ūdeņos, ieskaitot Baltijas jūru. Palielinātās biogēnu iekļūdes veicina aļģu masveida savairošanos, kas izraisa organisko vielu daudzuma pieaugumu, skābekļa koncentrāciju samazināšanos dziļajos ūdens slāņos un bentosa organismu bojāeju. Daudzas aļģu sugas, kas izraisa ūdens “ziedēšanu” spēj izdalīt toksīnus, kas apdraud cilvēku un dzīvnieku veselību. Veikti daudzi pētījumi, lai noskaidrotu toksisko aļģu “ziedēšanas” cēloņus, piemēram, fizikāli-ķīmisko faktoru ietekme. Pierādīts, ka palielināta neorganiskā slāpekļa un fosfora iekļūde stimulē fitoplanktona augšanu un masveidīgu savairošanos. Dažādas slāpekļa, fosfora un silīcija attiecības var izraisīt izmaiņas fitoplanktona sugu sastāvā, veicinot tieši toksisko aļģu attīstību (Pearl, 1988). Cits aļģu attīstību veicinošs faktors varētu būt no upju sateces baseina jūrā iekļūstošās izšķīdušās organiskās vielas. Piemēram, Zviedrijas rietumu piekrastē iekļūstošo humīnvielu saturs pēdējos gados pieaudzis par 50% (Carlsson et al., 1993). Sākotnēji jūras ūdenī izšķīdušās organiskās vielas tika uzskatītas par mikroskopisko aļģu barošanās procesam nederīgām. Plašajā apskatā par fitoplanktona barošanos Provasoli (1963) uzsvēra, ka tikai lēni noārdāmās organiskās vielas varētu akumulēties jūras ūdenī. Attiecīgi tika uzsvērts, ka upju ienestajām organiskajām vielām nav vispār vai ir ļoti maza nozīme kā barības vielām. Turpretim vēlāk veiktajos pētījumos uzsvērts, ka daudzas mikroskopisko aļģu kultūras spēj izmantot organiskās vielas kā vienīgo slāpekļa avotu (Antia et al., 1977; Flynn & Butler, 1986; Berman et al., 1991). Pierādīts, ka dabiskās populācijās izšķīdušās brīvās aminoskābes spēj nodrošināt aļģu augšanu un attīstību (Gilbert et al., 1991). Paleniks (1988-89) pierādīja, ka daudzas fitoplanktona sugas spēj izmantot dažādas izšķīdušās organiskās slāpekļa formas ar šūnu virsmas enzīmu palīdzību degradējot tās līdz amonija joniem. Eksperimenti pierādījuši, ka urīnviela ir svarīgs potenciālais slāpekļa avots daudzām fitoplanktona sugām piekrastes ūdeņos (McCarthy, 1972; Sorensson & Sahlsten, 1987; Tamminen & Irmisch, 1996). Bez tam, konstatēts, ka piekrastes ūdeņos potenciāli toksiskie dinoflagellāti spēj izmantot upju atnestās izšķīdušās organiskās vielas. Graneli (1985) demonstrē kā humīnskābju un fulvoskābju pievienošana *Prorocentrum minimum* kultūrai, kas audzēta filtrētā, barības vielām trūcīgā jūras ūdenī, veicina tās biomasas un augšanas ātruma pieaugumu. Minētie biogēnu bagātināšanas eksperimenti pierādījuši, ka organiskās vielas izmantotas tieši kā slāpekļa avots. Arī slāpekļa saturs šūnās, kas audzētas ūdenī ar humīnskābēm un fulvoskābēm, ir tāds pats kā šūnās, kas audzētas ar neorganisko slāpekli.

Daudz mazāk uzmanības līdz šim veltīts cianobaktēriju barošanās problēmām. Visas pārbaudītās cianobaktēriju kultūras (Kratz & Myers, 1955; Van Baalen, 1962; Kapp et al., 1975) uzrādīja labu augšanas ātrumu ar urīnvielu un purīniem, bet dažas kultūras spēja izmantot tikai atsevišķas aminoskābes kā slāpekļa avotu. Bermana (1997) pētījumos konstatēts, ka izšķīdušais organiskais slāpeklis bija lielākais slāpekļa avots dabiskā

saldūdens fitoplanktona sabiedrībā, kur dominēja cianobaktērija *Aphanizomenon ovalisporum*.

Tieši cianobaktērijas ir visbiežāk literatūrā minētā aļģu grupa, kas vasarās izraisa toksisko “ziedēšanu” Baltijas jūrā (Edler et al., 1985; Leppanen et al., 1995; Suikkanen et al., 2007). Rīgas līcī maksimālās biogēnu koncentrācijas novērotas 60.-80.gados, kad, vasaras fitoplanktonā dominēja kramaļģes (40-100% no kopējās biomasas). Dinoflagellātu, zaļāļģu un cianobaktēriju biomasas bija ļoti zemas. Neorganiskā slāpekļa koncentrācijas vasaras mēnešos sasniedza 15-70µM, bet fosfora koncentrācijas 0.1-1.2 µM, liecinot par ievērojamu slāpekļa pārsvaru un augstām DIN: DIP attiecībām (Balode & Tomson, 1984). 90.gadu sākumā notika ievērojamas izmaiņas biogēnu ieplūdē, sabruka lauksaimniecība un rūpniecība un krasi samazinājās biogēnu ieplūde, taču līdz ar to pieauga toksisko cianobaktēriju īpatsvars fitoplanktonā un Rīgas līcī tika konstatēti pirmie saindēšanās gadījumi (Tenson, 1995). Pēdējos gadu desmitos šī “ziedēšana” izvēršas plašumā un ilgumā (Kahru et al., 1994). Rīgas līcī novērota intensīva slāpekli fiksējošo cianobaktēriju- *Aphanizomenon flos-aquae* un *Nodularia spumigena* attīstība, bet piekrastē arī *Microcystis aeruginosa* un *Snovella lacustris* “ziedēšana” (Balode & Purina, 1996). To attīstība līdz šim tika saistīta tikai ar neorganiskā slāpekļa un fosfora attiecības samazināšanos pēdējos gados, taču vēlākie eksperimenti liecina, ka liela nozīme varētu būt arī izšķīdušo organisko vielu ieplūdei līcī. Lai labāk izprastu Rīgas līcī notiekošos procesus, **darba mērķis** bija veikt pētījumus par izšķīdušo organisko un neorganisko biogēnu ietekmi uz Rīgas līča fitoplanktona struktūras veidošanos un potenciāli toksisko aļģu attīstību.

Kā galvenie **darba uzdevumi** izvirzīti:

1. Noskaidrot Rīgas līča fitoplanktona attīstību limitējošos biogēnos elementus;
2. Novērot fitoplanktona strukturālās izmaiņas pie dažādām neorganisko biogēno elementu attiecībām;
3. Eksperimentāli pārbaudīt dažādu organisko slāpekļa savienojumu ietekmi uz Rīgas līča vasaras fitoplanktonu un atsevišķu monokultūru attīstību;
4. Noteikt sauszemes izcelsmes izšķīdušo organisko vielu ietekmi uz Rīgas līča fitocenozes struktūru.

### **Darba aktualitāte un praktiskā izmantošana**

1. Neorganisko un organisko biogēnu ieplūdes un aprites pētījumi Rīgas līcī iegūst īpašu aktualitāti sakarā ar HELCOM Baltijas jūras Rīcības plānu, kas paredz slāpekļa un fosfora ieplūžu samazināšanu Baltijas jūrā.
2. Pētījumi, kas saistīti ar Rīgas līča ekosistēmas funkcionēšanu ir nozīmīgi, sakarā ar Ūdeņu Ietvardirektīvas ieviešanu Latvijā, un nepieciešamību definēt ūdeņu kvalitātes klases, kā arī piekrastes ūdeņu etalonstāvokli.
3. Darba rezultāti par sauszemes izcelsmes organisko vielu ietekmes noskaidrošana uz piekrastes ūdeņu fitocenozes strukturēšanu ir būtiski piekrastes apsaimniekošanas plānu izstrādāšanā.
4. Darba aktualitāte saistās ar globālās sasilšanas un klimata izmaiņu varbūtējo seku prognozēšanu.

## Darba novitāte

- Pirmo reizi eksperimentālos apstākļos veikti pētījumi par minerālās barošanās un biogēnu limitēšanas ietekmi uz Rīgas līča fitocenozes veidošanos.
- Pirmo reizi veikti pētījumi par slāpekli saturošo organisko vielu un sauszemes izcelsmes organisko vielu lomu Rīgas līča attīstībā.
- Pirmo reizi veikti pētījumi par organisko vielu ietekmi uz Rīgas līča potenciāli toksisko aļģu attīstību.

## Pētījumu rezultātu aprobācija

Promocijas darbs- publikāciju kopsavilkums pamatojas uz 4 starptautiski atzītām publikācijām. Par darba galvenajiem rezultātiem ziņots 10 starptautiskās un 1 Latvijas mēroga konferencē.

## Galvenie darba rezultāti publicēti:

1. **Purina I.**, Balode M., Béchemin C., Poder T., Vérité C., Maestrini S., 2004. Influence of dissolved organic matter from terrestrial origin on the changes of dinoflagellates species composition in the Gulf of Riga, Baltic Sea. *Hydrobiologia* 514: 127-137.
2. Maestrini Y. S., Balode M., Bechemin C., **Purina I.**, 1999. Nitrogenous organic substances as potential nitrogen sources for summer phytoplankton in the Gulf of Riga, Eastern Baltic Sea. *Plankton Biology and Ecology*, Vol.46 (1): 8-17.
3. Balode M., **Purina I.**, Bechemin C. & Maestrini S., 1998. Effects of nutrient enrichment on the growth rates and community structure of summer phytoplankton from the Gulf of Riga, Baltic Sea. *Journal of Plankton Research* Vol. 20 no.12: 2251-2272.
4. Maestrini S., Balode M., Bechemin C., **Purina I.** & Verite C., 1997. Nutrients limiting the Algal Growth Potential (AGP) in the Gulf of Riga, eastern Baltic Sea, in spring and early summer 1996. *La Mer*, Vol. 35, 49 - 68.

## Par pētījumu rezultātiem ziņots konferencēs:

1. **Purina I.**, Purvina S., Bechemin Ch., Maestrini. S. Organisko un neorganisko biogēnu ietekme uz Rīgas līča fitoplanktona struktūru un potenciāli toksisko aļģu attīstību. LU 66.konference, 2008.gada 22.februāris, Rīga, Latvija.
2. Bekere S., **Purina I.**, Balode M. The effect of dissolved organic matter on summer bacterioplankton and phytoplankton community from the Gulf of Riga and Open Baltic Sea. 3th International Congress of Environmental Micropaleontology, Microbiology and Meiobentology, 1-6 September 2002, Vienna, Austria.
3. **Purina I.**, Balode M., Bechemin C., Poder T., Maestrini S. Influence of dissolved organic matter from terrestrial origine on the changes of phytoplankton species composition in the Gulf of Riga, Baltic Sea 36th European Marine Biology Symposium, 17 - 22 September 2001, Menorca, Spain.

4. Balode M., **Purina I.**, Bechemin Ch., Poder T. , Maestrini S. The role of inorganic and organic nutrients on the growth and community structure of summer phytoplankton of the Gulf of Riga. Baltic Sea Science Congress, 25 – 29 November 2001, Stockholm, Sweden.
5. **Purina I.**, Balode M., Bechemin Ch., Poder T. , Maestrini S. Dinoflagellates population dynamic under influence of dissolved organic matter from terrestrial origin in the Gulf of Riga, Baltic Sea. Baltic Sea Science Congress, 25 – 29 November 2001, Stockholm, Sweden.
6. Ward C., Codd G., Béchemin C., Maestrini S.Y., Balode M., **Purina I.**, Pöder T., Lips U. Seasonal variation in protein phosphatase-inhibiting phycotoxins in the Gulf of Riga, Baltic Sea. 9th International Conference on Harmful algal blooms, 7 – 11 February 2000, Tasmania, Australia.
7. Balode M., Ward C., Hummert C., Reichelt M., **Purina I.**, Bekere S., Pfeifere M. The first toxicological studies of Harmful algal blooms in Latvian waters. 9th International Conference on Harmful Algal Blooms, 7 – 11 February 2000, Tasmania, Australia.
8. Balode M., **Purina I.**, Béchemin C., Maestrini S. Effects of nutrient enrichment on the growth rates and community structure of summer phytoplankton from the Gulf of Riga. 16th International Diatom Symposium, 25 – 27 August 2000, Athens, Greece.
9. Bekere S., Bechemin C., Maestrini S., Balode M., **Purina I.** The effect of dissolved organic matter from land origin on the growth of bacterioplankton from the Gulf of Riga and Open Baltic Sea. 7th European Marine Microbiology Symposium, 17-22 September 2000, Nordwijkerhout, Netherlands.
10. Balode M. & **Purina I.** Harmful algal blooms in Latvian inland waters. Abstracts of the International Conference "LAKE", 17 - 21 May 1999, Copenhagen, Denmark.
11. Balode M., Maestrini S.Y., Bechemin Ch., **Purina I.** Ecological aspects of cyanobacterial blooms in the Gulf of Riga, Eastern Baltic Sea. International Conference "Marine Cyanobacteria and related organisms", 22 - 28 November 1997, Paris, France.

#### **Kopējais publikāciju saraksts:**

1. Balode M., **Purina I.**, Purvina S., Pfeifere M., Barda I. & Povidisa K., 2006. Toxic cyanobacteria in the lakes located in Riga (the capital of Latvia) and its surroundings: present state of knowledge. *African Journal of Marine Science*, 28(2): 225-230.
2. Heiskanen A.-S., Carstensen J., Gasiūnaite Z.R., Henriksen P., Jaanus A., Kauppila P., Lysiak-Pastuszak E., **Purina I.**, Sagert S., 2005. Monitoring strategies for phytoplankton in the Baltic Sea coastal waters. *Inland and Marine Waters*, EUR 21583 EN: 45pp.
3. Gasiūnaite Z.R., Cardoso A.C., Heiskanen A.-S., Henriksen P., Kauppila P., Olenina I., Pilkaityte R., **Purina I.**, Razinkovas A., Sagert S., Schubert H., Wasmund N., 2005. Seasonality of coastal phytoplankton in the Baltic Sea: Influence of salinity and eutrophication. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 65: 239-252.
4. **Purina I.**, Balode M., Béchemin C., Poder T., Vėritė C., Maestrini S., 2004. Influence of dissolved organic matter from terrestrial origin on the changes of dinoflagellates species composition in the Gulf of Riga, Baltic Sea. *Hydrobiologia*, 514: 127-137.
5. Berg M.G., Balode M., **Purina I.**, Bechemin C., Maestrini S., 2003. Plankton community composition in relation to availability and uptake of oxidized and reduced nitrogen. *Aquatic Microbial Ecology*, Vol.30:263-274.
6. Poder T., Maestrini S.Y., Balode M., Lips U., Bechemin C., Andrushaitis A. and **Purina I.**, 2003. The role of inorganic and organic nutrients on the development of phytoplankton along a transect from the Daugava River mouth to the Open Baltic, in spring and summer 1999. *ICES Journal of Marine Science*, 60: 827-835.
7. Ojaveer E., Simm M., Balode M., **Purina I.** & Suursaar U., 2003. Effect of *Microcystis aeruginosa* and *Nodularia spumigena* upon the survival of *Eurytemora affinis* and the embryonic and larval development of the Baltic herring *Clupea harengus membras*. *Environmental Toxicology*, Vol. 18, Issue 4: 236-242.
8. Berg M.G., Glibert P.M., Jorgensen N.O.G., Balode M., **Purina I.**, 2001. Variability in inorganic and organic nitrogen uptake associated with riverine nutrient input in the Gulf of Riga, Baltic Sea. *Estuaries*, 24 (2): 204-214.
9. Maestrini Y. S., Balode M., Bechemin C., **Purina I.**, 1999. Nitrogenous organic substances as potential nitrogen sources for summer phytoplankton in the Gulf of Riga, Eastern Baltic Sea. *Plankton Biology and Ecology*, Vol.46 (1): 8-17.



10. Maestrini Y. S., Balode M., Bechemin C., **Purina I.**, Botva U., 1999. Nitrogen as the nutrient limiting the algal growth potential, for summer natural assemblages in the Gulf of Riga, eastern Baltic Sea. *Plankton Biology and Ecology*, Vol.46 (1):1-7.
11. Balode M., **Purina I.**, Bechemin C. & Maestrini S., 1998. Effects of nutrient enrichment on the growth rates and community structure of summer phytoplankton from the Gulf of Riga, Baltic Sea. *Journal of Plankton Research* Vol. 20 no.12: 2251-2272.
12. Maestrini S., Balode M., Bechemin C., **Purina I.** & Verite C., 1997. Nutrients limiting the Algal Growth Potential (AGP) in the Gulf of Riga, eastern Baltic Sea, in spring and early summer 1996. *La Mer*, Vol. 35, 49 - 68.
13. Balode M., **Purina I.**, 1996. Harmful phytoplankton in the Gulf of Riga (the Baltic Sea). Harmful and Toxic Algal Blooms, Yasumoto T., Oshima Y. & Fukuyo, Y. (Eds), IOC of UNESCO, Paris; *Proceedings of the 7th International Conference on Toxic Phytoplankton*, 12-16 July 1995, Sendai, Japan: 69 - 72.

### **Darbs izstrādāts sekojošu projektu ietvaros:**

Latvijas-Francijas sadarbības projekts (1996-1999)

ES projekts DOMTOX (MAS3-CT97-0149 and IC20-CT98-0109, 1998-2001)

LZP projekts “Vides faktoru ietekme uz potenciāli toksisko aļģu attīstību Latvijas teritoriālajos ūdeņos” (2001-2003)

LZP projekts: „Vides faktoru loma potenciāli toksisko aļģu attīstībā un toksīnu producēšanā Latvijas teritoriālajos ūdeņos” (2001-2004).

LZP sadarbības projekts “Baltijas jūras atklātās daļas ekosistēmu ilgspējīgas apsaimniekošanas zinātnisko pamatu izstrāde” AP4. „Cianobaktēriju hepatotoksīnu transports un bioakumulācija Baltijas jūras atklātās daļas Latvijas teritoriālajos ūdeņos” (2005-2008)

Eiropas Sociālo Fondu finansiāls atbalsts (2005-2008).

## **2 MATERIĀLI UN METODES**

### **2.1 Vispārējās metodes**

#### **2.1.1 Paraugu ievākšana**

Materiāla ievākšana veikta laika posmā no 1996. - 2000.gadam ar Z/P kuģiem “Antonija” un “Arno”. Eksperimentālo darbu vajadzībām jūras ūdens paraugi ievākti Rīgas līča 3 griezumos (Saulkrastos, Mellužos un Daugavā), kā arī Rīgas līča piekrastē- Dubultos, Jaunķemeros, Lapmežciemā, Lielupē, Mellužos un Ragaciemā (1.att.). Bez tam paraugi ievākti arī Rīgas līča centrālajā daļā (119. un 121.st.) un Baltijas jūras atklātajā daļā (34a.st.). Ūdens paraugi ievākti ar Niskina tipa batometru.

#### **2.1.2 Fitoplanktona analīzes**

Fitoplanktona paraugiem fiksēšanai tika pievienots etiķskābais Lugola šķīdums. Šūnu skaits noteikts ar invertēto mikroskopu Leica pēc Utermela metodes (Uthermöl, 1958). Šūnu biomasas aprēķiniem šūnas pielīdzinātas ģeometriskām figūrām saskaņā ar BMB (Edler, 1979) rekomendācijām.



1.att. Rīgas līča karte.

### 2.1.3 *In vivo fluorescence*

Aļģu *in vivo* fluorescence tika mērīta ar 10 AU Turner fluorometru (Brand et al., 1981), novērojot aļģu augšanas līkni, ietverot adaptācijas-, eksponenciālo un stacionāro augšanas fāzi.

### 2.1.4 *Hlorofils a*

Hlorofils *a* tika noteikts pēc Jespersena un Kristofersena metodes (Jespersen&Christofersen, 1987).

### 2.1.5 *Biogēnu analīzes*

Amonija un fosfāta joni tika noteikti tūlīt pēc paraugu ievākšanas Z/P kuģu “Antonija” un “Arno” laboratorijā, saskaņā ar Korolefa (Koroleff, 1976a) un Mērfija un Raileja (Murphy & Riley, 1962) metodēm. Pārējie biogēni tika analizēti ar Skalar automātisko analizētāju: nitrāti pēc Stricklanda un Pārsona (1972), nitrīti pēc Bendšneidera un Robinsona (1952), silikāti pēc Molina un Raileja (1965), kopējais slāpekļis un kopējais fosfors pēc Kolosa un Mornē (1993).

### 2.1.6 Organisko vielu ekstrakcija

Izšķīdušās organiskās vielas (DOM) tika ekstrahētas no Daugavas grīvas rajona un Pērnavas upes.

Ekstrahēšanā izmantota tangenciālās plūsmas ultrafiltrēšanas metode (Guo et al., 1995; Benner et al., 1997). Upes ūdens vispirms tika atfiltrēts caur 1.2 μm un 0.2 μm Opticap filtriem (Millipore), pēc tam DOM tika koncentrēts ar tangenciālās ultrafiltrēšanas iekārtu Prep/scale™ TFF 6 ft<sup>2</sup> kārtidžu (Millipore). Eksperimentā izmantota DOM frakcija ( $M > 10^3$  daltoni [Da]).

Kopējā izšķīdušā slāpekļa un fosfora koncentrācijas tika mērītas pēc persulfāta sadalīšanas pie 120°C (Pujo-Pay & Raimbault, 1994); DON koncentrācijas tika aprēķinātas kā starpība starp kopējo izšķīdušo slāpekli (TDN) un izšķīdušo neorganisko slāpekli ( $DIN = NO_3^- + NO_2^- + NH_4^+$ ); DOP koncentrācija tika aprēķināta kā starpība starp kopējo izšķīdušo fosforu (TDP) un fosfātiem.

### 2.1.7 Datu statistiskā apstrāde

Datu atbilstība normālajam sadalījumam tika pārbaudīta ar Kologorova-Smirnova testu. Dati, kas neatbilda normālajam sadalījumam, tika logaritmiski transformēti. Eksperimenta sērijas salīdzinātas ar dispersijas analīzi (ANOVA). Statistiski nozīmīgās atšķirības starp eksperimenta sērijām tika apzīmētas ar  $P < 0.05$ . Statistiskai apstrādei sākotnēji izmantotas Quatro Pro un Excel programmas, vēlāk SPSS 11.5.0 for Windows.

## 2.2 Eksperimentu metodika

### 2.2.1 Rīgas līča fitoplanktona attīstību limitējošie biogēnie elementi (I.raksts)

Ūdens paraugi tika ievākti 1996. gadā no maija līdz jūlijam Rīgas līča 3 griezumos (Saulkrastos, Mellužos un Daugavā) 5 izobātās (3m, 5m, 10m, 20m, 30m) sekojošos dziļumos (0m, 5m, 10m, 20m, 30m dziļumā), kā arī Rīgas līča centrālajā daļā iepriekšminētajos dziļumos (121.stacijā; 1.att.). Papildus paraugi tika ievākti Rīgas līča piekrastē - Dubultos, Jaunķemeros, Lapmežciemā, Lielupē, Mellužos un Ragaciemā. Aļģu atfiltrēšanai 1L ūdens tika filtrēts uz Whatmann GF/C filtra, sasaldēts un uzglabāts -20°C līdz eksperimentiem.

Katrai eksperimentu sērijai barības vielas tika pievienotas saskaņā ar eksperimenta plānu 1ml tilpumā: **Viss, Viss-N, Viss-P, Viss-Si, Vis- (Fe-EDTA), Viss-Vit, Vis-Met.** Barības vielu šķīdumu koncentrācijas: **Viss=N**(50μM) +**P**(3.4μM) +**Si**(60μM) +**Fe**(200nM) +**EDTA**(1.2μM) +**Met**(Co 5nM; Mn 100nM; Mo 100nM) +**Vitamīni**(biotīns 410pM; cianokobalamīns 135pM; tiamīns 150nM). Kontrolei izmantots nebagātināts jūras ūdens. Kā testa aļģes tika izmantotas cianobaktēriju *Microcystis aeruginosa* kultūra, jo šī suga bieži sastopama Rīgas līča piekrastē, un kramaļģe *Phaeodactylum tricornutum* (audzēta Plimutas Jūras Bioloģijas laboratorijā), kas plaši pazīstama kā suga, kas spēj izmantot ekstremāli zemas barības vielu koncentrācijas (Bonin et al., 1986). Katrā paraugā aļģu kultūras tika pievienotas ar sākotnējo aļģu šūnu koncentrāciju vidēji  $300 \cdot 10^6$  šūnas $\cdot L^{-1}$  (*Microcystis aeruginosa* gadījumā) un vidēji  $8 \cdot 10^6$  šūnas $\cdot L^{-1}$  (*Phaeodactylum tricornutum* gadījumā).

Paraugi tika inkubēti pie  $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  apgaismojuma intensitātes, 14h gaismas un 10h tumsas perioda,  $\sim 20^{\circ}\text{C}$  temperatūrā.

Aļģu augšanai sekoja mērot *in vivo* fluorescenci.

Lai noteiktu limitējošo barības elementu, tika salīdzinātas aļģu augšanas līknes un aprēķināts koeficients =Viss-X/Kontrole. Jo koeficients mazāks, jo vairāk attiecīgais elements limitē aļģu augšanas potenciālu.

### **2.2.2 Biogēno elementu attiecību ietekme uz fitoplanktona struktūras izmaiņām (II.raksts)**

Ūdens paraugi ievākti Dubultos no virskārtas. Pirms eksperimenta ūdens tika filtrēts caur  $150\mu\text{m}$  gāzi, lai atbrīvotos no lielajiem zooplanktona organismiem.

Biogēni pievienoti 7 dažādās koncentrācijās, lai novērotu DIN:DIP gradientu no 1.8 (kontrolē) līdz 45 (attiecīgi- no izteiktas slāpekļa limitācijas līdz izteiktai fosfora limitācijai). Pēdējās 4 eksperimentu sērijās pie DIN:DIP attiecības 23.7 tika pievienoti atsevišķi  $\text{SiO}_4$ , Fe, Met un  $\text{SiO}_4+\text{Fe}+\text{Met}$ . Eksperimenta ilgums 10 dienas. *In vivo* fluorescence, hlorofils *a*, biogēni, fitoplanktons noteikti kā aprakstīts 2.1. nod.

### **2.2.3 Dažādu organisko slāpekļa savienojumu ietekme uz Rīgas līča dabiskā vasaras fitoplanktona attīstību (III.raksts)**

Ūdens paraugi ievākti 1996.gada jūlijā Daugavas griezumā sekojošās izobātās: 10m, 20m, 30m, 40m (119.st.), 55m (121.st.) Ūdens tika filtrēts caur  $150\mu\text{m}$  gāzi, lai atbrīvotos no lielajiem zooplanktona organismiem.

Eksperimentā virskārtas ūdens bagātināts ar P, Si un Fe-EDTA un pievienotas N saturošas organiskās vielas- glutamīnskābe, glicīns, hipoksantīns, putrescīns, spermīns, guanīns, urīnviela ( $25\mu\text{M}$ ) sabalansētās koncentrācijās (N:P:Si=16:1:1), kā arī  $\text{NH}_4^+$  salīdzināšanai. Eksperimenta ilgums 10 dienas. *In vivo* fluorescence, hlorofils *a* un biogēni noteikti tāpat kā aprakstīts 2.1.nod.

### **2.2.4 Slāpekli saturošu organisko savienojumu un sauszemes izcelsmes izšķīdušo organisko vielu (DOM) ietekme uz *Microcystis aeruginosa* attīstību (III.raksts)**

Eksperimenta sērijās pievienoti biogēni:  $\text{PO}_4^{3-}$  ( $1.7\mu\text{M}$ ), Fe-EDTA ( $100\text{nM}$ ,  $0.6\mu\text{M}$ ), kā arī dažādi neorganiskie (nitrāti, amonija joni) un organiskie slāpekļa savienojumi (glicīns, hipoksantīns, putrescīns, spermīns, urīnviela)  $25\mu\text{M}$  koncentrācijās, un no Daugavas ekstrahētais DOM  $>1000\text{Da}$  (sk.2.1.6).

Pievienota *Microcystis aeruginosa* tīrkultūra ar sākotnējo koncentrāciju  $6\cdot 10^7$  šūnas/L. *In vivo* fluorescence tika mērīta katru dienu.

### **2.2.5 Sauszemes izcelsmes izšķīdušo organisko vielu (DOM) ietekme uz Rīgas līča vasaras fitoplanktonu (IV.raksts)**

Eksperimenti tika veikti ar Rīgas līča vasaras fitoplanktonu pārejas posmā pēc fitoplanktona pavasara “ziedēšanas” un pirms vasaras “ziedēšanas”. Paraugi ievākti Rīgas līča centrālajā daļā (121.st.) un salīdzināšanai Baltijas jūras atklātajā daļā (34a.st.). Sauszemes izcelsmes organiskās vielas (DOM,  $M > 1000 \text{ Da}$ ) ekstrahētas ar tangenciālās ultrafiltrēšanas metodi no Pērnavas upes (skat. 2.1.6.nod.). Ūdens iepildīts 20L pudelēs, kas izvietotas baseinos, kuros tika cirkulēts upes ūdens, lai nodrošinātu vienmērīgu temperatūru. Izveidotas 5 eksperimentu sērijas. Biogēni pievienoti pēc eksperimenta plāna, nodrošinot sabalansētas DIN:DIP attiecības: DOM (DON:25); DOM+NO<sub>3</sub> (DON:12.5 + DIN:12.5); DOM+PO<sub>4</sub> (DON:25 + DIP:1.6); NO<sub>3</sub>+PO<sub>4</sub> (DIN:25 + DIP:1.6). Kontrolei izmantots nebagātināts jūras ūdens.

*In vivo* fluorescence un hlorofils *a* tika mērīti katru dienu. Fitoplanktona un biogēnu analīzes veiktas eksperimenta sākumā, eksponenciālās augšanas fāzē, stacionārās augšanas fāzes sākumā un beigās.

### 3 REZULTĀTI UN TO APSPRIEŠANA

#### 3.1 Rīgas līča fitoplanktona attīstību limitējošie biogēnie elementi (I.raksts)

Biogēnu limitēšanas pētījumi Baltijas jūrā veikti gan atklātajā daļā, gan atsevišķās Baltijas jūras daļās. Literatūrā pieejamie rezultāti liecina par izteiktu slāpekļa limitāciju Baltijas jūras centrālajā daļā un Somu līča atklātajā daļā, bet Botnijas līcī un Ņevas estuārijā konstatēta izteikta fosfora limitācija visā veģetācijas periodā (Tamminen et al., 1985; Graneli et al., 1990; Lignell et al., 1992; Kivi et al., 1993; Pitkanen and Tamminen, 1995). Eksperimentālie darbi Rīgas līcī uzsākti vadoties pēc **hipotēzes, ka Rīgas līcis, līdzīgi kā Botnijas līcis un Ņevas estuārijs, ir piesārņots ar biogēnajām vielām un fitoplanktona attīstību veģetācijas sezonā limitē fosfors.**

Lauku pētījumos Rīgas līcī **pavasara periodā** konstatētas augstas neorganiskā slāpekļa (DIN) koncentrācijas. Ar sevišķi augstām  $\text{NO}_3^-$  koncentrācijām ( $108.3\mu\text{M}$ ) raksturojās līča centrālā daļa (121.stacija). Neorganiskā fosfora (DIP) koncentrācijas šajā laikā bija salīdzinoši zemas un DIN: DIP attiecība bija 8-167, 63% gadījumu pārsniedzot Redfielda attiecību 16:1, kas liecina par izteiktu fosfora limitāciju. Arī silīcija koncentrācijas bija zemas un DIN: $\text{SiO}_3$  vairumā gadījumu svārstījās starp 1.6 un 24.7.

**Vasaras sākumā** (jūnijā) biogēnu koncentrācijas Rīgas līča dienvidu daļā bija ievērojami samazinājušās, taču DIN:DIP attiecības joprojām, vairumā gadījumu, pārsniedza 16. Silīcija koncentrācijas bija samazinājušās vidēji līdz  $5.3\mu\text{M}$ , bet DIN:  $\text{SiO}_3^{2-}$  attiecība robežojās no 0.5-5.2.

**Vasarā** (jūlijā) neorganiskā slāpekļa koncentrācijas bija ļoti zemas, taču fosfora un silīcija koncentrācijas šai periodā saglabājās samērā augstas, attiecīgi sastādot  $0.3\mu\text{M}$  un  $4.5\mu\text{M}$ . Kā izņēmums jāmin Lielupes grīva, kur tika novērotas salīdzinoši augstākas biogēnu vērtības ( $10.4\mu\text{M}$  DIN,  $1.14\mu\text{M}$  DIP un  $8.4\mu\text{M}$   $\text{SiO}_3^{2-}$ ). Attiecīgi visas DIN:DIP vērtības bija zemākas par 16 (liecinot par slāpekļa limitāciju) un DIN: $\text{SiO}_3 < 1$  (izņemot Lielupes st.).

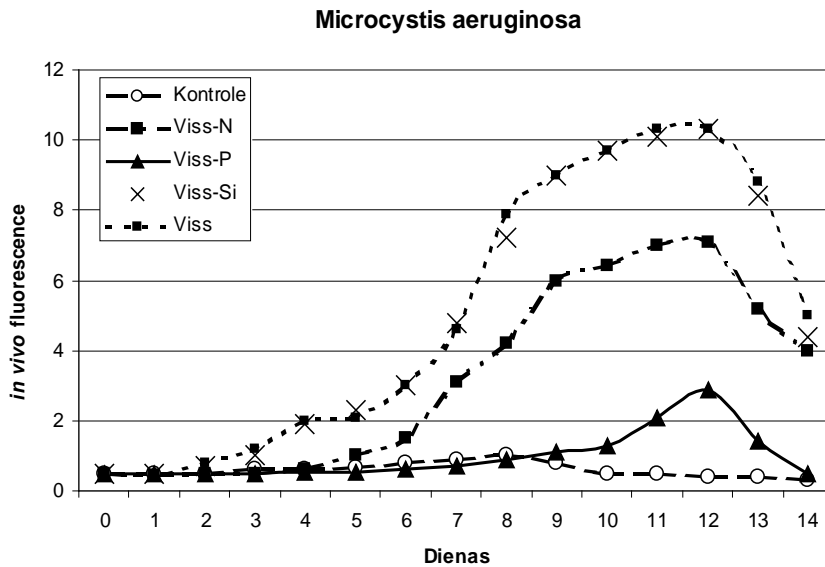
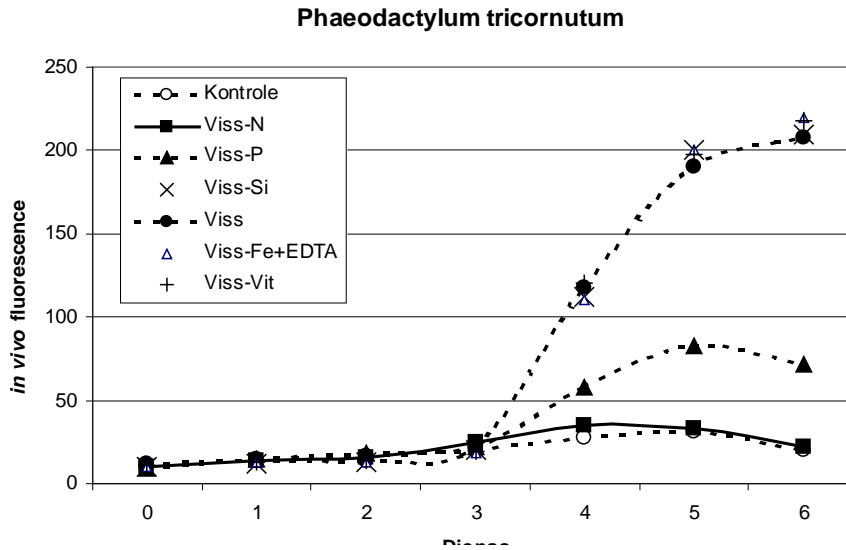
1. tabula. Neorganisko biogēnu koncentrācijas Rīgas līcī ievāktajos paraugos (1996.gads).

Mēnesis	DIN, $\mu\text{M}$		DIP, $\mu\text{M}$		Si, $\mu\text{M}$	
	Min-max.	Vid.	Min-max.	Vid.	Min-max.	Vid.
Maijs	4.7-108.3	29.5	0.22-1.2	0.62	0.4-27.4	9.4
Jūnijs	6.0-13.4	4.9	0.003-0.4	0.13	1.3-19.5	5.3
Jūlijs	1.6-10.4	2.8	0.17-1.14	0.33	2.0-8.4	4.5

Rīgas līcī visās sezonās ievāktais jūras ūdens nodrošināja labu testa kultūru *Phaeodactylum tricornutum* un *Microcystis aeruginosa* pieaugumu 93% gadījumu. Tikai 7% gadījumu tika novērots vājš alģu biomasas pieaugums. Kopumā, kramaļģe *Ph.tricornutum* uzrādīja lielāku augšanas ātrumu nekā cianobaktēriju *M.aeruginosa* kultūra (2.att.).

Kontrolē novērots tikai neliels testa alģu biomasas pieaugums, vidēji sastādot 20.4% maijā un jūnijā, bet tikai 6.6% pieaugumu jūlijā, liecinot, ka pavasarī ūdenī vēl pieejamas biogēnu rezerves, bet tās ievērojami samazinās vasaras periodā.

Eksperimentu sērijās Viss-N un Viss-P vērojams tikai neliels biomasas pieaugums, salīdzinājumā ar kontroli, kas liecina, ka slāpeklis vai fosfors ir limitējošie elementi. Turpretim eksperimentu sērijās Viss-Si, Viss-Vit un Viss-Fe+EDTA novērojami lielāks testa aļģu biomasas pieaugums nekā kontrolē, liecinot, ka šīs vielas nelimitē fitoplanktona attīstību.



2.att. *Phaeodactylum tricornutum* un *Microcystis aeruginosa* augšanas līknes dažādu biogēno elementu klātbūtnē.

Kopumā vērojama tendence, ka aļģu augšanas potenciālu limitē vismaz 2 biogēnie elementi. Tikai 14% gadījumu slāpeklis bija vienīgais limitējošais elements, bet 21% gadījumu augšanas potenciālu limitēja 3 elementi (N, P, Fe-EDTA). Kopumā konstatēts, ka slāpeklis limitēja abu testa aļģu sugu attīstību 68% gadījumu, fosfors 13%, bet N un P kopā- 19%. Atsevišķās eksperimentu sērijās Fe+EDTA parādās kā limitējošais elements,

bet, pretēji gaidītajam, silīcijs nekad neierobežoja aļģu augšanas potenciālu. Biogēnu limitēšanā novērotas sezonālas un telpiskas atšķirības.

Vadoties pēc 70.-80.gadu pētījumiem tika uzskatīts, ka arī Rīgas līcī vērojama izteikta fosfora limitācija, kā to apliecināja neorganisko biogēnu koncentrācijas (Nehring et al., 1987; Yurkovskis et al., 1993). Taču vēlākie pētījumi liecina, ka 80-to gadu beigās un 90-to gadu sākumā Rīgas līcī notikušas nozīmīgas izmaiņas. Līdz ar lauksaimniecības un rūpniecības sabrukumu slāpekļa iepļūdes Rīgas līcī būtiski samazinājās, bet fosfora iepļūde palika iepriekšējā līmenī un pat pieauga, radot priekšnoteikumus slāpekļa limitācijai (Yurkovskis et al., 1996), kā to apstiprina arī mūsu rezultāti.

Biogēnu koncentrācijas mūsu ievāktajos paraugos un eksperimenta rezultāti liecina, ka biogēnu limitēšanai ir izteikti sezonāls un telpisks raksturs. **Izvirzītā hipotēze par fosfora limitēšanu Rīgas līcī apstiprinājās tikai pavasarī**, kad upju notece ir vislielākā un Rīgas līcī no sateces baseina lauksaimniecības zemēm bagātīgi ieplūst biogēnie elementi, galvenokārt, slāpeklis. Šai laikā kopumā līcī novērojamas augstas DIN:DIP attiecības un Rīgas līča dienvidu daļā fitoplanktona augšanu ierobežo nepietiekošs fosfora daudzums, izraisot fosfora limitāciju. Turpretim līča rietumu piekrastē, kuru upju notece neietekmē, limitējošais elements pārsvarā bija slāpeklis.

**Jūnijā, pēc pavasara “ziedēšanas”,** kad biogēnu rezerves jau bija iztērētas, **gan slāpeklis, gan fosfors bija limitējošie elementi**, taču dziļākajos ūdens slāņos un ārpus upju ietekmes zonas **aļģu attīstību limitēja slāpeklis**.

**Vasarā,** pie vismazākās upju noteces, **aļģu augšanas potenciālu visā līča teritorijā limitēja slāpeklis**. Šos rezultātus apstiprina arī līdzīgi biogēnu limitēšanas eksperimenti, kas veikti Rīgas līcī (Tamminen, Seppälä, 1999; Seppälä et al., 1999).

Taču biogēnu limitēšana atkarīga arī no fitoplanktona sugu sastāva. Vienādos apstākļos dažādām aļģu sugām var būt dažādi limitējošie elementi (Sakshaug et al., 1983; Graneli et al., 1990; Pitkänen and Tamminen, 1995, Neill, 2005), piemēram, Somu līcī vasaras mēnešos fitoplanktona attīstību ierobežoja slāpekļa trūkums, bet cianobaktērijas *Nodularia spumigena* attīstību limitēja zemas fosfora koncentrācijas (Rinne and Tarkiainen, 1978). Pierādīts, ka slāpekli fiksējošās cianobaktērijas gūst priekšrocības sugu konkurencē pie zemām DIN un DIP koncentrācijām, jo spēj efektīvāk asimilēt fosforu zemās koncentrācijās (Kononen et al., 1996). 1990-to gadu sākumā vasaras mēnešos intensīva potenciāli toksisko cianobaktēriju „ziedēšana” novērota arī Rīgas līcī (Balode and Purina, 1996), kas saistīta ar slāpekļa koncentrācijas un līdz ar to arī DIN:DIP attiecības samazināšanos Rīgas līcī (Yurkovskis et al., 1996), ko apstiprina arī mūsu eksperimentos novērotā **slāpekļa limitācija**. Rīgas līcī no cianobaktēriju masveidā attīstās galvenokārt N<sub>2</sub>-fiksējošās sugas (piem., *Aphanizomenon flos-aquae*; *N.spumigena*), kuras pie zemas DIN:DIP attiecības spēj izkonkurēt citas aļģu sugas.

### 3.2 *Biogēno elementu attiecību ietekme uz fitoplanktona strukturālām izmaiņām (II.raksts)*

Biogēnu pieejamība ir viens no svarīgākajiem fitoplanktona populācijas un pelagiskās barības ķēdes strukturējošiem faktoriem (Thingstad & Sakshaug, 1990; Rejmankova & Komarkova, 2005). Sugu konkurence pamatojas uz izšķīdušo biogēnu koncentrācijām, šūnu biogēnu uzņemšanas ātrumu un specifisko augšanas ātrumu (Sunda and Hardison,



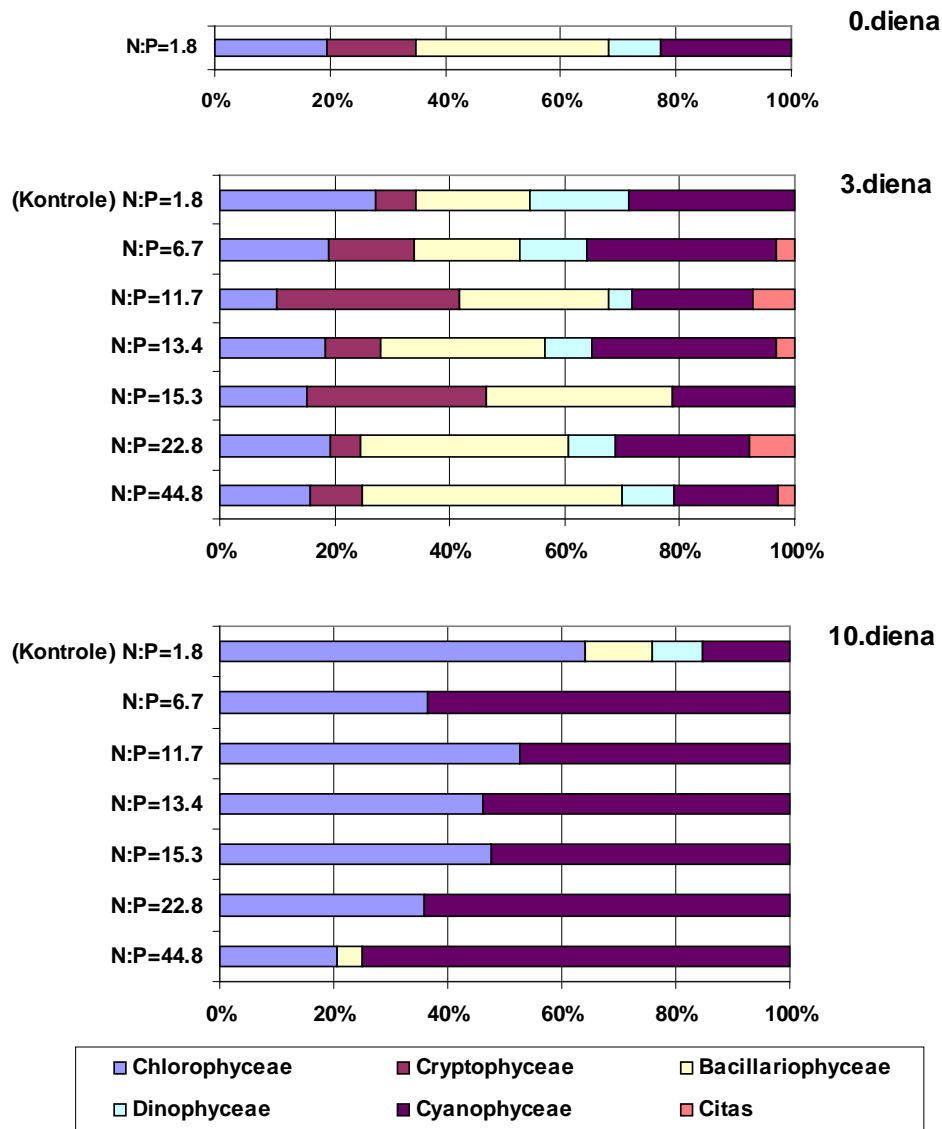
2007). Izmainoties biogēnu ieplūdēm un biogēno elementu attiecībām, ekosistēmā notiek sugu sastāva izmaiņas, kā arī mainās ekosistēmas pirmprodukcija un biogēnu aprīte. Šie faktori, iespējams, veicina tieši toksisko aļģu attīstību (Pearl, 1988; Rejmankova and Komarkova, 2005), tāpēc izvirzīta **hipotēze, ka biogēno elementu izsīkšana un DIN:DIP attiecības samazināšanās veicina potenciāli toksisko cianobaktēriju attīstību.**

Rīgas līcī veiktajos eksperimentos pēc biogēnu pievienošanas visās eksperimenta sērijās sākās straujš fitoplanktona biomasas pieaugums un DIN koncentrācijas proporcionāli samazinājās. Eksperimenta sērijās, kurās bija pievienoti amonija joni un nitrāti, amonijs tika izmantots vispirms. Kultūrās ar pievienotu urīnvielu, tās koncentrācijas samazinājās par 94%, liecinot par ievērojamu šīs vielas patēriņu. Sākotnēji pievienotās izšķīdušā fosfora koncentrācijas nekad netika pilnībā patērētas, maksimāli patērējot tikai 82% izšķīdušā fosfora.

Nereti, ūdeņos ar zemām N koncentrācijām, fitoplanktonam galvenais izšķīdušā slāpekļa avots ir amonijs, bet nitrāti, kas ir enerģētiski grūtāk asimilējami, tiek izmantoti pēc tam (Harrison et al., 1996). Konstatēts, ka nitrātu uzņemšana beidzas, ja amonija koncentrācijas pārsniedz 0.5-1 μM un atsākas, kad amonija jonu koncentrācijas nokrītas zem šīs vērtības (Eppley et al., 1969). Arī mūsu eksperimentā ar amoniju bagātinātajās kultūrās konstatēts, ka nitrātu uzņemšana sākās pēc tam, kad amoniju jonu koncentrācijas bija ievērojami samazinājušās. Konstatēts, ka arī urīnviela tiek labāk izmantota nekā nitrāti (Sorensson et al, 1989) un var kalpot par ievērojamu Baltijas jūras fitoplanktona slāpekļa avotu (Tamminen and Irmish, 1996).

Eksperimentos ar dabiskām vasaras fitoplanktona populācijām eksperimenta sākumā tika konstatētas 29 aļģu sugas, kas pieder 5 aļģu klasēm: Chlorophyceae, Cryptophyceae, Bacillariophyceae, Dinophyceae un Cyanophyceae (3.att.). Fitoplanktona biomasā dominēja kramaļģes un cianobaktērijas, attiecīgi veidojot 33.5 un 22.6% no kopējās biomasas. Dominējošās sugas bija *Thalassiosira baltica*, *Snowella lacustris* un *Monoraphidium contortum*.

Eksperimenta laikā visās kultūrās bija vērojams fitoplanktona biomasas pieaugums. Hlorofila *a* koncentrācijas pieauga no 21.8 līdz 133.6 μg\*I<sup>-1</sup>, liecinot par intensīvu aļģu metabolismu. Biogēnu pievienošana būtiski izmainīja fitocenozes struktūru. Kultivēšanas 3. dienā bija izzudušas lielākā daļa dinoflagellātu un zaļāļģu. Turpretim, kramaļģe *Skeletonema costatum* un kriptofītaļģe *Teleaulax amphioxeia* sasniedza lielāko dalīšanās ātrumu kultūrās ar augstākajām biogēnu koncentrācijām (attiecīgi- 1.2-1.7 dal. d<sup>-1</sup> un 0.7-1.2 dal. d<sup>-1</sup>), taču eksperimenta beigās tās vairs nebija sastopamas. Šīm aļģēm maksimālais augšanas ātrums konstatēts eksperimentu sērijās, kur limitējošais elements bija fosfors (DIN:DIP>16). No cianobaktērijām *Microcystis reinboldii* spēja visātrāk asimilēt biogēnos elementus, pirmajās 3 dienās sasniedzot augšanas ātrumu 0.5-1.7 dal.d<sup>-1</sup> atkarībā no kultivēšanas apstākļiem, bet eksperimenta beigās to augšanas ātrums ievērojami samazinājās. Eksperimenta beigās, no sākotnēji konstatētajām 29 sugām, bija saglabājušies ~40% sugu. Šīs izmaiņas skāra galvenokārt dinoflagellātus, kam no 6 sugām saglabājās tikai *Dinophysis acuminata*. No kramaļģēm ievērojamu biomasu sasniedza tikai *Thalassiosira baltica*. No zaļāļģēm un kriptofītiem palika 50% sugu, turpretim, cianobaktērijām saglabājās pat 80% sugu. Zaļāļģes *O.borgei* un cianobaktērijas *M.wessenbergii* un *Snowella lacustris* sasniedza lielāko augšanas ātrumu eksperimenta beigās (>1 dal.d<sup>-1</sup>). *O.borgei* biomasu pieauga no 7.7% līdz 51.0%, *M. reinboldii* no 0.1%



3.att. Fitoplanktona strukturālās izmaiņas eksperimenta gaitā (biomasa,%).

līdz 10.8%, bet *S. lacustris* no 12.4% līdz 63.5% no kopējās fitoplanktona biomasas. Citu 9 sugu biomasa bija niecīga.

Literatūrā atrodami dati, ka zemas silīcija un slāpekļa, kā arī silīcija un fosfora attiecības veicina toksisko cianobaktēriju attīstību vasaras mēnešos (Smayda, 1990; Sommer, 1996). Līdz 1980.gadam silīcija limitēšana Rīgas līcī netika konstatēta, bet pēdējo gadu dati liecina, ka silīcijs var limitēt kramaļģu attīstību pavasara ziedēšanas laikā (Yurkovskis et al., 1993). Taču silīcija pievienošana eksperimenta laikā neatjaunoja kramaļģu attīstību, tātad silīcijs nevar tikt uzskatīts par limitējošo elementu vasaras fitoplanktona attīstībā. Kramaļģes *Skeletonema costatum* un *Thalassiosira pseudonana* ir ātri augošas aļģes ( $>2 \text{ dal.d}^{-1}$ ), kas viegli pielāgojas temperatūras, sāļuma un biogēnu izmaiņām (Guillard & Ryther, 1962; Bonin et al., 1986). Turpretim lielākā daļa planktona cianobaktēriju tiek uzskatītas par lēni augošām, sasniedzot tikai  $0.3$  līdz  $1.3 \text{ dal.d}^{-1}$  (Zevenboom & Mur, 1984; Robarts & Zohary, 1987). Tātad varētu sagaidīt, ka eksperimenta beigās kramaļģes *S.costatum* būs dominējošā suga. Tā vietā eksperimenta beigās dominēja zaļāļģes *Monoraphidium contortum*, *O.borgei* un potenciāli toksiskās

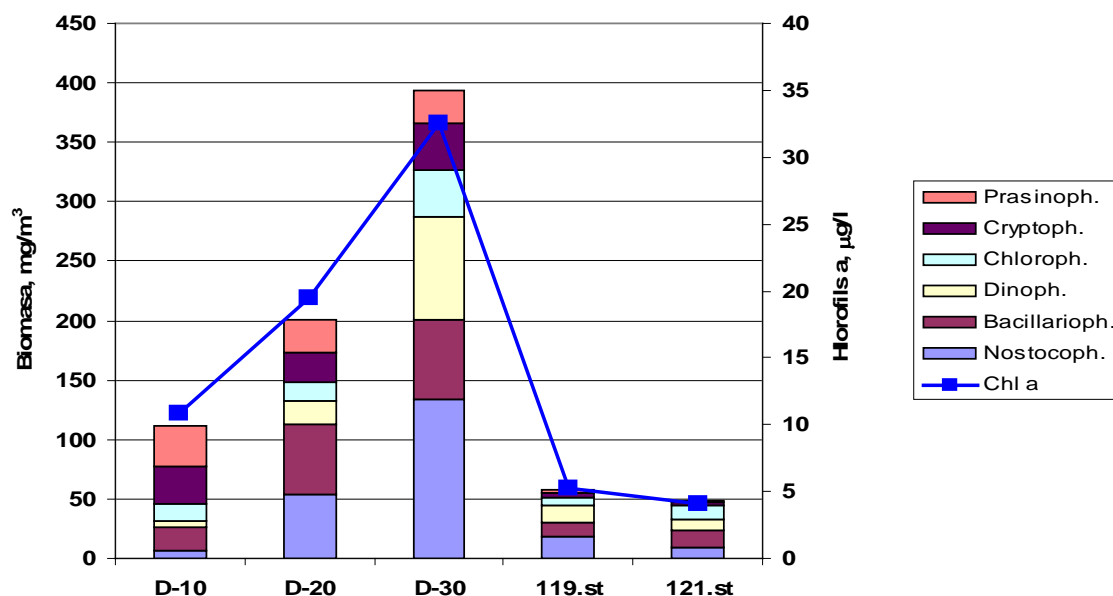
cianobaktērijas *M.aeruginosa*, *M.wessenbergii* un *M.reinboldii*, kā arī *Snowella lacustris*, kas DIN limitēšanas apstākļos varēja izmantot organiskās slāpekļa formas. **Iegūtie rezultāti apstiprināja izvirzīto hipotēzi, ka barības vielām izsīkstot, un samazinoties DIN:DIP attiecībai, pieaug potenciāli toksisko cianobaktēriju īpatsvars fitoplanktona sabiedrībā.** Eksperimenta beigās visaugstāko biomasu sasniedza slāpekli nefiksējošās toksiskās cianobaktērijas (*Microcystis* spp. un *Snowella lacustris*), apliecinot organisko vielu un miksotrofijas lomu šo sugu attīstībā. Turpretim pie zemām DIN:DIP attiecībām (1-15) tika konstatētas lielākas slāpekli fiksējošo toksisko cianobaktēriju (*Aphanizomenon flos-aquae* un *Anabaena* spp). biomasas (sk. II.raksta 7.tabulu).

Zināms, ka dažas aļģu sugas spēj izmantot organiskos slāpekļa savienojumus kā vienīgo slāpekļa avotu (Antia et al., 1991). Lauku pētījumi pierādījuši, ka vasaras fitoplanktons spēj izmantot urīnvielu kā slāpekļa avotu (Fernandez et al., 1996; Tamminen and Irmish, 1996). Baltijas jūras rietumu piekrastes ūdeņos konstatēts, ka fitoplanktons spēj uzņemt urīnvielu daudz labāk nekā nitrātus (Sörensson et al., 1989). Česapīkas līcī konstatēts, ka izšķīdušās brīvās aminoskābes tāpat var tikt izmantotas kā slāpekļa avots (Glibert et al., 1991). Gan laboratorijas, gan lauka apstākļos veiktie pētījumi liecina, ka arī izšķīdušais organiskais fosfors var tikt izmantots aļģu augšanā (Cembella et al., 1984a,b; Nishijma et al., 1989). Tātad spriežot pēc fitoplanktona struktūras izmaiņām, varam konstatēt, ka kriptofīti un kramaļģes galvenokārt izmantoja izšķīdušo neorganisko slāpekli, bet cianobaktērijas un zaļaļģes straujāk attīstās laikā, kad neorganisko biogēnu rezerves jau patērētas pateicoties spējai izmantot reģenerētos biogēnus un organiskās slāpekļa formas. To apstiprina arī citi Rīgas līcī veiktie eksperimenti ar <sup>15</sup>N iezīmētiem substrātiem. Tika konstatēts, ka tikai kramaļģu biomasu korelēja ar neorganiskā slāpekļa uzņemšanu, bet pārējās aļģu grupas izmantoja galvenokārt reducētos slāpekļa savienojumus, ieskaitot, amoniju, urīnvielu, izšķīdušās brīvās aminoskābes un adenīnu (Berg et al., 2003).

### **3.3 Dažādu organisko slāpekļa savienojumu ietekme uz Rīgas līča dabiskā vasaras fitoplanktona attīstību (III.raksts)**

Balstoties uz iepriekš minētajiem eksperimentiem tika pārbaudīta **hipotēze, ka neorganiskā slāpekļa limitēšanas apstākļos mikroaļģes spēj izmantot organiskos slāpekļa savienojumus.**

Eksperimentā izmantots dabiskais Rīgas līča fitoplanktons, kas ievākts Daugavas griezuma 10m, 20m, 30m, 40m (119.st.), 55m (121.st.) izobātās. Fitoplanktona paraugos Rīgas līča dienvidu daļā konstatēts aļģu biomasas pieaugums virzienā no Daugavas grīvas uz līča atklāto daļu (4.att). Piekrastes stacijās ūdens virskārtas fitoplanktonā dominēja kriptomonādas un prasinoftīti. Mazākās koncentrācijās bija sastopamas kramaļģes un zaļaļģes. Cianobaktērijas *Aphanizomenon flos-aquae*, *Merismopedia elegans* un *Snowella lacustris*, kā arī dinoflagellāti *Dinophysis acuminata* bija sastopami 20m un 30m izobātās, kas mazāk pakļautas Daugavas ietekmei.



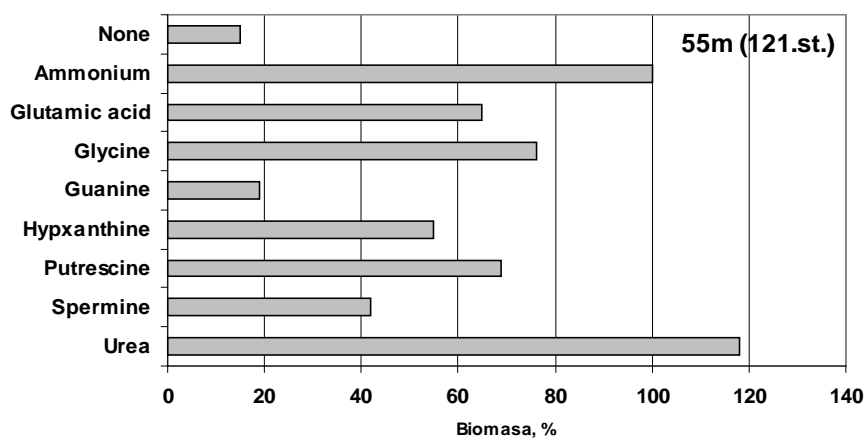
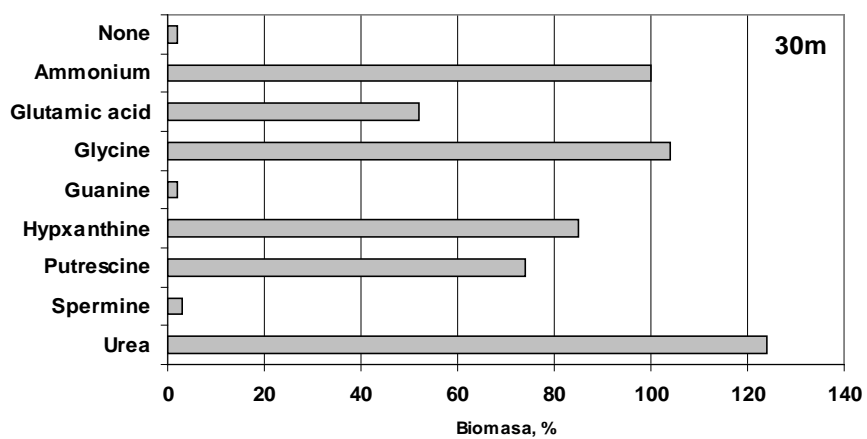
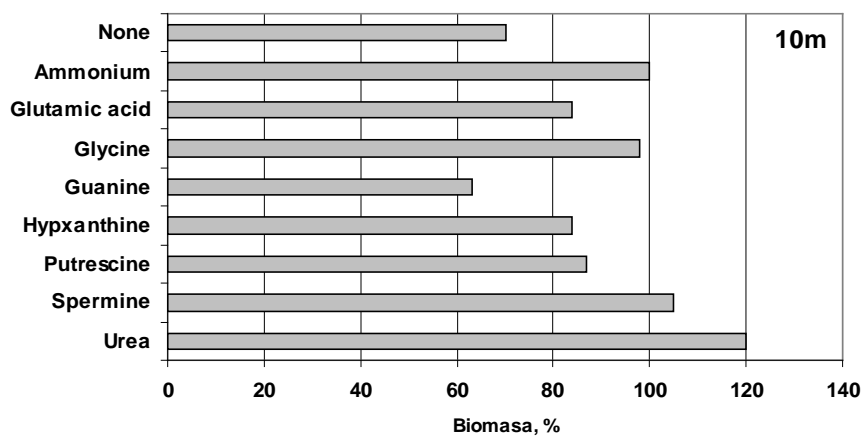
4.att. Fitoplanktona biomasa un hlorofils *a* stacijās no Daugavas grīvas līdz Rīgas līča centram (1997.gada jūlijs).

Līča atklātās daļas ūdeņos aļģu biomasa un sugu daudzveidība bija ievērojami zemāka nekā piekrastes ūdeņos. Salīdzinājumā ar līča dienviddaļu bija ievērojami samazinājušās kriptomonādu un prasinofītu biomasas. 119.st. lielāko biomasu veidoja cianobaktērija *Aphanizomenon flos-aquae*, dinoflagellāts *Dinophysis acuminata* un kramaļģe *Thalassiosira baltica*, bet līča centrā (121.st.) dominēja kramaļģes (*Thalassiosira baltica*; *Skeletonema costatum*), kā arī zaļāļģes (*O.borgei*; *O.submarina*).

Eksperimenta laikā Rīgas līča vasaras fitoplanktons labi attīstījās mazmolekulāro organisko N savienojumu klātbūtnē. No neorganiskajiem reducētajiem slāpekļa savienojumiem parasti vislabāk tiek izmantoti amonija joni, tāpēc eksperimentu sērija, kurai pievienots amonijs, izmantota salīdzināšanai. Eksperimenta beigās sērijās, kas bagātinātas ar organiskajiem N savienojumiem, fitoplanktona biomasa sastādīja 58 līdz 118% no biomasas, kas iegūta pievienojot amonija jonus. Kontrolē (bez biogēnu pievienošanas) fitoplanktona biomasa sasniedza tikai 17% no tās, kas iegūta ar amonija joniem (5.att.).

Mūsu eksperimentos urīnviela bija labākais slāpekļa avots vasaras fitoplanktonam. Visās eksperimentu sērijās, kas bagātinātas ar urīnvielu, fitoplanktona biomasas bija par 20% lielāka nekā ar amonija joniem (5.att.).

Dažādu aminoskābju pievienošana deva atšķirīgus rezultātus. Glicīns, putrescīns un glutamīnskābe bija vieglāk izmantojamās aminoskābes, kuru klātbūtnē fitoplanktona biomasas sastādīja vismaz 50% no tās, kas sasniegta ar amoniju, bet spermīns deva ievērojamu biomasas pieaugumu Daugavas 10m stacijā, turpretim 30m stacijā biomasas pieaugums bija nenozīmīgs. Arī purīnu atvasinājumi tika dažādi izmantoti- guanīns vispār neveicināja fitoplanktona augšanu, turpretim hipoksantīns nodrošināja ievērojamu



5.att. Dažādu organisko vielu ietekme uz Rīgas līča fitoplanktonu Daugavas griezuma 10m, 30m un 55m (121.st.).

fitoplanktona biomasas pieaugumu (55-86%). Eksperimenta laikā novērotas atšķirības starp dažādām Daugavas griezuma stacijām. Eksperimenta beigās 10m izobātas fitoplanktona biomasā bija 2 reizes lielāka nekā 30m vai 55m (121.st.), jo sākotnēji Daugavas grīvas ūdenī bija vairāk neorganiskā slāpekļa (DIN= 9.2 $\mu$ M). Turpretim atšķirības starp pievienojumiem 10m stacijā bija mazāk izteiktas, un eksperimenta beigās fitoplanktona biomasā kontrolē sastādīja pat 70% salīdzinot ar amonija pievienojumu, bet fitoplanktona biomasas eksperimentu sērijās ar organiskajām vielām sasniedza 82-119% (5.att.). Izšķīdušā organiskā slāpekļa savienojumu izmantošana fosfora, silīcija un dzelzs klātbūtnē liecina, ka slāpekļis vasaras mēnešos ir galvenais limitējošais elements. Vairums pētnieku uzskata, ka šādi apstākļi stimulē aļģu fotoheterotrofijas procesus (Flynn and Buttler, 1986; Glibert et al., 1991) kā arī citus mikсотrofijas veidus (Havskum and Riemann, 1996; Stoecker et al., 1997). Zināms, ka aļģu tīrkultūras spēj izmantot organiskos slāpekļa savienojumus kā vienīgo slāpekļa avotu (Antia et al., 1991; Hillebrand and Sommer, 1996), taču vai tas ir iespējams arī dabiskos apstākļos?

Mūsu eksperimenti uzskatāmi parādīja, ka urīnviela bija labākais slāpekļa avots Rīgas līča vasaras fitoplanktonam. Urīnviela ir slāpekļa katabolisma gala produkts. To ekskrētē zooplanktons un citi ūdens organismi (Corner and Newel, 1967; Wright et al., 1995), tādējādi urīnvielas koncentrācijas piekrastes ūdeņos ir diezgan augstas. Rīgas līcī urīnvielas koncentrācijas robežojas no 1.3 līdz 5.6 $\mu$ M (Meastrini et al., 1997), Atlantijas okeāna piekrastē konstatēti pat 8.9 $\mu$ M (Remsem et al., 1972). Tas apstiprina pētījumus, ka urīnviela ir ievērojams slāpekļa avots piekrastes ūdeņos (Glibert et al., 1991; Fernandez et al., 1996, Fan et al., 2003). Baltijas jūras rietumu daļā konstatēts, ka urīnvielas uzņemšana var būt pat 5 reizes intensīvāka nekā nitrātu uzņemšana (Sörensson et al., 1989) un Somu līcī tā kalpo par galveno slāpekļa avotu fitoplanktona sukcesiju reģeneratīvās fāzes laikā (Tamminen and Irmish, 1996). Tātad var uzskatīt, ka urīnviela ir ievērojams slāpekļa avots Rīgas līča vasaras fitoplanktona attīstībā.

Arī aminoskābes ir dabiski metabolisma galaprodukti, ko ekskrētē dažādi ūdens organismi (Hammer et al., 1981; Poulet et al., 1991; Tupas and Koike, 1990). Literatūrā minēts, ka kopējās izšķīdušo brīvo aminoskābju (DFAA) koncentrācijas piekrastes ūdeņos var sasniegt dažus  $\mu$ M (Jorgensen, 1982). Pētījumu laikā Rīgas līcī DFAA koncentrācijas sasniedza 0.05 līdz 0.48 $\mu$ M, bet izšķīdušās kombinētās aminoskābes (DCAA) robežojās no 1.4 $\mu$ M līdz pat 44.8 $\mu$ M, sastādot ievērojamu daļu no kopējā DON daudzuma, galvenokārt vasaras mēnešos, kad DIN koncentrācijas tuvojas nullei. Dabā dažādu slāpekļa savienojumu uzņemšana atkarīga no pieejamo slāpekļa savienojumu kvalitātes. Tātad var uzskatīt, ka neorganiskā slāpekļa savienojumu klātbūtnē mazmolekulāro DFAA un DCAA uzņemšana praktiski nenotiek, piemēram, pavasara fitoplanktona "ziedēšanas" laikā (Yurkovskis et al., 1993), bet tās kļūst par potenciālu slāpekļa avotu vasaras mēnešos, kad neorganiskie slāpekļa savienojumi vairs nav pieejami.

Literatūrā atrodami tikai daži pētījumi, kuros konstatēts, ka dabiskās fitoplanktona populācijas spēj izmantot DFAA. Eksperimentāli pierādīta histidīna, glicīna un glutamīnskābes uzņemšana fitoplanktona šūnās, kas salīdzināma ar nitrātu un amonija jonu uzņemšanu (Shell, 1974; Fan et al., 2003; Hellio et al., 2004). Savukārt citi autori secina, ka, piemēram, Česapīkas līcī DFAA sastāda niecīgu daļu no fitoplanktona uzņemtā slāpekļa daudzuma (Glibert et al., 1991).

Varam secināt, ka eksperimentam izvirzītā **hipotēze par mazmolekulāro organisko N savienojumu izmantošanu neorganisko biogēnu limitēšanas apstākļos pilnībā apstiprinājās**. Urīnviela uzskatāma par ievērojamu slāpekļa avotu Rīgas līča vasaras fitoplanktonam. Kaut arī Rīgas līcī izšķīdušās aminoskābes nevar tikt uzskatītas par galveno slāpekļa avotu, bet slāpekļa limitēšanas apstākļos atsevišķas fitoplanktona sugas tās var veiksmīgi izmantot.

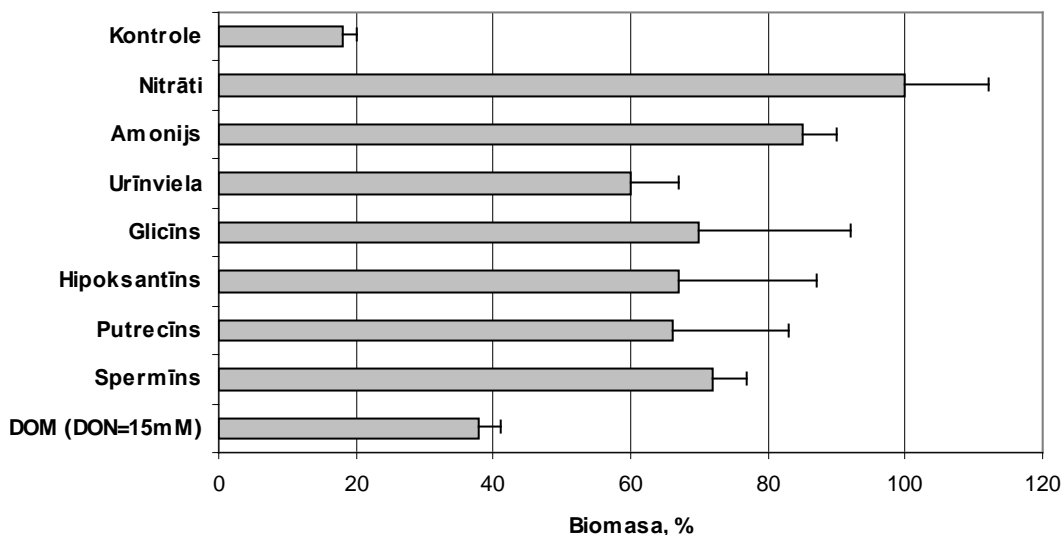
### 3.4 Slāpekli saturošu organisko savienojumu un sauszemes izcelsmes izšķīdušo organisko vielu (DOM) ietekme uz *Microcystis aeruginosa* attīstību (III.raksts)

**Hipotēze, ka neorganiskā slāpekļa limitēšanas apstākļos mikroaļģes spēj izmantot organiskos slāpekļa savienojumus** tika pārbaudīta arī ar *Microcystis aeruginosa* tīrkultūru.

Labākais slāpekļa avots *M.aeruginosa* kultūras attīstībai bija nitrāti. Biomasa, kas iegūta ar **urīnvielu, glicīnu, hipoksantīnu, putrescīnu un spermīnu** kā vienīgajiem slāpekļa avotiem, sastādīja 62-72% no tās, kas iegūta ar nitrātiem (6.att.).

No **Daugavas ekstrahētās dabiskās lielmolekulārās organiskās vielas** veicināja aļģu biomasas pieaugumu 38% apmērā salīdzinot ar nitrātiem, pat pie relatīvi zemas DON koncentrācijas (15µM) un augstas nitrātu koncentrācijas (25µM). Tātad pie DON koncentrācijas 25µM biomasas pieaugums varētu būt 58%. Tādā gadījumā, sauszemes izcelsmes organiskais slāpekļlis būtu tikpat labi izmantojams slāpekļa avots kā atsevišķie slāpekli saturošie organiskie savienojumi, kā piemēram, urīnviela, glicīns un putrescīns.

**Kaut arī labākais slāpekļa avots cianobaktērijas *M.aeruginosa* tīrkultūrai bija nitrāti, hipotēze par organisko vielu izmantošanu apstiprinājās pilnībā, jo slāpekli saturošie organiskie savienojumi, kā piemēram, urīnviela, brīvās aminoskābes un hipoksantīns, kā arī sauszemes izcelsmes organiskās vielas stimulēja *M.aeruginosa* augšanu.**



6.att. *Microcystis aeruginosa* attīstība dažādu organisko savienojumu klātbūtnē.

### 3.5 Sauszemes izcelsmes izšķīdušo organisko vielu (DOM) ietekme uz Rīgas līča vasaras fitoplanktonu (IV.raksts)

Pamatojoties uz rezultātiem ar *M.aeruginosa* tīrkultūru (3.4.nod.) tika pārbaudīta **hipotēze, ka sauszemes izcelsmes izšķīdušās organiskās vielas veicina Rīgas līča vasaras fitoplanktona attīstību.**

Eksperimenta sākotnējās neorganisko biogēnu koncentrācijas gan Rīgas līča centrālajā daļā (121.st.), gan Baltijas jūras atklātajā daļā (34a.st.) bija relatīvi zemas (2.tab.). Fitoplanktona attīstība līča centrālajā daļā liecina par izteiktu slāpekļa limitēšanu (DIN:DIP ~10). Turpretim, atklātajā Baltijas jūrā DIN:DIP attiecība bija augsta (~24), liecinot par fosfora limitēšanu. Abos gadījumos konstatētas augstas DON koncentrācijas, kas 9-14 reizes pārsniedz DIN koncentrācijas.

Fitoplanktona biomasas abās stacijās bija zemas, attiecīgi 110 un 271  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , kas raksturīgs pavasara - vasaras pārejas periodam. Rīgas līča centrālajā daļā dominēja cianobaktērijas, zaļalģes un dinoflagellāti, veidojot 39%, 22% un 36% no kopējās biomasas. Eksperimenta gaitā lielākā fitoplanktona biomasa un augstākā hlorofila *a* koncentrācija novērota eksperimenta sērijā ar neorganiskajiem biogēniem +NO<sub>3</sub>+PO<sub>4</sub> (p<0.05) un organisko biogēnu pievienojumu +DOM+NO<sub>3</sub>. Abās eksperimenta sērijās biomasas pieaugumu izraisīja zaļalģu un kolonijveida cianobaktēriju masveida attīstība (7.att.). Dinoflagellātu attīstība novērota tikai eksperimenta sērijā ar izšķīdušajām organiskajām vielām +DOM (p<0.05), kur to biomasa pieauga no sākotnējiem 27  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  līdz 506  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , eksperimenta beigās veidojot 27% no kopējās fitoplanktona biomasas.

Baltijas jūras atklātajā daļā 75% no fitoplanktona kopējās biomasas veidoja cianobaktērijas. Zaļalģes un kriptofīti veidoja ~20%, bet dinoflagellāti sastādīja tikai 4.3% no kopējās biomasas. Eksperimenta laikā fitoplanktona attīstība bija līdzīga kā līča centrālajā daļā. Augstākā fitoplanktona biomasa un hlorofils *a* tika novērots eksperimentu sērijā +NO<sub>3</sub>+PO<sub>4</sub> (7.att.), un fitoplanktona sugu sastāvs bija līdzīgs kā eksperimenta sākumā. Būtisks dinoflagellātu pieaugums tika novērots visās eksperimenta sērijās, kurās pievienotas izšķīdušās organiskās vielas. Augstākā dinoflagellātu biomasa (569  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , 60% no kopējās biomasas) konstatēta eksperimenta sērijā +DOM, citās sērijās ar DOM dinoflagellāti veidoja 28% no kopējās biomasas.

Gan Rīgas līča centrālajā daļā, gan Baltijas jūras atklātajā daļā visās eksperimenta sērijās novērots straujš neorganisko biogēnu patēriņš, kas vēlreiz liecina par slāpekļa limitāciju. Tāpēc var uzskatīt, ka abās stacijās slāpekli nefiksējošās cianobaktērijas un zaļalģes galvenokārt izmantoja neorganiskos biogēnus, bet dinoflagellātu pieaugums novērots tikai eksperimentu sērijās ar DOM pievienojumu.

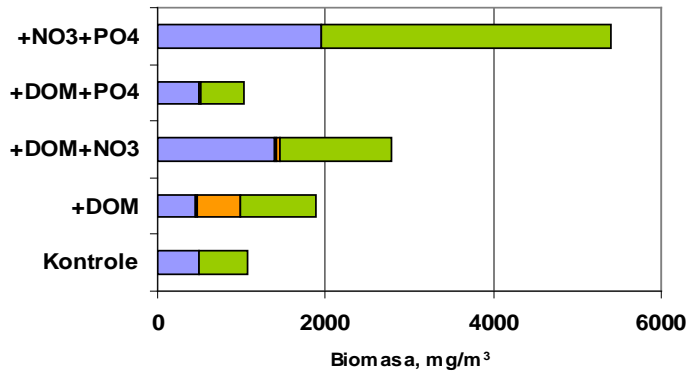
Eksperimenta sākumā Rīgas līča centrālajā daļā tika identificētas 8 dinoflagellātu sugas. Dinoflagellātu klasē dominēja liela izmēra suga *Dinophysis acuminata* (35-45  $\mu\text{m}$ ). Citu dinoflagellātu biomasas bija par pakāpi zemākas. Baltijas jūras atklātajā daļā tika

2.tab. Sākotnējās biogēnu koncentrācijas 121. st. un 34a. st.

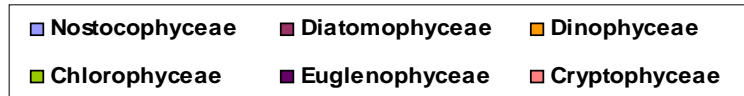
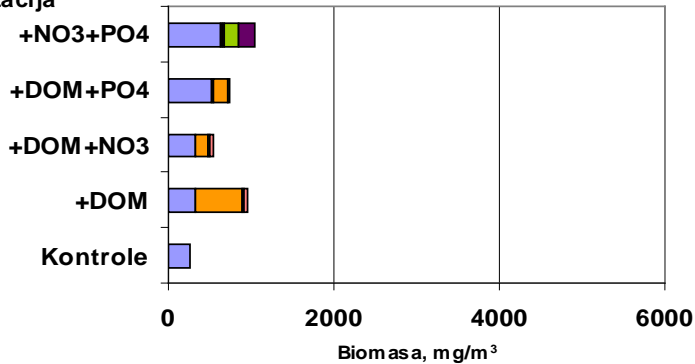
	121.st.	34a.st.
<b>N-NO<sub>3</sub>, <math>\mu\text{M}</math></b>	0.12	0.15
<b>N-NH<sub>4</sub>, <math>\mu\text{M}</math></b>	1.52	1.28
<b>P-PO<sub>4</sub>, <math>\mu\text{M}</math></b>	0.17	0.06
<b>DIN: DIP</b>	9.6	24.3
<b>DON, <math>\mu\text{M}</math></b>	19	13.1
<b>DOP, <math>\mu\text{M}</math></b>	0.64	0.48



121.stacija



34a.stacija



7.att. Fitoplanktona biomasas pieaugums eksperimenta beigās.

konstatētas 11 dinoflagellātu sugas un dominējošā suga bija *Katodinium rotundatum* (15-20µm).

Pirmo 4 dienu laikā visās eksperimenta sērijās strauji samazinājās sākotnējā sugu daudzveidība. Dažas sugas izzuda pavisam, bet citu skaits ievērojami samazinājās, taču eksperimenta beigās sugu daudzveidība atkal nedaudz pieauga. Lielākā dinoflagellātu sugu daudzveidība novērota abu staciju eksperimenta sērijās +DOM.

Rīgas līča centrālajā daļā vislabāk attīstījās *D. acuminata*, *Protoperidinium brevipes*, *Amylax triacantha* un *Gymnodinium albulum*. Eksperimenta beigās DOM klātbūtnē vērojams dinoflagellātu skaita pieaugums no  $2.8 \cdot 10^3$  līdz  $25 \cdot 10^3$  š. l<sup>1</sup>. DOM sērijā būtisku šūnu skaita pieaugumu ( $P < 0.05$ ) uzrādīja viena no toksiskajām dinoflagellātu sugām *D. acuminata* ( $20 \cdot 10^3$  š. l<sup>1</sup>), kas atbilst šūnu specifiskajam augšanas ātrumam  $\mu = 0.60 \text{ d}^{-1}$ .

Baltijas jūras atklātajā daļā visās eksperimenta sērijās novērota dinoflagellātu sugu nomaiņa- maza izmēra sugas tika aizstātas ar liela izmēra sugām. *K. rotundatum* šūnu skaits strauji samazinājās no  $16 \cdot 10^3$  līdz  $\sim 40$  š. l<sup>1</sup> visās eksperimenta sērijās, bet *G. albulum* šūnu skaits pieauga līdz 4.dienai un vēlāk pakāpeniski samazinājās. *D.*

*acuminata* šūnu skaits būtiski pieauga visās eksperimenta sērijās, vislielāko šūnu skaitu sasniedzot +DOM+NO<sub>3</sub> un +DOM+PO<sub>4</sub> (p<0.05), kurās šūnu specifiskais augšanas ātrums bija 0.74 d<sup>-1</sup> un 0.80 d<sup>-1</sup>. Eksperimenta beigās tika novērots dinoflagellātu skaita pieaugums no sākotnējām 2.8\*10<sup>3</sup> š. l<sup>-1</sup> līdz 14\*10<sup>3</sup> š. l<sup>-1</sup> (+DOM+NO<sub>3</sub>) un 23\*10<sup>3</sup> š. l<sup>-1</sup> (+DOM+PO<sub>4</sub>), *D. acuminata* sastādot 56 un 51% no dinoflagellātu šūnu skaita. Eksperimenta sērijā +DOM *P. brevipes* sastādīja 34\*10<sup>3</sup> š. l<sup>-1</sup> (46% no dinoflagellātu šūnu skaita).

Kopumā eksperimentā ar Baltijas jūras atklātās daļas un Rīgas līča centrālās daļas fitoplanktonu vislabāk auga *P. brevipes* un *D. acuminata*, dominējot starp dinoflagellātu sugām eksperimenta beigās, lai gan šo sugu augšanu veicinošie faktori ir dažādi. *P. brevipes* tiek uzskatīta par fagotrofu sugu (Hansen, 1991; Larsen and Sournia, 1991; Barlewska and Witek, 1995; Latz and Jeong, 1996; etc.). *K. rotundatum* un *G. albulum* skaita samazināšanās eksperimenta laikā sakrita ar *P. brevipes* skaita pieaugumu. Lai gan fagotrofijas aspekts mūsu eksperimentos netika pētīts, taču sīkie dinoflagellāti varētu kalpot par laupījumu lielajām *P. brevipes* šūnām, izskaidrojot to pieaugumu visās eksperimenta sērijās.

*D. acuminata* līdz šim tika uzskatīta par fotosintētisku, jo šūnās konstatēti funkcionējoši hloroplasti. Daudzos pētījumos analizēta *D. acuminata* fotosintēze. Noteikts, ka autotrofos apstākļos *D. acuminata* maksimālais augšanas ātrums ir 0.24 dal. d<sup>-1</sup> (Berland et al., 1994). Graneli uc. (1997) noteica fotosintētisko oglekļa uzņemšanas ātrumu *Dinophysis* spp. šūnās un secināja, ka to augšanas ātrums ir salīdzināms ar citu autotrofo dinoflagellātu augšanas ātrumu. Taču reizēm tika novērota ievērojami intensīvāka oglekļa uzņemšana tumsā, liecinot, ka fotosintēzei nelabvēlīgos apstākļos var tik inducēta miksotrofija (Graneli & Carlsson, 1998). Citos pētījumos *D. acuminata* un *D. norvegica* šūnās tika konstatētas gremošanas vakuolas (Jacobson and Anderson, 1996). Nesen tika iegūta pirmā *D. acuminata* kultūra, kur *D. acuminata* barojās fagotrofi ar kriptofītaļģēm *Teleaulax* spp. (Park et al., 2006). Šie pētījumi liecina, ka *D. acuminata* eksistē vairāki barošanās veidi, ko ierosina īslaicīgi optimāli apstākļi vai iepriekšēja adaptācija. Mūsu eksperimentā *D. acuminata* augšanas ātrums sasniedza 0.74 līdz 0.80 d<sup>-1</sup>, kas ievērojami pārsniedz līdz šim konstatētos augšanas ātrumus, liecinot, ka *D. acuminata* izmantoja netipisku barošanās veidu.

Eksperimentos ar dabiskām fitoplanktona populācijām tika novērota dinoflagellātu augšanas stimulācija humīnvielu klātbūtnē (sīkie dinoflagellāti *Katodinium* sp., *Gymnodinium* sp., *Amphidinium* sp. un lielie dinoflagellāti *Gyrodinium* sp., *Scropsiella* sp., *Protoperidinium* sp.) (Carlsson et al., 1995). Humīnvielu klātbūtnē tika novērota ievērojami lielāka augstas molmasas dekstrānu uzņemšana ar pinocitozes palīdzību *Alexandrium catenella* šūnās gan baktēriju klātbūtnē, gan aksēniskos apstākļos (Legrand and Carlsson, 1998). Mūsu eksperimenti liecina, ka DOM pievienošana stimulē dinoflagellātu attīstību. Eksperimentos ar dabiskām fitoplanktona populācijām nav iespējams dažādu ķīmisko savienojumu izmantošanu attiecināt uz konkrētu organismu grupu vai atsevišķu sugu. Analizējot eksperimenta rezultātus, redzams, ka dažu organisko savienojumu koncentrācijas ievērojami samazinās, piemēram- urīnvielas, izšķīdušo kombinēto aminoskābju un DON. Līdzās tiešai organisko vielu heterotrofaī izmantošanai iespējamas arī citas hipotēzes. Bermans u.c. (1999) konstatējuši NH<sub>4</sub><sup>+</sup> un urīnvielas atbrīvošanos no dabiskajiem organiskā slāpekļa savienojumiem, kā arī dažu aminoskābju un nukleīnskābju atbrīvošanos baktēriju un/vai brīvo enzīmu darbības rezultātā. Autori

uzskata, ka tas varētu būt galvenais mehānisms, kā slāpekļis no DON kļūst izmantojams aļģēm un baktērijām vidē ar zemām neorganiskā slāpekļa koncentrācijām. Tāpat pierādīta arī fotoķīmiskā DOM degradācija līdz vienkāršiem reducētiem N savienojumiem (Moran & Covert, 2003).

Cita hipotēze liecina, ka DOM izmaina zemūdens gaismas režīmu, samazinot fotosintētiski aktīvo radiāciju (apkopots Doblin et al., 1999). Tangs (1996) uzskata, ka dinoflagellātiem ir ierobežotas fotosintēzes spējas un arī zems gaismas piesātinājuma līmenis (Chang and McClean, 1997). Tas nav pārsteidzoši, zinot, ka eksistē tikai 6 pilnīgi autotrofas dinoflagellātu sugas (Gaines and Elbrächter, 1987). Tāpēc, iespējams, ka dinoflagellāti kompensē šo trūkumu, barojoties heterotrofi (Tang, 1996), vai pat gūst priekšrocības starpsugu konkurencē, uzturoties vidē ar ierobežotu fotosintētiski aktīvās radiācijas daudzumu.

Eksperimentu sērijās ar DOM tika konstatēta būtiski lielāka dinoflagellātu sugu daudzveidība, kas izskaidrojama ar DOM komplekso ķīmisko struktūru. Sauszemes izcelsmes organiskās vielas sastāv no lielmolekulāriem savienojumiem- polipeptīdiem, polisaharīdiem, polifenoliskajām humīnvielām, izšķīdušajām aminoskābēm, nukleīnskābēm un pat vitamīniem (Carlsson et al., 1998). Tas nodrošina lielu substrātu daudzveidību, kas var veicināt daudzu sugu attīstību.

Literatūrā aprakstītie pētījumi parasti veikti ar atsevišķu sugu kultūrām vai (*Dinophysis spp.* gadījumā) ar bagātinātām dabiskajām populācijām, ko nav iespējams salīdzināt ar dabiskās fitoplanktona populācijas augšanu, kur starpsugu konkurence var būt tikpat būtisks faktors kā biogēnu koncentrācijas. Garcés un Masó (2001) konstatēja 1.5 reizes lielas atšķirības dažādu dinoflagellātu sugu augšanas ātrumos, pierādot, ka augšanas ātrums atspoguļo organisma atbildes reakciju uz vidi.

Eksperimentam izvirzītā **hipotēze apstiprinājās daļēji. Sauszemes izcelsmes lielmolekulārās organiskās vielas stimulēja galvenokārt dinoflagellātu attīstību. Citas fitoplanktona grupas neorganiskā slāpekļa trūkumā varētu izmantot mazmolekulārās organiskās vielas, piemēram, brīvās aminoskābes vai urīnvielu, kā arī baktēriju un/vai brīvo enzīmu no DON atšķelto amoniju.**

#### 4 SECINĀJUMI

- Biogēnu limitācijai ir izteikti sezonāls un telpisks raksturs. Par galveno limitējošo elementu Rīgas līcī uzskatāms slāpekļis, īpaši vasaras periodā un ārpus upju ietekmes zonas.
- Fosfors limitē fitoplanktona attīstību tikai pavasarī un pārsvarā upju grīvu rajonos, kā arī piegrunts slānī.
- Pie augstām neorganiskā slāpekļa koncentrācijām un augstas DIN:DIP attiecības Rīgas līcī vērojama intensīva kramaļģu attīstība, bet izsīkstot neorganisko biogēnu koncentrācijām virsroku gūst aļģu sugas, kas spēj izmantot organiskās vielas - zaļaļģes, kolonijveida cianobaktērijas, dinoflagellāti un atsevišķas kriptofītaļģu sugas, apliecinot miksotrofijas lomu Rīgas līča fitoplanktona barošanās procesā.
- Atsevišķi organiskie slāpekļa savienojumi veicina Rīgas līča vasaras fitoplanktona attīstību. Par vislabāk izmantojamo organisko slāpekļa savienojumu uzskatāma urīnviela, taču kā slāpekļa avoti var kalpot arī brīvās aminoskābes un purīni.
- Sauszemes izcelsmes organiskās vielas stimulē Rīgas līča vasaras fitoplanktona attīstību un vasaras mēnešos uzskatāmas par būtisku biogēnu rezervi.
- Lielmolekulārās izšķīdušās organiskās vielas galvenokārt stimulē dinoflagellātu attīstību, bet mazmolekulārās organiskās vielas- kriptofītaļģu, zaļaļģu un kolonijveida cianobaktēriju attīstību.
- Sauszemes izcelsmes organiskās vielas izraisa būtiskas fitocenozes taksonomiskās izmaiņas, kas var provocēt sugu daudzveidības izmaiņas, miksotrofo un arī potenciāli toksisko sugu īpatsvara pieaugumu, kā arī tālākas izmaiņas Rīgas līča barības ķēdēs.
- Lai novērstu turpmāku piekrastes ūdeņu eitrofikāciju, jāvelta uzmanība ne tikai neorganisko, bet arī organisko barības vielu ieplūdes samazināšanai, optimizējot piekrastes apsaimniekošanu, kontrolējot sadzīves notekūdeņu ieplūdi, sateces baseina mežu izciršanu un augšņu eroziju.

## 5 PATEICĪBAS

Vēlos izteikt sirsnīgu pateicību savai ilggadējai kolēģei un visu manu zinātnisko darbu vadītājai Dr. Maijai Balodei. Paldies par padomiem un neizsīkstošajām jaunajām idejām, paldies par spraigo un vienmēr interesanto zinātnes dzīvi, kā arī par kafijas un sviestmaižu gatavošanu vēlās vakara stundās, kad neatliekamie darbi ir stipri ievilkušies.

Tāpat vēlos pateikties Dr. Seržam Maestrini, kuru arī uzskatu par sava darba vadītāju un bez kura šis darbs nebūtu iespējams. Paldies par atbalstu un iespēju strādāt starptautiskā kolektīvā, par jaunām interesēm, sākot no zinātniskām jomām un austeru audzēšanas, un beidzot ar franču valodas smalkumiem.

Paldies Kristiānam Becheminam par neskaitāmām garum garām zinātniskām un ne tik zinātniskām sarunām, par uzmundrinājumu depresīvos brīžos un ievadu franču pavārmākslā.

Paldies manām ilggadējām kolēģēm Santai un Mārītei par neizsīkstošu atbalstu un draudzību. Paldies jaunajām kolēģēm Ievai, Evitai un mazajai Ievai par nerimstošas jautrības uzturēšanu laboratorijā.

Paldies institūta direktoram Jurim par biežo jautājumu “Kā veicas ar disertāciju?”

Paldies manai ģimenei- mammai par nemītīgo ticību maniem spēkiem. Paldies Evijai un Rasai par priecīgo sagaidīšanu vakaros. Paldies Viesturam par pacietīgo un ne tik pacietīgo gaidīšanu vakaros, kad darba diena ir stipri ieilgusi. Šobrīd pat nevaru teikt mierinājuma vārdus “Nu tas viss ir beidzies!”, jo īstenībā viss vēl tikai sākas...

Paldies recenzentiem un kolēģiem!

Paldies visiem!

## 6 REFERENCES

- Antia N.J., Berland B.R., Bonin D.J., Maestrini S.Y., 1977. Effects of urea concentration in supporting growth of certain marine microplanktonic algae. *Phycologia* 16: 105-111.
- Antia N.J., Harrison P.J., Oliveira L., 1991. The role of dissolved organic nitrogen in phytoplankton nutrition, cell biology and ecology. *Phycologia* 30(1): 1-89.
- Balode M., Puriņa I., 1996. Harmful phytoplankton in the Gulf of Riga (the Baltic Sea). Harmful and Toxic Algal Blooms, Yasumoto T., Oshima Y. & Fukuyo, Y. (Eds), IOC of UNESCO, Paris; Proceedings of the Seventh International Conference on Toxic Phytoplankton, 12-16 July 1995, Sendai, Japan: 69 - 72.
- Barlewska J.M., Witek Z., 1995. Heterotrophic dinoflagellates in the ecosystem of the Gulf of Gdansk. *Marine Ecology Progress Series* 117: 241-248.
- Bendschneider K., Robinson R.J., 1952. A new spectrophotometric determination of nitrite in sea water. *Journal of Marine Research* 11: 97-106.
- Benner, R., B. Biddanda, B. Black & M. McCarthy 1997. Abundance, size distribution, and stable carbon and nitrogen isotopic compositions of marine organic matter isolated by tangential flow ultra-filtration. *Marine Chemistry* 57: 243-263.
- Berg M.G., Balode M., Purina I., Bekere S., Bechemin Ch., Maestrini S., 2003. Plankton community composition in relation to availability and uptake of oxidized and reduced nitrogen. *Aquatic Microbial Ecology* 30: 263-274.
- Berland B.R., Maestrini S.Y., Bechemin C., Legrand C., 1994. Photosynthetic capacity of the toxic dinoflagellates *Dinophysis* cf. *acuminata* and *Dinophysis acuta*. *La Mer* 32: 107-117.
- Berman T., Chava S., Kaplan B., Wynne D., 1991. Dissolved organic substrates as phosphorus and nitrogen sources for axenic batch cultures of freshwater green algae. *Phycologia* 30: 339-345.
- Berman T., 1997. Dissolved organic nitrogen utilization by an *Aphanizomenon* bloom in lake Kinnaret. *Journal of Plankton Research* 19: 577-586.
- Berman T., Bechemin C., Maestrini S.Y., 1999. Release of ammonium and urea from dissolved organic nitrogen in aquatic ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology* 16: 295-302.
- Bonin D.J., Droop M.R., Maestrini S.Y. and Bonin M.C., 1986. Physiological features of six micro algae to be used as indicators of seawater quality. *Cryptogamy and Algology* 7: 23-83.
- Brand, L.E., R.R.L. Guillard & L.S. Murphy 1981. A method for rapid and precise determination of acclimated phytoplankton reproduction rates. *Journal of Plankton Research* 3: 193-201.
- Carlsson P., Zuleika Segatto A., Graneli E., 1993. Nitrogen bound to humic matter of terrestrial origin- a nitrogen pool for coastal phytoplankton? *Marine Ecology Progress Series* 97: 105-116.
- Carlsson P., Graneli E., Tester P., and Boni L., 1995. Influences of riverine humic substances on bacteria, protozoa, and copepods in a coastal community. *Marine Ecology Progress Series* 127: 213-221.
- Carlsson P., Graneli E., 1998. Utilization of dissolved organic matter (DOM) by phytoplankton, including harmful species. In Anderson D.M., Cembella A.D., Hallegraeff G.M. (eds.) *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms.*, NATO ASI Series, Vol.G41, Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 509-524.
- Cembella A.D., Antia N.J., Harrison P.J., 1984a. The utilization of inorganis and organic phosphorus compounds as nutrients by eukaryotic microalgae: a multidisciplinary perspective: Part1. *CRC Critical Reviews in Microbiology* 10: 317-391.
- Cembella A.D., Antia N.J., Harrison P.J., 1984b. The utilization of inorganis and organic phosphorus compounds as nutrients by eukaryotic microalgae: a multidisciplinary perspective: Part2. *CRC Critical Reviews in Microbiology* 11: 13-81.

- Chang F.H., McClean M., 1997. Growth responses of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) as a function of three different nitrogen sources and irradiance. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 31: 1-7.
- Collos Y., Mornet F., 1993. Automated procedure for determination of dissolved organic nitrogen and phosphorus in aquatic environments. *Marine Biology* 116: 685-688.
- Corner E.D.S., Newell B.S., 1967. On the nutrition and metabolism of zooplankton. IV. The forms of nitrogen excreted by *Calanus*. *Journal of Marine Biology Association of UK* 47: 113-120.
- Doblin M.A., Blackburn S.I., Hallegraeff G.M., 1999. Growth and biomass stimulation of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Graham) by dissolved organic substances. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 236: 33-47.
- Edler L.S., Ferno S., Lind M.G., Lundberg R. and Nilsson P.O., 1985. Mortality of dogs associated with a bloom of the cyanobacterium *Nodularia spumigena* in the Baltic Sea. *Ophelia* 24: 103-109.
- Edler, L. (ed.) 1979. Recommendations on the methods for marine biological studies in the Baltic Sea-phytoplankton and chlorophyll. *Baltic Mar. Biol. (BMB)* 5: 1-38.
- Eppley R.W., Coatsworth J.L., Solorzano L., 1969. Studies of nitrate reductase in marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 14:194-205.
- Fan C., Glibert P.M., Burkholder J.M., 2003. Characterization of the affinity for nitrogen, uptake kinetics, and environmental relationships for *Prorocentrum minimum* in natural blooms and laboratory cultures. *Harmful Algae*, Vol. 2, Issue 4: 283-299.
- Fernandez E., Maranon E., Harbour D.S., Kristiansen S., Heimdal B.R., 1996. Patterns of carbon and nitrogen uptake during blooms of *Emiliana huxleyi* in two Norwegian fjords. *Journal of Plankton Research* 18: 2349-2366.
- Flynn K.J., Butler I., 1986. Nitrogen sources for the growth of marine microalgae: role of dissolved free amino acids. *Marine Ecology Progress Series* 34: 281-304.
- Gaines G., Elbrächter M., 1987. Heterotrophic nutrition. In Taylor F.J.(ed.), *The Biology of Dinoflagellates*. Blackwell, Oxford:224-268.
- Garcés E., Masó M., 2001. Phytoplankton potential growth rates versus increase in cell numbers: estimation of cell lysis. *Marine Ecology Progress Series* 212: 297-300.
- Gilbert P.M., Garside C., Fuhrman J.A., Roman M.R., 1991. Time-dependent coupling of inorganic and organic nitrogen uptake and regeneration in the plume of the Chesapeake Bay estuary and its regulation by large heterotrophs. *Limnology and Oceanography* 36 (5): 89-909.
- Graneli E., Edler L., Gedziorowska D., Nyman U., 1985. Influence of humic and fulvic acids on *Prorocentrum minimum* (Pav.)J. Schiller. In: *Proceedings of third International Conference on Toxic Dinoflagellates*, St.Andrew, N.B., Canada, June 8-12, 1985, ed. by Anderson D.M., White A.W., Baden D.G., Elsevier Sci. Publish., NewYork: 201-215.
- Graneli, E., P. Carlsson 1998. The ecological significance of phagotrophy in photosynthetic flagellates. In: *Physiological Ecology of harmful Algal Blooms*, D. M. Anderson, A. D. Cembella, G. M. Hallegraeff (Eds.): 539-557.
- Graneli E., Walström K., Larsson U., Graneli W., Elmgren R., 1990. Nutrient limitation of the primary production in the Baltic Sea area. *Oceanology* 19: 142-151.
- Graneli E., Anderson D.M., Carlsson P., Maetrini S.Y., 1997. Light and dark carbon uptake by *Dinophysis* species in comparison to other photosynthetic and heterotrophic dinoflagellates. *Aquatic Microbial Ecology* 13: 177-186.
- Guillard R.R.L., Ryther J.H. 1962. Studies on marine planktonic diatoms I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology* 8: 229-239.

- Guo, L., P.H. Santschi & K.W. Warnken 1995. Dynamics of dissolved organic carbon (DOC) in oceanic environments. *Limnology and Oceanography* 40: 1392-1403.
- Hammer K.D., Brockmann U.H., Kattner G., 1981. Release of dissolved free amino acids during a bloom of *Thalassiosira rotula*. *Kieler Meeresforschungen* 5: 101-109.
- Hansen, P. J. 1991. Quantitative importance and trophic role of heterotrophic dinoflagellates in a coastal pelagial food web. *Marine Ecology Progress Series* 73: 253-261.
- Harrison, W.G., L.R.Harris, and B.D.Irwin, 1996. The kinetics of nitrogen utilization in the oceanic mixed layer: Nitrate and ammonium interactions at nanomolar concentrations. *Limnology and Oceanography* 41: 16-32.
- Havskum, H., B. Riemann 1996. Ecological importance of bacterivorous, pigmented flagellates (mixotrophs) in the Bay of Aarhus, Denmark. *Marine Ecology Progress Series* 137: 251-263.
- Hellio C., Veron B., Le Gal Y., 2004. Amino acid utilization by *Chlamidomonas reinhardtii*: specific studie of histidine. *Plant Physiology and Biochemistry* 42: 257-264.
- Hillebrand H., Sommer U. 1999. The nutrient stoichiometry of benthic microalgal growth: Redfield proportions are optimal. *Limnology and Oceanography* 44 (2): 440-446.
- Jacobson, D. M., D.M. Anderson 1996. Widespread phagocytosis of ciliates and other protists by marine mixotrophic and heterotrophic thecate dinoflagellates. *Journal of Phycology* 32: 279-285.
- Jespersen A.M., Christofersen K., 1987. Measurement of chlorophyll-a from phytoplankton using ethanol as extraction solvent. *Archiv für Hydrobiologie* 109: 445-454.
- Jorgensen N.O.G., 1982. Heterotrophic assimilation and occurrence of dissolved free amino acids in a shallow estuary. *Marine Ecology Progress Series* 8: 145-159.
- Kahru M., Horstman U., Rud O., 1994. Satellite detection of increased cyanobacteria blooms in the Baltic Sea: natural fluctuation or ecosystem change? *Ambio* 23 (8): 469-472.
- Kapp R., Stevens S.E., Fox J.L., 1975. A survey of available nitrogen sources for the growth of the blue-green alga *Agmenellum quadriplicatum*. *Archiv für Microbiologie* 104: 135-138.
- Kivi K., Kaitala S., Kuosa H., Kuparinen J., Leskinen E., Lignell R., Marcussen B., Tamminen T., 1993. Nutrient limitation and grazing control of the Baltic plankton community during annual succession. *Limnology and Oceanography* 38: 893-905.
- Kononen K., Kuparinen J., Mäkelä K., Laanemets J., Pavelson J., Nämman S., 1996. Initiation of cyanobacterial blooms in a frontal region at the entrance to the Gulf of Finland, Baltic Sea. *Limnology and Oceanography* 41: 98-112.
- Koroleff F., 1976a. Determination of ammonia. In: *Methods of Seawater Analysis* Grasshoff K., Ehrhardt M., Kremling K.(eds.). Verlag Chemie, Weinheim: 126-133.
- Koroleff F., 1976b. Determination of urea. In: *Methods of Seawater Analysis* Grasshoff K., Ehrhardt M., Kremling K.(eds.). Verlag Chemie, Weinheim: 158-162.
- Kratz W., Mayers J., 1955. Nutrition and growth of several blue-green algae. *American Journal of Botany* 42: 282-287.
- Larsen, J., A. Sourina 1991. The diversity of heterotrophic dinoflagellates. In: *The biology of free-living heterotrophic flagellates*, D. J. Patterson, and J. Larsen (Eds.): 313-332.
- Latz M.I., Jeong H.J., 1996. Effect of red tide dinoflagellate diet and cannibalism on the bioluminescence of the heterotrophic dinoflagellate *Protoperdinium* spp. *Marine Ecology Progress Series* 132: 275-285.
- Legrand C., Carlsson P., 1998. Uptake of high molecular weight dextran by the dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Aquatic Microbial Ecology* 16: 81-86.



- Leppanen J.-M., Rantajarvi E., Halfors S., Kruskopf M., Laine V., 1995. Unattended monitoring of potentially toxic phytoplankton species in the Baltic Sea in 1993. *Journal of Plankton Research* 17 (4): 891-902.
- Lignell R., Kaitala S., Kuosa H., 1992. Factors controlling phyto- and bacterioplankton in late spring on a salinity gradient in the northern baltic. *Marine Ecology Progress Series* 84: 121-131.
- McCarthy J.J., 1972. The uptake of urea by natural populations of marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 17: 738-748.
- Maestrini Y. S., Balode M., Bechemin Ch., Puriņa I., Verite C., 1997. Nutrients limiting the Algal Growth Potential (AGP) in the Gulf of Riga, Eastern Baltic Sea, in spring - summer 1996. *La Mer*, Vol. 35: 49 - 68.
- Moran M.A., Covert J.S., 2003. Photochemically mediated linkage between dissolved organic matter and bacterioplankton. In: *Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter*. Findlay S.E.G., Sinsabaugh R.L. (eds.) Academic Press, Elsevier Science: 244-262.
- Mullin J.B., Riley J.P., 1965. The spectrophotometric determination of silicate-silicon in natural waters with special reference to sea water. *Analytica Chimica Acta* 46: 491-501.
- Murphy J., Riley J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27: 31-36.
- Nehring D., 1992. Eutrophication in the Baltic Sea. In: *Marine Coastal Eutrophication. The response of marine transitional systems to human impact: problems and perspectives for restoration*. Proceedings of International Conference, Bologna, Italy, 21-24 March 1990, R.A. Vollenweider, R. Marchetti, R. Viviani (eds.), Elsevier Science Publisher, Amsterdam: 673-682.
- Neill M., 2005. A method to determine which nutrient is limiting for plant growth in estuarine waters- at any salinity. *Marine Pollution Bulletin* 50: 945-955.
- Nishijima T., Hata Y., Yamauchi S., 1989. Physiological ecology of *Prorocentrum triestinum*. *Nippon Suisan Gakkashi* 55: 2009-2014.
- Palenik B., Kieber D.J., Morel F.M.M., 1988/1989. Dissolved organic nitrogen use by phytoplankton: the role of cell-surface enzymes. *Biological Oceanography* 6: 347-354.
- Park M.G., Kim S., Kim H.S., Myung G., Kang Y.G., Yih W., 2006. First successful culture of the marine dinoflagellate *Dinophysis acuminata*. *Aquatic Microbial Ecology* 45: 101-106.
- Paerl H.W., 1988. Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine and inland waters. *Limnology and Oceanography* 33 (4, part 2): 823-847.
- Pitkänen H., Tamminen T., 1995. Nitrogen and phosphorus as production limiting factors in the estuarine waters of the eastern Gulf of Finland. *Marine Ecology Progress Series* 129: 283-294.
- Poulet S.A., Williams R., Conway D.V.P., Videau C., 1991. Co-occurrence of copepods and dissolved free amino acids in shelf sea waters. *Marine Biology* 108: 373-385.
- Provasoli L., 1963. Organic regulation of phytoplankton fertility. In: *The Sea, Ideas and observations on Progress in the Study of the Sea- Vol.2*, ed. by Hill M.N., Wiley J., New York: 165-219.
- Pujo-Pay M., Raimbault P., 1994. Improvement of the wet-oxidation procedure for simultaneous determination of particulate organic nitrogen and phosphorus collected on filters. *Marine Ecology Progress Series* 105: 203-207.
- Rejmánek J., Komárek J., 2005. Response of cyanobacterial mats to nutrient and salinity changes. *Aquatic Botany* 83: 87-107.
- Remsen C.C., Carpenter E.J., Schroeder B.W., 1972. Comparison of laboratory and in situ measurements of urea decomposition by a marine diatom. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 8: 259-264.
- Rinne I., Tarkiainen E., 1978. Algal tests used to study the chemical factors regulating the growth of planktonic algae in the Helsinki sea area. *Mitt. Internat. Verein. Limnol.* 21: 527-546.

- Robarts R.D., Zohary T., 1987. Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 21: 391-399.
- Sakshaug E., Andersen K., Mykkestad S., Olsen Y., 1983. Nutrient status of phytoplankton communities in Norwegian waters (marine, brackish, and fresh) as revealed by their chemical composition. *Journal of Plankton Research* 5: 175-196.
- Shell D.M., 1974. Uptake and regeneration of free amino acids in marine waters of Southeast Alaska. *Limnology and Oceanography* 19: 260-270.
- Seppälä J., Tamminen T., Kaitala S., 1999. Experimental evaluation of nutrient limitation of phytoplankton communities in the Gulf of Riga. *Journal of Marine Systems* 23: 107-126.
- Smayda T., 1990. Novel and nuisance phytoplankton blooms in the sea: evidence for a global epidemic. In: *Toxic Marine Phytoplankton*, E. Graneli, B. Sundström, L. Edler and D.M. Anderson (eds.), Elsevier Science Publishers, New York: 29-40.
- Sommer U., 1996. Nutrient competition experiments with periphyton from the Baltic Sea. *Marine Ecology Progress Series* 140: 161-167.
- Sorensson F., Sahlsten E., 1987. Nitrogen dynamics of a cyanobacteria bloom in the Baltic Sea: new versus regenerated production. *Marine Ecology Progress Series* 37: 277-284.
- Sörensson F., Pettersson K., Selmer J.S., Sahlsten E., 1989. Flows of nitrogen in a mesocosm experiment in the Baltic Sea. *Marine Ecology Progress Series* 58: 77-88.
- Stoecker D.K., Li A.S., Coats D.W., Gustafson D.E., Nannen M.K., 1997. Mixotrophy in the dinoflagellate *Prorocentrum minimum*. *Marine Ecology Progress Series* 152: 1-12.
- Strickland J.D.H., Parsons T.R., 1972. A practical hand-book of seawater analysis. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada* 167, 2<sup>nd</sup> ed.: 310pp.
- Suikkanen S., Laamanen M., Huttunen M., 2007. Long-term changes in summer phytoplankton communities of the open northern Baltic Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 71: 580-592.
- Sunda, W.G. Hardison, D.R. 2007. Ammonium uptake and growth limitation in marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 52: 2496-2506
- Tamminen T., Irmisch A., 1996. Urea uptake kinetics of a midsummer planktonic community on the SW coast of Finland. *Marine Ecology Progress Series* 130 (1-3): 201-211.
- Tamminen T., Kaitala S., Kivi K., Kuparinen J., 1985. Response of a planktonic brackish water community to single and combined additions of ammonia and phosphate in a factorial mesocosm experiment. In: *Marine Biology of Polar regions and Effects of Stress on Marine Organisms*, J.S. Gray and M.E. Christiansen (eds.), John Wiley & Sons Ltd.: 363-378.
- Tamminen T., Seppälä J., 1999. Nutrient pools, transformations, ratios and limitation in the Gulf of Riga, the Baltic Sea, during four successional stages. *Journal of Marine Systems* 23: 83-106.
- Tang, E. P. Y. 1996. Why do dinoflagellates have lower growth rates? *Journal of Phycology* 32: 80-84.
- Tenson J., 1995. Phytoplankton and primary production. In: *Ecosystem of the Gulf of Riga between 1920 and 1990*, E. Ojaveer (ed.), Estonian Academy Publishers, Tallinn: 104-126.
- Thingstad, T.F., and E. Sakshaug, 1990. Control of phytoplankton growth in nutrient recycling ecosystems. Theory and terminology. *Marine Ecology Progress Series* 63: 261-272.
- Tupas L., Koike I., 1990. Amino acids and ammonium utilization by heterotrophic marine bacteria growth in enriched seawater. *Limnology and Oceanography* 35: 1145-1155.
- Utermöhl, H. 1931. Neue Wege in der quantitativen Erfassung des Planktons. *Verh. Int. Ver. Limnol.* 5: 567pp.
- Van Balen C., 1962. Studies on marine blue-green algae. *Botanica Marina* 4: 129-139.

Wright P.A., Part P., Wood C.M., 1995. Ammonia and urea excretion in the tidepool sculpin (*Oligocottus maculosus*): Sites of excretion, effects of reduced salinity and mechanisms of urea transport. *Fish Physiology and Biochemistry* 14: 111-123.

Yurkovskis A., Wulff F., Rahm L., Andrushaitis A., Rodriguez-Medina M., 1993. A nutrient budget of the Gulf of Riga; Baltic Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 37 (2): 113-127.

Yurkovskis A., Mazmachs M., Modris R., 1996. Present state and historical changes of the nutrient system in the Gotland Basin and the Gulf of Riga (Baltic Sea). In: *A comparative Ecological Approach of Coastal Environments and Paralic Ecosystems*, O.Guelorget, O.Lefebvre (eds.): 78-81.

Zevenboom W., Mur L.R., 1984. Growth and photosynthetic response of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in relation to photoperiodicity and irradiance. *Archiv für Microbiologie* 39: 232-239.

Балодэ М., Томсоне С., 1984. Развитие фитопланктона южной части Рижского залива в зависимости от условий минерального питания. *Гидробиология Рижского залива*, Рига, Зинатне: 81-95.

